



HAL
open science

Modulation des peptides amyloïde- β par des chélates azotés pour la thérapie de la maladie d'Alzheimer

Evan Lelong

► **To cite this version:**

Evan Lelong. Modulation des peptides amyloïde- β par des chélates azotés pour la thérapie de la maladie d'Alzheimer. Chimie de coordination. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2021. Français. NNT : 2021BRES0035 . tel-04957900

HAL Id: tel-04957900

<https://theses.hal.science/tel-04957900v1>

Submitted on 20 Feb 2025

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 de

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 596
Matière Molécules et Matériaux
Spécialité : *Chimie Moléculaire et Macromoléculaire*

Par

Evan LELONG

Modulation des peptides amyloïde- β par des chélates azotés pour la thérapie de la maladie d'Alzheimer

Thèse présentée et soutenue à Brest, le 27 mai 2021
Unité de recherche : UMR UBO – CNRS 6521

Rapporteurs avant soutenance :

Marine DESAGE-EL MURR, Professeur d'université,
Université de Strasbourg (rapporteur)

Cyrille MONNEREAU, Maître de Conférences,
ENS de Lyon (rapporteur)

Composition du Jury :

Marine DESAGE-EL MURR, Professeur d'université,
Université de Strasbourg (Rapporteur)

Serge THORIMBERT, Professeur d'université,
Sorbonne Université (Examinateur)

Jean-Pierre BAZUREAU, Professeur d'université,
Université de Rennes 1 (Président du jury)

Cyrille MONNEREAU, Maître de Conférences,
ENS de Lyon (Rapporteur)

Raphaël TRIPIER, Professeur d'université,
Université de Bretagne Occidentale (Directeur de thèse)

Hélène BERNARD, Maître de Conférences,
Université de Bretagne Occidentale (Co-directrice de thèse)

Remerciements

Cette thèse intitulée « Modulation de peptides amyloïde- β par des chélates azotés pour la maladie d'Alzheimer » a été réalisée au sein du laboratoire Chimie Electrochimie Moléculaires et Chimie Analytique (CEMCA – UMR UBO/CNRS 6521) au sein de l'équipe COSM et dans le groupe thématique Macrocycles Azotés et Coordination. Ce projet a été financé par une bourse émanant de Brest Métropole.

Dans un premier temps, je souhaite vivement remercier les membres du jury ayant accepté d'évaluer mes travaux en tant qu'examineurs : le Pr. Marine DESAGE-EL MURR à l'université de Strasbourg et le Dr. Cyrille MONNEREAU à l'ENS de Lyon. Je tiens également à remercier le Pr. Jean-Pierre BAZURREAU, président du jury, de l'université de Rennes ainsi que le Pr. Serge THORIMBERT, rapporteur, de l'université de la Sorbonne. Ce fut un réel honneur de défendre mes travaux de thèse devant un tel jury et la longue discussion qui s'en est suivie fut très intense mais particulièrement intéressante.

Dans un deuxième temps, je tiens à remercier mes directeurs de thèse, le Pr. Raphaël TRIPIER et le Dr. Hélène BERNARD. Raphaël, merci de m'avoir fait confiance pour porter ce projet de thèse ; ces trois années passées au sein de ton équipe ont été particulièrement riches en apprentissage. Je te remercie également pour ta remarquable disponibilité, à tout heure malgré un emploi du temps souvent bien chargé, ainsi que pour ta gentillesse au laboratoire comme à l'extérieur. Hélène, tu as été mon encadrante directe au cours de ces trois années, merci pour tout le temps que tu as su prendre pour discuter du projet, des problèmes rencontrés (nombreux en synthèse...), des analyses et des suites à donner à chaque étape de la recherche. Je te remercie aussi pour le nombre (très certainement incalculable) d'heures passées à me corriger et à m'aider pour monter les dossiers, les rapports ou encore rédiger ce manuscrit de thèse. Enfin, et cela vous concerne tous les deux, je pense que les étudiants ont énormément de chance de vous avoir en tant qu'enseignants car vous êtes vraiment investis dans le partage et la pédagogie, indispensables pour créer des vocations auprès des étudiants.

Je poursuivrai en remerciant notre collaboratrice, le Pr. Mi Hee LIM du KAIST en Corée du Sud, sans qui ce projet n'aurait probablement pas existé et qui m'a accueillie au sein de son équipe durant 2 mois grâce à l'octroi d'une bourse de mobilité de l'ED3M. Ce voyage à Daejeon m'a permis de m'ouvrir à une nouvelle culture, bien différente de la nôtre, mais tellement riche d'enseignements professionnels et humains. Je remercie également l'ensemble des autres collaborateurs qui ont permis de mener à bien ce projet de recherche : le Pr. Rita DELGADO de l'université de Lisbonne, le Pr. Carlos PLATAS-IGLESIAS de l'université de la Corogne et le Pr. Guy ROYAL à l'université de Grenoble. Cette collaboration aura abouti à une publication particulièrement riche en données dans laquelle chacun aura apporté une pierre indispensable à l'édifice.

Je tiens ensuite à remercier tous les membres de l'équipe COSM. D'abord ceux de la thématique Macrocycles Azotés et Coordination : le Dr. Nathalie LE BRIS, le Dr. Maryline BEYLER, le Dr. Véronique PATINEC et le Dr. Thibault TROADEC ; je pense que chacun d'entre vous a contribué à la réussite de mon doctorat grâce au partage de vos connaissances en synthèse, analyse, modélisation ou plus simplement, en pratique expérimentale. Je remercie également les membres de la thématique Phosphore, Lipides et Vectorisation, dirigée par le Pr. Paul-Alain JAFFRES, qui ont par leurs remarques, conseils et critiques fait avancer mes recherches.

Passons maintenant aux membres non-permanents de cette super équipe, merci au Dr. Nadège HAMON qui est toujours de bons conseils, ta rigueur exceptionnelle n'aura eu de cesse de m'épater et de m'inspirer. Merci également « aux filles » parmi lesquelles j'ai été inclus à maintes reprises en tant que seul garçon au laboratoire durant la fin de ma thèse... Merci à la jeune Dr. Gwladys NIZOU, à Marie LE ROY, à Julie PINEAU et à Axia MARLIN (ma "wesh wesh" préférée) ; sans vous, la longue période de rédaction n'aurait pas eu la même saveur, heureusement que vous étiez là !

J'ai bien sûr une pensée pour les anciens membres qui ont quitté le laboratoire avec succès avant moi. Merci au Dr. Laura GRENIER qui a vécu l'inverse de moi pendant la fin de sa thèse, dur de se faire entendre dans une team de doctorant composée exclusivement de mecs. Merci au Dr. Thomas LE BIHAN, on en aura fait des soirées avec de sacrés souvenirs, de très bons mais aussi un mauvais qu'il vaut mieux laisser aux oubliettes. Un immense merci au Dr. Amaury GUILLOU ; tu auras été pour moi une révélation (au boulot comme dans la vie), l'année de thèse passée à tes côtés aura été riche en émotions (et en pressions, #lacarpe), ton départ logique de Bretagne pour la poursuite de ton rêve a laissé un vide au labo mais je suis ravi de pouvoir te compter aujourd'hui parmi mes amis.

Il faut bien s'approcher de la fin de ces remerciements, je tiens donc à remercier mille fois les gens extérieurs au laboratoire qui ont mis du bonheur dans ces trois années à Brest. MERCI Seb et Alex, les meilleurs "coupains" que l'on puisse rêver d'avoir, toujours là dans les bons comme dans les moments plus durs (comme les 17 jours avant la soutenance...). Surtout ne changez pas, hâte de vous retrouver ! MERCI à toute ma famille et ma belle-famille, trop nombreux pour que je cite tout le monde mais chacun d'eux fait de ma vie un bonheur au quotidien. Vous avez été mes véritables soutiens depuis le début de mes études il y a 8 ans à Toulouse !

Je terminerai en dédiant tout ce travail à la femme de ma vie, Bénédikte. Je sais que sans toi je n'aurais sûrement jamais atteint ce niveau, tu me pousses à être une meilleure personne chaque jour et tu m'as offert le soutien quotidien dont j'avais besoin. Le chemin jusqu'ici a été long mais il en valait la peine puisque nous repartons de Bretagne avec le plus beau des cadeaux à venir, une petite "kouign amann" ; peut-être qu'un jour elle sera en mesure de lire et comprendre tout ce qui se trouve dans ce manuscrit...

Table des matières

Liste des abréviations.....	12
Ligands synthétisés et étudiés dans ce manuscrit	13
Introduction Générale.....	15
CHAPITRE I : La Maladie d'Alzheimer : développement, thérapie, diagnostic.	
Quel apport de la part des ligands azotés ?.....	29
1. Introduction sur la maladie d'Alzheimer	30
2. Les causes biologiques de la maladie	31
2.1 Les enchevêtrements de protéines tau	32
2.2 Les agrégats de peptides amyloïde- β	35
2.2.a Clivage de l'« Amyloid Precursor Protein » (APP)	35
2.2.b Processus d'agrégation de l'A β	36
2.3 L'amyloïde- β et les ions métalliques	40
2.3.a Complexation des ions métalliques.....	40
2.3.b Toxicité des complexes métal-A β	43
2.4 Hypothèse de la cascade amyloïde avec les ions métalliques.....	45
3. Les cibles thérapeutiques	47
3.1 Les inhibiteurs d'AcétylCholinEstérase (AChE)	47
3.2 Les molécules à effet anti glutamate.....	49
3.3 Le ciblage des protéines tau	50
3.4 Le ciblage des peptides amyloïde- β	51
3.4.a Molécules inhibitrices de l'agrégation	51
3.4.b Ciblage des ions métalliques et de la protéine amyloïde- β	54
4. Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer	56
4.1 Imagerie TEP de la taupathie	57
4.2 Imagerie TEP des lésions amyloïdes	58
5. L'apport des chélates azotés en imagerie pour le diagnostic	60

5.1 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM).....	60
5.2 Imagerie par Tomographie par Emission de Positons (TEP).....	64
6. L'apport des chélates azotés dans les stratégies thérapeutiques.....	65
6.1 Le ciblage du cuivre et du zinc endogènes	66
6.2 Le ciblage des peptides A β par des complexes métalliques.....	72
Conclusion du chapitre I	80

CHAPITRE 2 : Synthèse de dérivés du cyclam : méthylés, renforcés, C- et

<i>N</i> -fonctionnalisés	83
1. Rappels bibliographiques.....	84
1.1 Méthodes de cyclisation pour la synthèse du cyclam et des cyclams	
C-fonctionnalisés.....	86
1.1.a Découverte du cyclam	86
1.1.b Cyclisation entre amines et dérivés d'acides carboxyliques	86
1.1.c La méthode « Richman-Atkins ».....	88
1.1.d Cyclisation sur support externe	89
1.1.e Cyclisation entre un bisaminal et un ester α , β -insaturé	95
1.2 Méthodes de <i>N</i> -fonctionnalisation du cyclam et des cyclams C-fonctionnalisés	98
1.2.a Techniques de mono- et tri <i>N</i> -fonctionnalisation du cyclam	99
1.2.b Techniques de di- <i>N</i> -fonctionnalisation du cyclam	105
1.2.c Mono- et di- <i>N</i> -alkylation du cyclam via un intermédiaire bisaminal	106
1.2.d Mono- et di- <i>N</i> -alkylation du cyclam via un intermédiaire bisformyle	109
1.2.e Techniques de tétra- <i>N</i> -fonctionnalisation du cyclam	110
1.3 Préparation de cyclams contraints	111
1.3.a Cyclams renforcés "side-bridged"	112
1.3.b Cyclams renforcés "cross-bridged"	113
1.4 Conclusion.....	115
2. Résultats et Discussion	115
2.1 Synthèse des dérivés du cyclam C-fonctionnalisés par un groupement	
éthylènehydroxy	116
2.1.a Synthèse des dérivés méthylés DMC-EtOH et TMC-EtOH.....	116
2.1.b Synthèse du dérivé renforcé CB-cyclam-EtOH.....	121

2.1.c Synthèse du dérivé renforcé CB-DMC-EtOH.....	127
2.2 Synthèse des dérivés du cyclam <i>N</i> -fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy	131
2.2.a Synthèse du TE1EtOH.....	134
2.2.b Synthèse du TE3MeEtOH	137
2.2.c Synthèse du dérivé renforcé CB-TE1EtOH.....	138
2.2.d Synthèse du dérivé renforcé CB-TEMeEtOH	139
2.2.e Améliorations envisagées pour la synthèse du CB-TE1EtOH	143
Conclusion du chapitre II	146

Chapitre III : Etude de chimie de coordination des complexes de cuivre, de zinc et de cobalt avec les macrocycles azotés

149

1. Rappels bibliographiques.....	150
1.1 Généralités sur les complexes	150
1.1.a Propriétés de coordination du cuivre, du zinc et du cobalt	150
1.1.b Théorie du champ cristallin.....	151
1.1.c Propriétés spectroscopiques du cuivre	154
1.1.d « Effet chélate » et « effet macrocyclique »	155
1.2 Etude structurale des complexes du cyclam	158
1.2.a Géométrie et isomérisation des complexes de cyclam.....	158
1.2.b Etude des configurations du complexe [Zn(cyclam)] ²⁺	159
1.2.c Structures cristallographiques connues des complexes de cuivre, de zinc et de cobalt avec les dérivés du cyclam étudiés.....	159
1.3 Etude des propriétés thermodynamiques.....	162
1.3.a Propriétés acido-basiques	162
1.3.b Stabilité thermodynamique des complexes métalliques.....	167
1.4 Etude de l'inertie cinétique	173
1.4.a Principe.....	173
1.4.b Inertie cinétique des complexes de Cu ²⁺ des tétramines linéaires et du cyclam .	175
1.4.c Inertie cinétique des complexes de Cu ²⁺ avec des dérivés de cyclam.....	176
1.5 Etude des propriétés électrochimiques.....	177
1.5.a Principe de la voltamétrie cyclique	177
1.5.b Electrochimie des complexes de cuivre dérivés de cyclam.....	178

1.6 Etude structurale par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE).....	179
1.6.a Principe.....	179
1.6.b Application aux complexes de cuivre(II)	181
1.6.c Etude des complexes de cuivre(II) dérivés du cyclam	182
1.7 Conclusion.....	184
2. Résultats et Discussion	185
2.1 Synthèse des complexes de Cu ²⁺ et Zn ²⁺ des dérivés de cyclam	185
2.2 Etudes des complexes de Cu ²⁺ et Zn ²⁺ avec les ligands cyclam, cyclam-E, DMC, DMC-E, TMC et TMC-E	186
2.2.a Structures cristallographiques des complexes [M(DMC)] ²⁺ et [M(TMC-E)] ²⁺	186
2.2.b Analyses RMN des complexes [Zn(L)]Cl ₂	190
2.2.c Analyses RPE et UV-visibles des complexes [Cu(L)] ²⁺	195
2.2.d Etudes potentiométriques des complexes [Cu(L)] ²⁺ et [Zn(L)] ²⁺	199
2.2.e Etude du comportement en milieu acide des complexes [Cu(L)] ²⁺	204
2.2.f Voltamétrie cyclique des complexes [Cu(L)] ²⁺	212
2.2.g Conclusion	214
2.3 Caractérisation des complexes de Cu ²⁺ et Zn ²⁺ avec les ligands CB-cyclam, CB- cyclam-E, CB-DMC et CB-DMC-E	215
2.3.a Structures cristallographiques du [Zn(CB-cyclam-E)] ²⁺	215
2.3.b Analyses RMN des complexes [Zn(L)]Cl ₂	217
2.3.c Analyses de RPE et UV-visibles des complexes [Cu(L)] ²⁺	220
2.3.d Etude du comportement en milieu acide des complexes [Cu(L)] ²⁺	224
2.3.e Conclusion	226
2.4 Caractérisation des complexes de Cu ²⁺ et Zn ²⁺ des ligands TE1EtOH, TE3MeEtOH, CB-TE1EtOH et CB-TEMeEtOH	227
2.4.a Structures cristallographiques par diffraction des rayons-X.....	227
2.4.b Analyses RMN des complexes [Zn(L)]Cl ₂	229
2.4.c Analyses de RPE et UV-visible des complexes [Cu(L)] ²⁺	233
2.4.d Etude du comportement en milieu acide des complexes [Cu(L)] ²⁺	235
2.5 Etude des complexes de cobalt	238
Conclusion du chapitre III	242

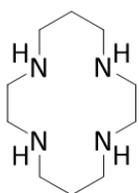
CHAPITRE IV : Résultats Biologiques.....	245
1. Chélation du Zn ²⁺ et du Cu ²⁺ dans l'Aβ-M par les ligands dérivés de cyclam et de cyclam-EtOH	246
1.1 Interactions entre les ligands et l'Aβ	247
1.2 Interactions entre les ligands et l'Aβ-Cu.....	249
1.3 Modulation de l'agrégation de l'Aβ en présence de métaux	253
1.4 Impact des ligands sur la production de ROS	258
1.5 Effet des ligands sur la toxicité de l'Aβ, l'Aβ-Zn et l'Aβ-Cu en milieu cellulaire	261
1.6 Conclusion.....	262
2. Etude de l'activité de complexes de cobalt [Co(L)] ²⁺ vis-à-vis de l'Aβ _{40/42}	263
2.1 Expérience d'inhibition de l'agrégation	264
2.2 Expérience de désagrégation.....	267
2.3 Toxicité cellulaire des complexes [Co(L)] ²⁺	269
Conclusion du chapitre IV.....	270
Conclusion Générale	273
Experimental Section	283
X-ray data.....	337
Annexes	339
Références Bibliographiques.....	343
Production Scientifique	353

Liste des abréviations

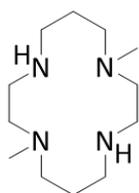
APP :	Amyloid Precursor Protein
A β :	Amyloïde- β
Boc :	tert-Butyloxycarbonyle
Bn :	benzyle
CB :	Cross-Bridged
DFT :	Density Functional Theory
DRX :	Diffraction des Rayons-X
DTPA :	acide diéthylènetriaminepentaacétique
EDTA :	acide éthylènediaminetétraacétique
ESI-HRMS :	Electrospray Ionization – High Resolution Mass Spectrometry
IRM :	Imagerie par Résonance Magnétique
L :	ligand non protoné
MA :	Maladie d'Alzheimer
MAP :	Microtubule Associated Protein
MET :	Microscopie Electronique en Transmission
MTT :	3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium
NFT :	enchevêtrement neurofibrillaire (« neurofibrillary tangles »)
Ph :	phényle
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
ROS :	Espèce réactive de l'oxygène (« Reactive Oxygen Species »)
RPE :	Résonance Paramagnétique Electronique
TBDMS :	tert-butyldiméthylsilyle
tBu :	tert-butyle
TEP :	Tomographie par Emission de Positons
Ts :	4-toluènesulfonyle
UV :	Ultraviolet
232 :	N,N'-bis(2-aminoéthyl)-1,3-propanediamine

Ligands synthétisés et étudiés dans ce manuscrit

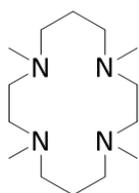
Série n°1 : dérivés de cyclam



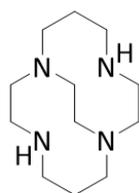
cyclam



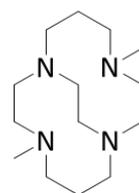
DMC



TMC

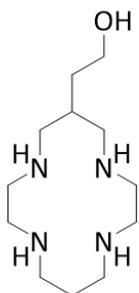


CB-cyclam

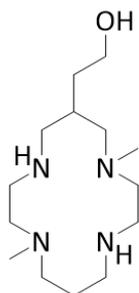


CB-DMC

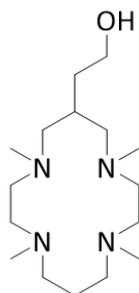
Série n°2 : dérivés de cyclam C-éthylènehydroxy



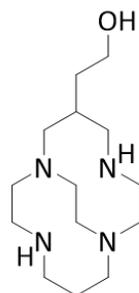
cyclam-EtOH
(3)



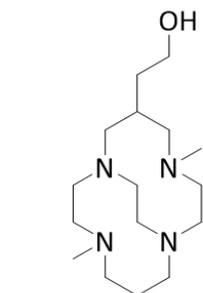
DMC-EtOH
(6)



TMC-EtOH
(7)

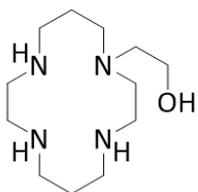


CB-cyclam-EtOH
(13)

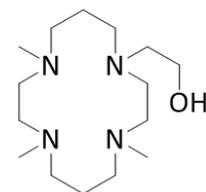


CB-DMC-EtOH
(15)

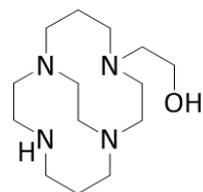
Série n°3 : dérivés de cyclam N-éthylènehydroxy



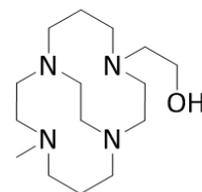
TE1EtOH
(20)



TE3MeEtOH
(21)



CB-TE1EtOH
(26)



CB-TEMeEtOH
(32)

Introduction Générale

Les métaux jouent un rôle primordial dans le monde du vivant en intervenant dans un grand nombre de processus biologiques. On trouve dans le corps humain une trentaine de métaux différents, sous forme cationique liée ou libre, à hauteur de 5 à 10 g selon les individus. Le plus couramment cité est sans doute le fer (Fe^{n+}), présent principalement dans l'hémoglobine et la myoglobine, qui permet le transport ainsi que le stockage de l'oxygène, indispensable à la respiration cellulaire. Le plus abondant, le calcium (Ca^{2+}), est localisé à 99 % dans les os (phosphate de calcium) et les 1 % extra-osseux contribuent à la contraction musculaire, à la conduction nerveuse, à la coagulation sanguine et à l'activation d'enzymes. Le cobalt (Co^{n+}), bien plus rare, est principalement lié à la vitamine B12 et intervient dans la synthèse de l'ADN, la production de globules rouges (hématopoïèse) ainsi que dans l'entretien du système nerveux. On retrouve également dans l'organisme du cuivre ($\text{Cu}^{+/2+}$) et du zinc (Zn^{2+}) essentiels au bon fonctionnement de nombreuses enzymes (métalloenzymes) impliquées à tous les niveaux : métabolisme des lipides et glucides, antioxydant, régulation des neurotransmetteurs... Comme le montrent ces quelques exemples, les métaux sont indispensables au fonctionnement de l'organisme et leur concentration est particulièrement contrôlée. En effet, une carence de l'un d'entre eux provoque le dysfonctionnement des mécanismes dans lesquels il intervient et un excès, ou une contamination par un métal non-endogène, perturbe le bon fonctionnement d'autres mécanismes. Le dérèglement de la quantité de métal est particulièrement dangereux et conduit à de nombreuses pathologies potentiellement mortelles.

C'est donc naturellement que les chercheurs se sont orientés vers des stratégies thérapeutiques visant à réguler la concentration en cations métalliques pour éviter ces maladies. La recherche s'est principalement développée autour de molécules capables de chélater les cations métalliques afin de les faire entrer dans l'organisme ou bien de les éliminer. Au cours de ces travaux, nous nous sommes particulièrement intéressés aux chélatants capables d'extraire les métaux de l'organisme ; ce procédé est appelé thérapie par chélation. La molécule la plus communément employée pour ce type de traitement est le ligand linéaire **EDTA**, connu pour des applications diverses et variées en chimie, prescrit sous la forme de chélate $[\text{Ca}(\text{EDTA})]\text{Na}_2$ (Figure 1) pour le traitement de l'hypersidérose (excès de fer dans les tissus) ou dans le cas de contamination aux métaux lourds, tel que le plomb. Une fois dans l'organisme, le $[\text{Ca}(\text{EDTA})]\text{Na}_2$ libère le calcium et est alors en mesure de complexer

les cations métalliques toxiques pour les éliminer du corps. De la même façon, le complexe $[\text{Zn}(\text{DTPA})]\text{Na}_3$ (Figure 1) est utilisé pour le traitement des contaminations aux actinides, tel que le plutonium.

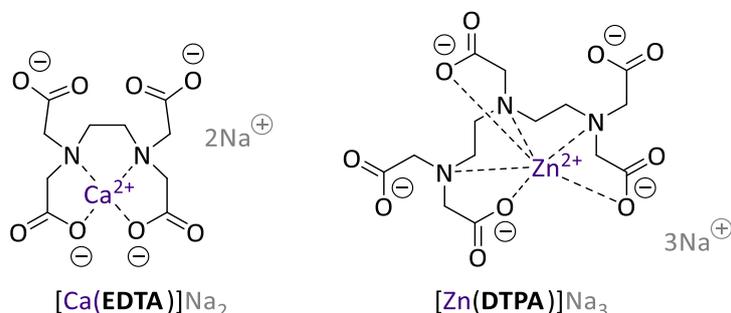


Figure 1. Structures des complexes $[\text{Ca}(\text{EDTA})]^{2-}$ disodique et $[\text{Zn}(\text{DTPA})]^{3-}$ trisodique utilisés en thérapie par chélation.

Ces médicaments sont utilisés sous strict contrôle médical en raison de leur non-spécificité envers les métaux potentiellement chélatés. En effet, ils sont injectés par voie intraveineuse et ne ciblent pas seulement les métaux toxiques. Ils chélatent également les métaux endogènes et sont susceptibles de perturber le bon fonctionnement de certains mécanismes cellulaires.

A l'heure actuelle, les recherches se multiplient pour concevoir des chélatants spécifiques d'un métal donné et capables de le cibler dans une zone précise de l'organisme. Une telle approche permettrait de soigner des pathologies telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Wilson, et bien d'autres.^[1-3] D'autres stratégies, basées sur l'activité biologique des métaux, sont également en plein essor, notamment par la conception de complexes métalliques capables de mimer les phénomènes biologiques (catalyse, hydrolyse, etc...) lorsque l'organisme n'est plus capable de les assurer.

Au cours de ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés à des ligands adaptés aux métaux de transition susceptibles d'être utilisés dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA). Une première piste est de les utiliser en tant qu'agents séquestrants pour la thérapie par chélation et une seconde vise à s'intéresser à l'effet des complexes de métaux de transition dans l'environnement biologique, principalement vis-à-vis d'une protéine associée à la maladie d'Alzheimer, l'amyloïde- β ($\text{A}\beta$). Cette stratégie thérapeutique a été développée à partir des années 1990 et très récemment, en 2017, l'équipe du Pr. M. H. Lim

en Corée du Sud a rapporté l'activité des complexes de cuivre, zinc, cobalt et nickel du tétraméthyle-cyclam, $[M(\text{TMC})]^{2+}$ avec $M = \text{Cu(II)}, \text{Zn(II)}, \text{Co(II)}, \text{Ni(II)}$ (Figure 2).^[4] Le **TMC** est un chélate dérivé du **cyclam**, macrocycle à quatorze atomes contenant quatre atomes d'azote, fonctionnalisés par des groupements méthyle. Le cyclam et ses dérivés font partie de la famille des macrocycles azotés saturés, ou polyazacycloalcanes, connus pour coordonner fortement les métaux de transitions.

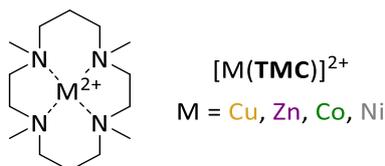


Figure 2. Structure des complexes $[M(\text{TMC})]^{2+}$ étudiés par l'équipe du Pr. M. H. Lim pour la modulation des agrégats de peptides amyloïde- β .

L'étude menée avec ces complexes métalliques montre que ces édifices ont la capacité de réaliser des réactions d'hydrolyse sur le peptide A β avec une efficacité variable selon le centre métallique : $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+} > [\text{Zn}(\text{TMC})]^{2+} > [\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+} > [\text{Ni}(\text{TMC})]^{2+}$. Le mécanisme d'hydrolyse peptidique fait intervenir la formation d'un complexe métal-hydroxo $[M(\text{TMC})(\text{OH})]^+$ qui dépend, non seulement, du métal, mais également de la géométrie du complexe et des propriétés du ligand. De plus, l'activité des complexes vis-à-vis de l'A β est liée aux interactions entre le complexe et le peptide. Il est ainsi primordial d'utiliser un complexe dont la sphère de coordination est incomplète afin que des acides aminés et un ion hydroxyde puissent interagir avec le cation métallique. A la suite de ces résultats, les savoir-faire complémentaires de l'équipe coréenne en biochimie inorganique et de notre équipe Brestoise, en chimie des macrocycles azotés saturés et en chimie de coordination, ont naturellement conduit à une collaboration visant à étudier de nouveaux ligands pour cette application.

Notre laboratoire est spécialisé dans la conception de ligands polyazamacrocycliques pour la complexation de métaux de transition et de lanthanides, utilisés dans un vaste champ d'application. Les ligands sont conçus à partir de différentes "plateformes" faisant varier la taille du macrocycle, sa rigidité et le nombre d'atome d'azote ; les plus utilisés sont le **cyclam**, le **cyclen**, le **pyclen** et le **tacn** (Figure 3). L'expérience acquise permet aujourd'hui d'envisager la fonctionnalisation des atomes d'azote de ces macrocycles, dite *N*-fonctionnalisation, de manière régiospécifique avec un grand nombre de groupements coordinants en fonction du

cation métallique et de l'application ciblés.^[5] La majeure partie des applications développées au laboratoire vise la conception d'agents d'imagerie médicale basés sur différents métaux selon le mode d'imagerie ciblé. Le cuivre radioactif (^{64}Cu) pour la Tomographie par Emission de Positons (**C** et **F** - Figure 3), le gadolinium (Gd^{3+}) pour l'Imagerie par Résonance Magnétique (**B** et **D** - Figure 3) et les lanthanides aux propriétés de luminescence utiles pour l'imagerie optique médicale et plus récemment l'imagerie biphotonique (**E** - Figure 3). Le laboratoire s'est également diversifié en se tournant vers des applications telles que la radiothérapie à l'aide de différents radioisotopes métalliques (^{213}Bi , ^{177}Lu , ^{90}Y , ^{67}Cu ...) (**A** - Figure 3), la thérapie photodynamique (PDT) mais également la cytométrie de masse et plus récemment la thérapie par chélation.

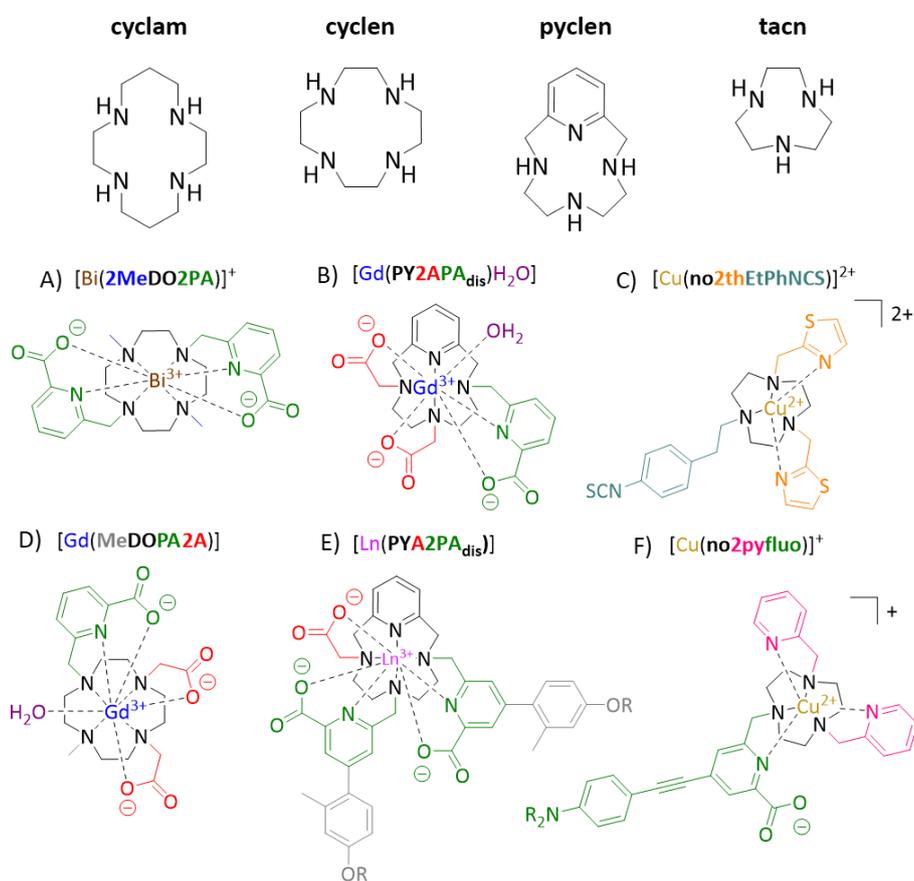


Figure 3. Plateformes polyazamacrocycliques utilisées et exemples de complexes développés au laboratoire. A) réf. [6], B) réf. [7], C) réf. [8], D) réf. [9] E) réf. [10], F) réf. [11].

La synthèse et l'utilisation biomédicale de ligands à base de **cyclam** est, aujourd'hui, l'une des activités la plus aboutie du laboratoire. Cette dernière décennie a été marquée par des recherches intensives qui ont permis de développer des techniques de synthèse, dites de

C-fonctionnalisation, permettant d'introduire une fonction supplémentaire sur un atome de carbone du squelette macrocyclique en position β des atomes d'azote.^[12] Ainsi, l'équipe est en mesure de concevoir des chélates portant jusqu'à quatre N-fonctionnalisations différentes ainsi qu'un groupement C-fonctionnel (Figure 4). Le choix de ces groupements s'effectue selon le métal à complexer, l'application ciblée et les propriétés recherchées.

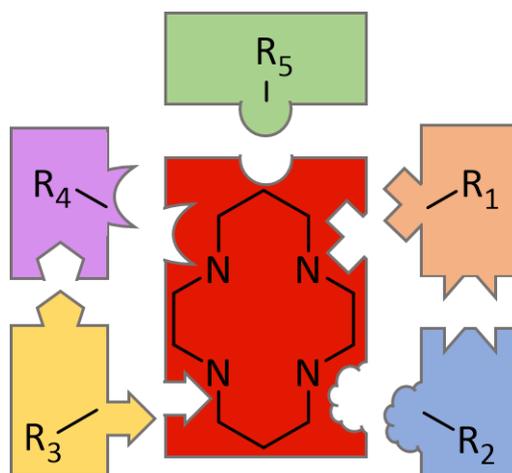


Figure 4. Conception d'un ligand à base de **cyclam**. R₁, R₂, R₃, R₄ = N-fonctionnalisation ; R₅ = C-fonctionnalisation.

Cette modularité permet la préparation d'agents dits bifonctionnels, *i.e.* avec des groupements dédiés à la coordination des cations métalliques sur les atomes d'azote et un groupement sur un atome de carbone dédié au greffage ou autre fonctionnalisation secondaire.

En médecine nucléaire, le laboratoire a mis au point la synthèse d'un ligand pour la complexation du bismuth (Bi³⁺) qui possède un radioisotope (²¹³Bi) émetteur alpha avec un fort potentiel d'utilisation pour la radiothérapie des cancers. Le chélate développé, dérivé de **cyclam**, porte deux groupements pyridine et deux groupements acétamide fonctionnalisés à l'aide de diéthylène glycol. Le complexe de bismuth(III) formé est très stable et présente une excellente solubilité dans l'eau (Figure 5).^[13] Ce ligand n'a ensuite pas fait l'objet d'évolution vers un composé C-fonctionnalisé en raison d'une plus grande efficacité des ligands à base de cyclen ([Bi(**2MeDo2PA**)]⁺ - Figure 3).

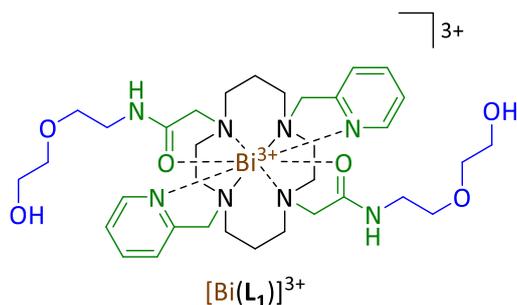


Figure 5. Complexe de bismuth(III) synthétisé au laboratoire.^[13]

Toujours en médecine nucléaire, dans ce cas pour l'imagerie, le laboratoire a démontré les propriétés remarquables d'un dérivé de **cyclam**, fonctionnalisé par un groupement picolinate, pour la complexation du cuivre(II), le **HTE1PA** (Figure 6). Ce ligand présente une cinétique de complexation rapide du Cu^{2+} et forme un complexe $[Cu(TE1PA)]^+$ avec une importante stabilité thermodynamique et une bonne inertie cinétique, ce qui en fait un excellent chélate pour le développement d'un agent d'imagerie.^[14] Le **HTE1PA** a été radiomarqué avec succès à l'aide de cuivre 64 puis a été greffé sur un anticorps par une liaison amide et a permis d'imager des tumeurs chez la souris. Néanmoins, l'utilisation du groupement picolinate pour introduire un vecteur biologique a montré un impact négatif sur les propriétés de coordination du cuivre par le ligand.^[15] Pour remédier à ce problème, une version bifonctionnelle C-fonctionnalisée, le **p-SCN-Bn-TE1PA**, a été synthétisée par T. Le Bihan au cours de sa thèse au laboratoire. Ce ligand a montré des propriétés proches de celles du **TE1PA** pour la complexation du ^{64}Cu puis a été greffé à un anticorps par un lien thiourée pour imager des tumeurs chez la souris.^[16]

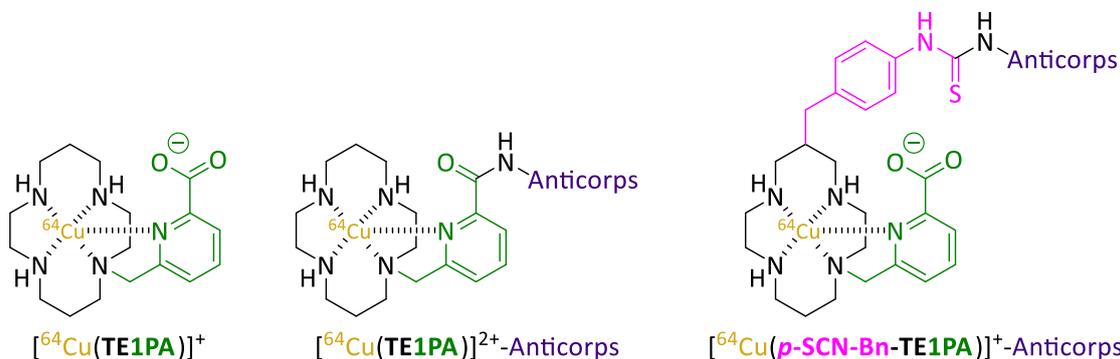


Figure 6. Structures de radiotraceurs au ^{64}Cu à base de **TE1PA** et **p-SCN-Bn-TE1PA** pour l'imagerie par Tomographie par Emission de Positions (TEP).

Pour l'imagerie biphotonique, le laboratoire a notamment mis au point un dérivé du **cyclam**, renforcé par un pont éthylène entre les atomes d'azote opposés ("cross-bridged") et fonctionnalisé par deux antennes basées sur un motif picolinate.^[17] Les complexes de lanthanides obtenus présentent une brillance correcte pour le $[\text{Eu}(\text{CB-TE2fluo}^{\text{a}})]^+$, malgré une sensibilité aux solvants protiques et d'excellentes propriétés photophysiques pour le $[\text{Yb}(\text{CB-TE2fluo}^{\text{b}})]^+$. Ces deux composés sont internalisés par les cellules en milieu biologique et ont permis de les imager lors d'une excitation biphotonique. Dans cette série cyclam, une seconde génération de composés est en cours de développement à partir de la plateforme C-fonctionnalisée afin de pouvoir vectoriser ces mêmes complexes.

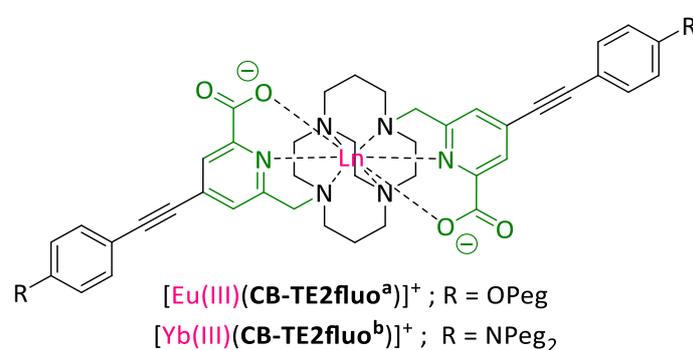


Figure 7. Complexes de lanthanides (Eu^{3+} et Yb^{3+}) développés au laboratoire pour l'imagerie biphotonique.

Depuis quelques années, le laboratoire collabore avec l'entreprise canadienne Fluidigm, actrice majeure dans le développement de la cytométrie de masse (« CyTOF® technology »). Cette technologie permet l'analyse de populations cellulaires grâce au marquage d'antigènes à l'aide d'anticorps porteurs d'isotopes métalliques qui sont ensuite détectés en spectrométrie de masse. La limitation actuelle de la technique réside dans le nombre d'isotopes métalliques utilisables simultanément, environ 40 au maximum. Ainsi, la collaboration vise à ouvrir de nouveaux canaux de détection en permettant l'utilisation de nouveaux métaux, notamment l'indium(III), avec deux isotopes naturels stables (^{113}In 4,3 % et ^{115}In 95,7 %). Lors de sa thèse au laboratoire, L. Grenier a synthétisé un chélate dérivé de **cyclam** C-fonctionnalisé, renforcé par un pont éthylène "cross-bridged" et fonctionnalisé par deux groupements picolinate (Figure 8).^[18] Les complexes d'indium $[\text{In}(\text{p-SCN-Bn-CB-TE2PA})]^+$ formés, extrêmement stables, ont été greffés sur des polymères poly-lysine pouvant être conjugués à des anticorps. Les essais de marquage cellulaire à l'aide de ce composé ont été

réalisés avec succès et deux nouveaux canaux de détection ont été ouverts en cytométrie de masse grâce à cette collaboration.^[19]

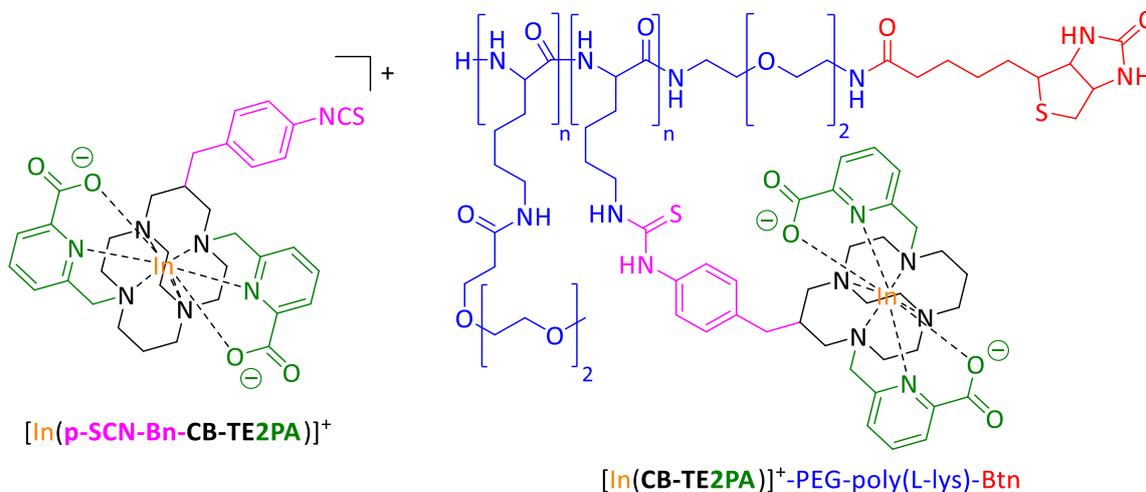


Figure 8. Complexes d'indium développés au laboratoire pour la cytométrie de masse.

Ces dernières années, de nouvelles applications se sont développées au sein du laboratoire, notamment avec l'essai de certains des ligands développés pour de la thérapie par chélation. Ainsi, le **HTE1PA**, présenté précédemment, et plusieurs autres ligands fonctionnalisés par des groupements picolinate ont été utilisés pour des études de chélation du cuivre et du zinc contre le développement de la maladie d'Alzheimer.^[20] Des chélates dérivés du **tacn** et fonctionnalisés par des groupements picolyle sont également en cours d'évaluation pour la chélation spécifique du zinc et le déclenchement contrôlé de l'apoptose cellulaire pour le traitement de certains cancers, notamment la leucémie lymphoïde chronique (LLC).

Dans le cadre de cette thèse, financée par Brest Métropole, nous nous sommes proposés d'étudier trois séries de ligands dérivés du **cyclam**. Ces molécules ont été sélectionnées, d'une part, pour piéger les ions cuivre et zinc impliqués dans la maladie d'Alzheimer et, d'autre part, pour évaluer les potentielles interactions des complexes de cuivre, zinc et cobalt avec les peptides amyloïde- β . Le projet a été développé en collaboration avec l'équipe du Pr. Lim en Corée du Sud dont le rôle est de réaliser les tests biologiques après que notre laboratoire ait mis au point les voies de synthèses des ligands et étudié leurs propriétés de coordination. A l'aube de ce travail, il était prévu que j'effectue deux mobilités sortantes dans le laboratoire coréen pour m'initier aux différentes techniques et pour

effectuer en partie ces investigations. En raison de la pandémie de COVID-19, une seule mobilité a été réalisée.

Les trois séries ont été conçues en vue de faire varier les propriétés acido-basiques, l'hydrophilie, la rigidité, la présence d'accepteur/donneur de liaisons hydrogène et enfin la denticité (Figure 9).

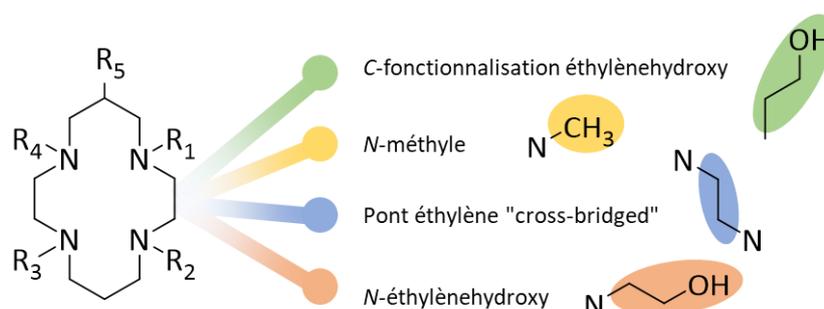


Figure 9. Conception des ligands étudiés à partir du **cyclam**.

Les modifications structurales envisagées sont : l'ajout de groupements méthyle (aucun, 2 ou 4) sur les atomes d'azote, un pont éthylénique entre deux atomes d'azote diagonalement opposés ("cross-bridged"), une C-fonctionnalisation éthylènehydroxy sur l'atome de carbone en position β des atomes d'azote ($R_5 = -CH_2CH_2OH$) et enfin, une fonction éthylènehydroxy sur un atome d'azote du macrocycle. L'idée est de faire varier les propriétés des ligands et des complexes en conservant une sphère de coordination du métal incomplète pour qu'ils puissent interagir avec l'A β et former des complexes métal-hydroxo $[M(L)(OH)]^+$.

La méthylation des atomes d'azote permet de faire varier la basicité des amines et conduit à des complexes géométriquement déformés en raison de la gêne stérique. Le pont éthylène "cross-bridged", quant à lui, contraint la structure du ligand et lui confère des propriétés particulières : basicité, géométrie, complexation des métaux.

La C-fonctionnalisation éthylènehydroxy a été choisie afin d'apporter un atome donneur et un accepteur de liaisons hydrogène. De plus, elle permet d'augmenter l'hydrophilie des composés sans modifier la charge globale, une charge positive étant préférée pour le passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE). La position éloignée de la fonction alcool ne lui permet pas de coordonner un cation métallique, néanmoins, elle est susceptible de modifier les interactions entre les ligands, les peptides A β et le milieu biologique en général. La méthodologie de synthèse de ce dérivé C-fonctionnel a été mise au point au laboratoire en

2012 et des études menées plus récemment ont montré la possibilité de modifier la fonction alcool permettant d'envisager la vectorisation du composé. Dans le cas où l'effet du groupement éthylènehydroxy ne serait pas significatif vis-à-vis de l'application biologique, la vectorisation constituerait une alternative intéressante pour le ciblage *in vivo* de la maladie d'Alzheimer.

La fonctionnalisation d'un atome d'azote du macrocycle par un groupement éthylènehydroxy présente une différence fondamentale : dans cette position la fonction alcool est susceptible de coordiner le cation métallique ; modifiés de la sorte les ligands seront donc pentadentates. En cas de coordination d'un cation métallique, la fonction alcool devrait voir sa constante d'acidité largement abaissée, pouvant aboutir à la formation plus ou moins facile d'un alcoolate, selon le métal. La présence de cette fonction pourrait être particulièrement intéressante pour la génération d'hydroxyde à proximité du centre métallique avec des échanges de protons entre le milieu biologique et le complexe.

La première série de ligands est composée des dérivés du cyclam, déjà décrits dans la littérature depuis plusieurs décennies : le **cyclam**, le diméthyle-cyclam (**DMC**), le tétraméthyle-cyclam (**TMC**), le cross-bridged cyclam (**CB-cyclam**) et le cross-bridged diméthyle-cyclam (**CB-DMC**).

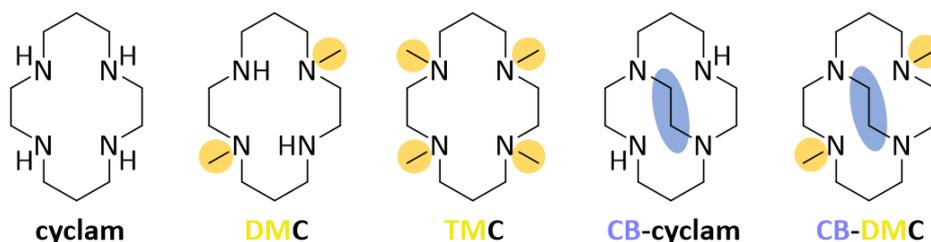


Figure 10. Série n°1, constituée de dérivés du **cyclam**.

Bien que ces dérivés du **cyclam** soient déjà connus, seul le **TMC** a été étudié pour cette application.^[4] De plus, les études de chimie de coordination des complexes de cuivre, zinc et cobalt de ces ligands sont incomplètes.

La deuxième série de ligands est composée des dérivés du **cyclam-EtOH**, portant un groupement éthylènehydroxy sur un atome de carbone en position β des atomes d'azote. Cette série correspond aux analogues C-fonctionnalisés de la série précédente, elle comprend : le **cyclam-EtOH**, le diméthyle-cyclam-EtOH (**DMC-EtOH**), le tétraméthyle-cyclam-

EtOH (**TMC-EtOH**), le cross-bridged cyclam-EtOH (**CB-cyclam-EtOH**) et le cross-bridged diméthyle-cyclam-EtOH (**CB-DMC-EtOH**) (Figure 11).

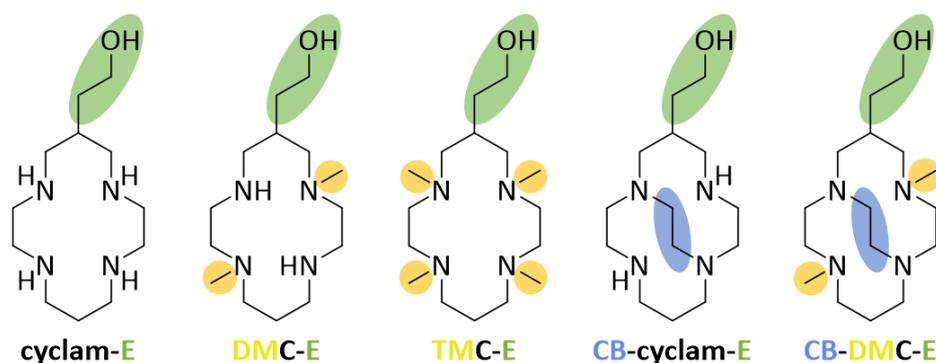


Figure 11. Série n°2, constituée de dérivés du **cyclam-EtOH**.

La synthèse de ces ligands est envisagée à l'aide des mêmes procédés que ceux utilisés pour la série n°1, néanmoins, la présence de la C-fonctionnalisation pourrait avoir des effets imprévus, notamment sur la solubilité, la vitesse de réaction ou l'encombrement stérique. Excepté pour le macrocycle parent, le **cyclam-E**, aucun des complexes métalliques de ces dérivés n'a été étudié.

Enfin, la troisième série de ligands est constituée de macrocycles portant un groupement éthylènehydroxy sur un atome d'azote : le **TE1EtOH**, le **TE3MeEtOH**, le **CB-TE1EtOH** et le **CB-TEMeEtOH** (Figure 12).

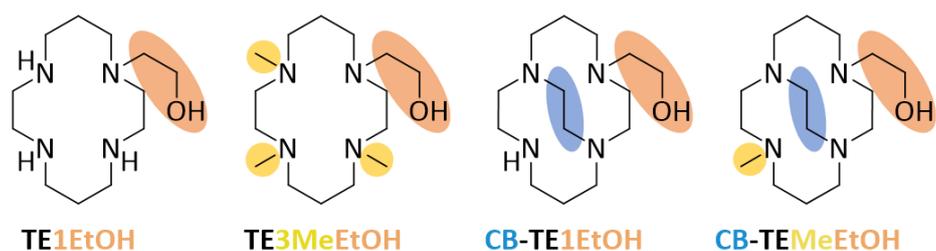


Figure 12. Série n°3, constituée de dérivés *N*-éthylènehydroxy du **cyclam**.

Pour la synthèse de ces ligands, un seul des atomes d'azote doit être fonctionnalisé avec le groupement éthylènehydroxy. Les outils permettant les fonctionnalisations souhaitées sont très bien maîtrisés au laboratoire, néanmoins, la préparation de ces quatre composés nécessite la mise au point d'une stratégie de synthèse sur plusieurs étapes. Les complexes métalliques du **TE1EtOH** et **TE3MeEtOH** ont fait l'objet de quelques études de chimie de coordination par Wainwright et coll.^[21] à la fin des années 1990, mais n'ont jamais été

considérés pour une application biologique. Les ligands **CB-TE1EtOH** et **CB-TE1MeEtOH** n'ont, quant à eux, jamais été décrits.

Le premier chapitre de ce manuscrit est dédié à la présentation de la maladie d'Alzheimer et des phénomènes biologiques mis en jeu au cours de son développement. Après avoir fait un point détaillé sur les mécanismes à cibler pour développer des agents de diagnostic et de thérapie, nous aborderons l'intérêt d'utiliser des macrocycles dans la stratégie de conception de nouvelles molécules. Une partie de ce chapitre permettra de faire le lien entre les recherches menées au laboratoire en imagerie médicale et les applications accessibles vis-à-vis de la maladie d'Alzheimer. Enfin, les stratégies thérapeutiques, par chélation des métaux et l'utilisation de complexes métalliques, seront mises en avant et viendront appuyer les choix structuraux des trois séries de ligands sélectionnées.

Le second chapitre est consacré à la synthèse des ligands macrocycliques, indispensable pour mener à bien ce projet. Dans une première partie, des rappels bibliographiques seront faits sur les techniques de synthèse des tétraazacycloalcanes ainsi que sur les méthodes de fonctionnalisations régiospécifiques. Dans une seconde partie, les voies de synthèse mises au point pour l'ensemble des dérivés des séries n°2 et n°3, les difficultés rencontrées ainsi que les améliorations envisageables seront présentées.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude des propriétés physicochimiques des complexes de cuivre, de zinc et de cobalt issus des trois séries de ligands. La première partie sera composée de rappels bibliographiques sur les propriétés de coordination des métaux étudiés, les propriétés des tétraazacycloalcanes et en particulier celles des dérivés de **cyclam**. Les techniques de caractérisation qui ont été utilisées seront détaillées afin d'en rappeler les principes et de présenter les résultats rapportés sur les complexes déjà étudiés. Dans la seconde partie, les résultats de chimie de coordination obtenus pour les complexes métalliques des trois séries de composés seront présentés. Bien que la série n°1 soit connue depuis plusieurs décennies, certaines analyses ont été répétées pour s'assurer de la validité de nos résultats et compléter les données manquantes de la littérature en assurant une homogénéité des conditions expérimentales.

Le dernier chapitre est dédié aux résultats biologiques *in-vitro* obtenus en collaboration avec l'équipe du Pr. M. H. Lim en Corée du Sud ("Korean Advanced Institute of

Science and Technology", à Daejeon) au sein de laquelle j'ai eu l'opportunité d'effectuer une mobilité de deux mois pour participer à cette partie des recherches. L'étude de l'activité des molécules n'est pas encore à son terme mais les résultats obtenus jusqu'à présent seront présentés en deux parties. La première portera sur l'activité des ligands vis-à-vis des complexes métal-amyloïde- β (M-A β) et la modulation de leur toxicité puis la seconde sur l'activité des complexes métalliques vis-à-vis des peptides A β . L'idée étant de corrélérer les modifications structurales des ligands que nous avons choisis à l'activité biologique.

CHAPITRE I : La Maladie d'Alzheimer : développement, thérapie, diagnostic. Quel apport de la part des ligands azotés ?

Soigner la maladie d'Alzheimer s'impose actuellement comme l'un des plus grands défis de santé du XXI^{ème} siècle. Les nombreux mécanismes chimiques et biologiques mis en jeu au cours de son développement en font une maladie particulièrement compliquée à appréhender, à diagnostiquer mais surtout à soigner. Néanmoins, son aspect multifactoriel a permis aux chercheurs de mettre au point plusieurs stratégies à visées diagnostique et thérapeutique.

Dans ce chapitre bibliographique, nous verrons d'abord les principales causes biologiques au centre du développement de la maladie d'Alzheimer et un point détaillé sera fait sur la protéine amyloïde- β et la biochimie responsable de sa toxicité. Nous aborderons ensuite les différentes cibles thérapeutiques envisagées ainsi que les molécules spécifiquement conçues pour le diagnostic. Enfin nous verrons en quoi les chélates azotés, principalement les macrocycles, sont des outils particulièrement intéressants pour le développement de nouveaux agents diagnostiques comme de nouveaux candidats thérapeutiques.

1. Introduction sur la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer a été découverte en 1906 par le médecin allemand Alois Alzheimer. Lors de l'examen *post mortem* du cerveau d'une patiente atteinte de démence sénile, il décrit les lésions suivantes comme responsables de la maladie : atrophie corticale, présence d'enchevêtrements dans le cytoplasme et de plaques à l'extérieur des cellules. Ces lésions seront identifiées plus tard comme étant des enchevêtrements de protéines tau et des plaques de peptides amyloïde- β .^[22]



C'est aujourd'hui la maladie neurodégénérative la plus répandue dans le monde. Elle provoque la détérioration progressive des cellules nerveuses conduisant inexorablement à la mort cellulaire. Actuellement, le diagnostic de la maladie est donné trop tardivement, environ 20 ans après les premiers signes dans le cerveau des patients. Trois stades ont été identifiés : le stade préclinique, le déficit cognitif modéré et la démence.^[23] Au stade préclinique, la maladie, invisible, se déclare avec les premiers changements dans le métabolisme cellulaire mais le patient est asymptomatique. Vient ensuite le déficit cognitif modéré où les premiers symptômes apparaissent, les malades commencent à montrer des troubles de la mémoire et plus généralement des fonctions cognitives. Le dernier stade est la démence, déficit cognitif sévère où les fonctions motrices sont touchées à leur tour. Les symptômes évoluent selon la progression de la maladie dans le cerveau : elle débute dans l'hippocampe, siège de la mémoire, puis s'étend au système limbique, siège des émotions et du comportement et atteint finalement le cortex qui comprend les aires motrices.^[23] La démence, qu'elle soit associée à la maladie d'Alzheimer ou à une maladie apparentée, est aujourd'hui la première cause d'invalidité et de dépendance dans le monde. S'occuper de ces patients représente un coût physique, psychologique et économique colossal, pas seulement pour les patients, mais également pour les soignants, les familles des malades et pour la société en générale.

En 2018, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé que 50 millions de personnes étaient atteintes de démence dans le monde avec des projections à 82 millions en 2030 et 152 millions en 2050. La maladie d'Alzheimer représenterait 60 à 70% de ces cas de démences.^[24] Il ne s'agit que d'une estimation car il n'existe actuellement aucun moyen de diagnostic *in vivo* à grande échelle, en raison du manque de précision des tests ou d'un coût

trop élevé. A cela s'ajoute l'absence de traitement de la maladie d'Alzheimer qui n'incite pas à poser un diagnostic précis dans le cas des démences séniles. Actuellement le meilleur diagnostic reste *post mortem*, par la constatation des lésions caractéristiques dans le cerveau. En 2015, le coût de la maladie a été estimé à 818 milliard de Dollars (US\$) et il devrait augmenter jusqu'à 2.000 milliard de dollars d'ici 2030.^[25]

Bien que la pathophysiologie de la maladie d'Alzheimer ne soit pas complètement élucidée, les dernières décennies ont permis d'améliorer grandement sa compréhension. Ce premier chapitre sera dédié à la présentation des causes biologiques de la maladie, des cibles thérapeutiques prometteuses, des techniques de diagnostic et nous ferons un point détaillé sur l'apport des chélates azotés linéaires et macrocycliques dans ce domaine.

2. Les causes biologiques de la maladie

Aujourd'hui encore, les causes de la maladie d'Alzheimer restent méconnues. Cependant, la communauté scientifique s'accorde à dire que les deux principales lésions observées, l'enchevêtrement des protéines tau à l'intérieur des cellules et l'agrégation de l'amyloïde- β à l'extérieur des cellules, sont liées à une cascade d'autres perturbations qui apparaissent au cours du développement de la maladie : dishoméostasie, perméabilité membranaire, blocage de neurotransmetteurs, hyperactivité enzymatique, inflammation.^[26] Il s'agit d'une maladie particulièrement complexe, où chacun des processus cités fait intervenir une multitude de facteurs à l'échelle moléculaire. Pour ces raisons il est particulièrement difficile de différencier les causes et les conséquences dans le développement de la maladie.

Pour comprendre au mieux les mécanismes mis en jeu au niveau cellulaire, il est important de rappeler la structure et le fonctionnement d'une cellule neuronale (Figure 13).^[27] Comme la majorité des cellules eucaryotes, les neurones contiennent un noyau qui protège le matériel génétique. Autour de celui-ci se trouve le péricaryon, autrement appelé corps cellulaire, il s'agit du siège des fonctions vitales cellulaires (processus de traduction, production d'énergie) et à partir duquel émergent les autres structures neuronales. Parmi ces autres structures on trouve les dendrites, prolongements du corps cellulaire qui reçoivent et conduisent les courants électriques ioniques (potentiel d'action) émis par les synapses des cellules voisines. On trouve également l'axone, structure permettant de conduire cette

information électrique et de transporter des protéines du péricaryon vers les synapses. Chez l'être humain, l'axone est entouré par une gaine de myéline, membrane riche en lipide, qui isole l'axone et lui permet d'augmenter la vitesse de propagation du courant ionique, aussi appelé influx nerveux. Cette gaine s'interrompt de manière régulière pour laisser une étroite partie de l'axone à nue ; cette zone, appelée nœuds de Ranvier, concentre la plupart des canaux sodiques et potassiques nécessaires à la formation et à la transmission de l'influx nerveux. Le long de cet ensemble, le potentiel d'action « saute » de nœud en nœud de manière très rapide jusqu'aux synapses, où il est transformé en signal chimique transmis aux dendrites des cellules voisines par le biais de molécules appelées neurotransmetteurs.

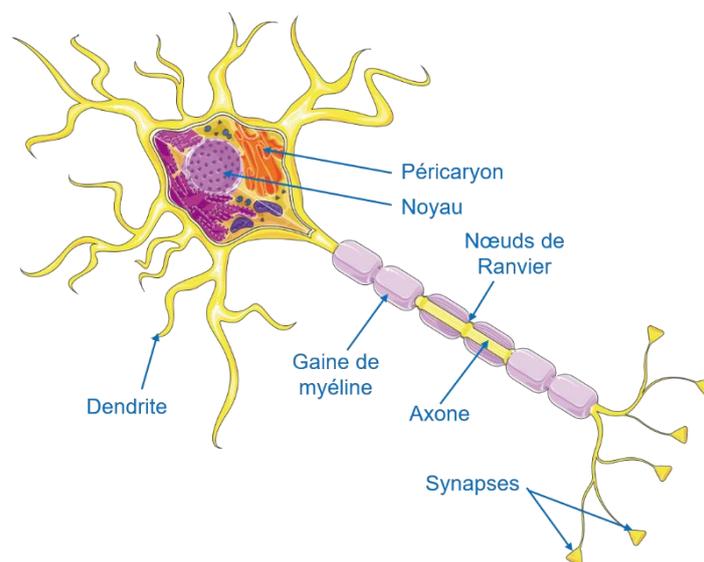


Figure 13. Schéma d'une cellule neuronale.^[27]

Ce sont donc deux protéines, tau et amyloïde- β , qui sont principalement mises en cause dans le développement de la maladie d'Alzheimer. Elles interviennent respectivement dans des processus intracellulaires et extracellulaires détaillés dans la suite de ce chapitre.

2.1 Les enchevêtrements de protéines tau

La protéine tau, de l'anglais « tubulin-associated unit », est une phosphoprotéine de la famille des protéines associées aux microtubules (MAP – « microtubule-associated protein »). Les microtubules sont les fibres constitutives du cytosquelette permettant à la cellule de maintenir sa structure et de se mouvoir. Il s'agit d'un polymère composé principalement de dimères de tubuline- α et - β qui s'associent et se dissocient de manière hautement dynamique

(Figure 14). En plus des tubulines, les microtubules sont riches en protéines, différenciées en deux groupes : les MAP motrices pour le transport de vésicules et les MAP non motrices permettant de moduler la stabilité du polymère et de réguler la présence des MAP motrices. La protéine tau fait partie de cette seconde classe de MAP, elle stabilise et apporte de la flexibilité aux microtubules en se liant aux tubulines.

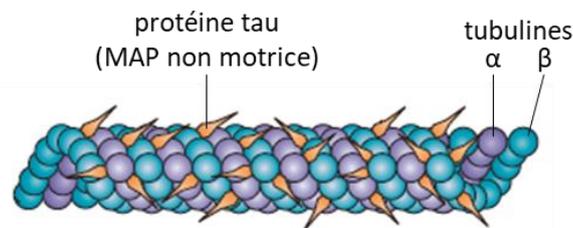


Figure 14. Microtubule stabilisé par la protéine tau liée aux tubulines.^[28]

Dans les cellules nerveuses, l'axone est une zone particulièrement riche en microtubules et par conséquent en protéines tau. Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, la protéine tau dégénère et devient anormale, on parle de taupathie. La protéine tau anormale ne peut plus se lier aux microtubules en raison d'une hyper-phosphorylation due à un déséquilibre dans l'activité des enzymes kinases et phosphatases, qui interviennent respectivement dans les processus de phosphorylation et de déphosphorylation. L'absence d'interaction entre la protéine tau et la tubuline entraîne un double effet négatif : d'une part les microtubules deviennent instables et se dissocient, entraînant la perte de structure de la cellule, et d'autre part, les protéines tau anormales adoptent une conformation non naturelle et s'agrègent dans le milieu intracellulaire, formant ainsi des enchevêtrements neurofibrillaires (NFT's – « neurofibrillary tangles ») (Figure 15).^[28] Chez les patients souffrant de taupathie, la densité en microtubule et, par conséquent, le transport de vésicules le long de l'axone, diminuent de manière significative. Les recherches actuelles montrent que cette pathologie, la taupathie, est directement liée au développement des symptômes de la maladie d'Alzheimer en raison de la diminution du nombre de neurones fonctionnels.^[29]

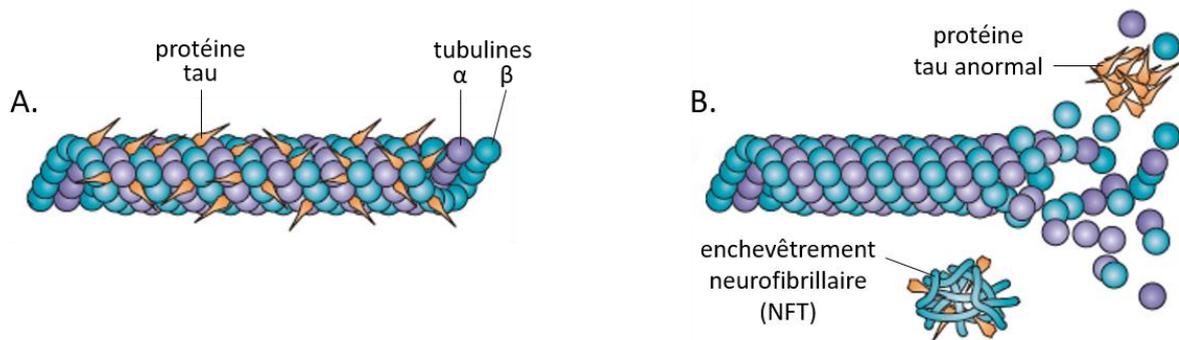


Figure 15. Représentation d'un microtubule : A. dans un neurone sain : tau normale, B. Dans un neurone malade : tau anormale. NFT = « NeuroFibrillary Tangle » = Enchevêtrement NeuroFibrillaire.^[28]

Les études menées sur l'agrégation de la protéine tau ont montré que les enchevêtrements agissaient comme des prions (protéines infectieuses) : l'interaction entre une protéine tau normale et une protéine tau anormalement repliée pousse la protéine saine à changer de conformation pour se joindre aux agrégats déjà formés.^[30] Cette propriété a été mise en évidence par l'injection d'enchevêtrements de protéines directement dans le cerveau de souris ne devant pas développer de taupathie, puis en observant l'expansion des zones touchées depuis la zone d'injection. Les agrégats injectés agissent comme des graines qui provoquent, chez les souris, le développement d'une taupathie. L'expansion des lésions se fait systématiquement de la zone d'injection vers le sillon central, ce qui est cohérent avec un mécanisme d'absorption, de transport puis de libération des agrégats injectés. Cette expérience permet d'expliquer l'expansion naturelle de la taupathie au cours du développement de la maladie d'Alzheimer (Figure 16). En effet, la propagation des enchevêtrements neurofibrillaires (zone en bleu) se fait systématiquement du tronc cérébral vers le sillon central du cortex.^[31]

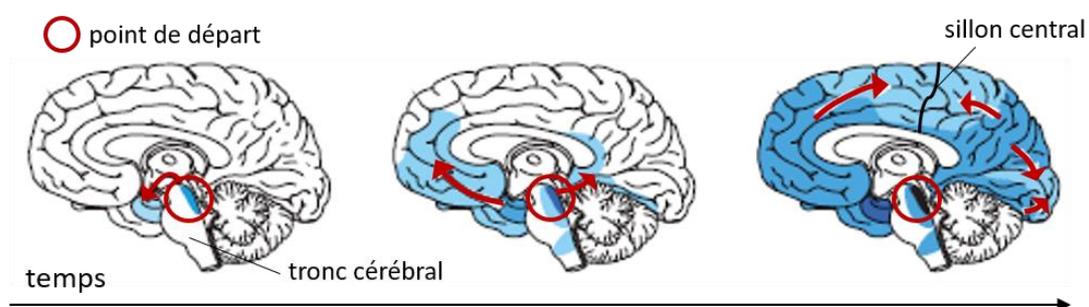


Figure 16. Expansion naturelle des enchevêtrements neurofibrillaires au cours du temps.^[31]

2.2 Les agrégats de peptides amyloïde-β

2.2.a Clivage de l'« Amyloid Precursor Protein » (APP)

La seconde protéine impliquée dans le développement de la maladie d'Alzheimer, l'amyloïde-β (Aβ), est un peptide issu du clivage de l'APP (« Amyloid Precursor Protein »). Il s'agit d'une protéine transmembranaire présente dans tout le corps humain et dont la plus forte expression se trouve dans les neurones. Il existe 3 sécrétases, enzymes de la famille des protéases, impliquées dans l'hydrolyse de l'APP : l'α-sécrétase, la β-sécrétase et la γ-sécrétase (Figure 17).^[32] L'α-sécrétase coupe l'APP dans la séquence du peptide Aβ et ne conduit donc pas à la formation d'Aβ, on parle de voie non amyloïdogénique d'hydrolyse. La β-sécrétase et la γ-sécrétase hydrolysent l'APP respectivement sur les sites N-terminal et C-terminal de l'Aβ. Ce sont donc les réactions d'hydrolyses successives de ces deux enzymes qui conduisent à la formation du peptide Aβ et qui constituent la voie amyloïdogénique. Il est important de préciser que la γ-sécrétase possède plusieurs sites d'hydrolyse sur l'APP, ce qui conduit à la formation de plusieurs variantes du peptide Aβ d'une longueur de 38 à 43 acides aminés ; ces peptides Aβ sont notés Aβ_{1-x} ou Aβ_x, X représentant la taille du peptide. La séquence la plus commune est l'Aβ₁₋₄₀, toutefois, on trouve chez les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer un taux anormalement élevé d'Aβ₁₋₄₂.

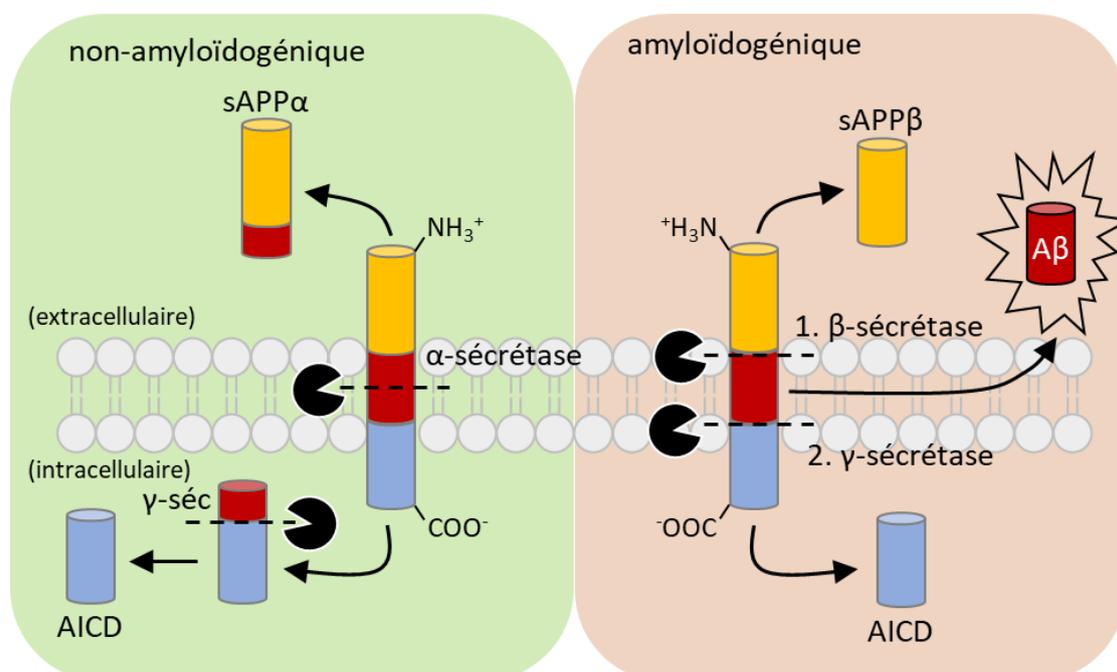


Figure 17. Clivage de l'APP selon les voies non-amyloïdogénique ou amyloïdogénique. Inspiré de Thinakaran et koo, J. Biol. Chem., **2008**, 283, 29615-29619.^[32]

Bien que l'APP conduise à la formation de peptides impliqués dans la maladie d'Alzheimer, son rôle au sein des cellules semble essentiel. Plusieurs équipes ont mis en évidence la présence de plusieurs domaines de liaison dans la séquence extracellulaire de l'APP qui en font un récepteur impliqué dans l'adhésion et la croissance cellulaire.^[33,34] Les rôles des fragments sAPP α , sAPP β et AICD, formés au cours de la protéolyse de l'APP, ont eux aussi été étudiés. Le fragment AICD, à l'intérieur de la cellule, est impliqué dans la régulation de la synthèse et du transport de l'APP. Le fragment sAPP α semble intervenir dans l'apprentissage, la mémoire ainsi que dans l'adhésion et la plasticité des cellules neuronales.^[33,34] Le fragment sAPP β est, lui aussi, impliqué dans les mécanismes de développement des neurones mais son activité diffère légèrement de celle de sAPP α .^[35] Le rôle du peptide A β , quant à lui, reste mal compris. Il est présent chez tous les individus, sains comme malades, et joue probablement un rôle dans la signalisation cellulaire.^[34] La toxicité de l'A β n'apparaît que lorsque sa concentration en milieu extracellulaire augmente et que les enzymes de dégradation ne parviennent plus à l'éliminer. C'est à partir de ce déséquilibre que le peptide commence à s'agréger.

2.2.b Processus d'agrégation de l'A β

On appelle substance amyloïde un agrégat de protéine qui se replie sous forme de feuillet- β , permettant à un grand nombre d'unités de cette protéine de se coller pour adopter une structure fibrillaire. Les feuillets- β sont des structures protéiques tridimensionnelles constituées d'au moins deux brins- β reliés entre eux par des liaisons hydrogène entre des atomes du squelette peptidique (Figure 18). Chaque brin- β est formé d'au moins trois acides aminés et l'ensemble des brins forment un plan plissé (ou dit « en accordéon »).

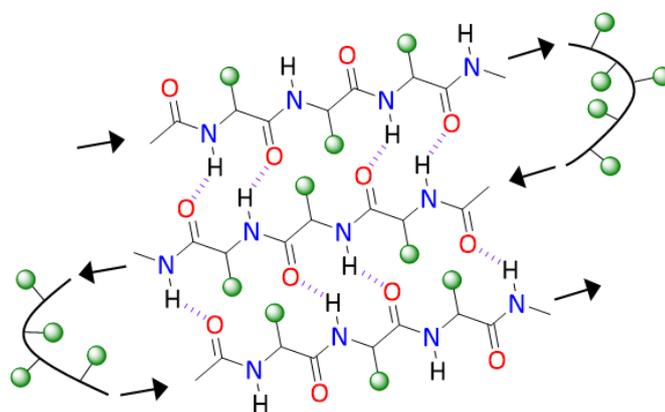


Figure 18. Structure protéique en feuillet- β de 3 brins- β (vert = chaînes latérales des acides aminés).

Le peptide amyloïde- β fait partie de cette famille des protéines amyloïdes, toutefois, plusieurs autres protéines humaines ont ce type de propriétés et sont responsables des maladies dites amylose.^[36] L'A β , composée de 38 à 43 acides aminés, possède deux portions de sa séquence susceptibles de s'organiser sous forme de feuillet- β avant de se regrouper pour former une structure de type fibrillaire (Figure 19). La force motrice de l'agrégation est l'interaction hydrophobe entre les peptides : principalement entre les acides aminés Leu17 à Ala21 qui forment la séquence **LVFFA** appelée site d'auto reconnaissance (acides aminés en vert, Figure 19) mais également entre les extrémités C-terminales qui contiennent de nombreux acides aminés hydrophobes.^[37]

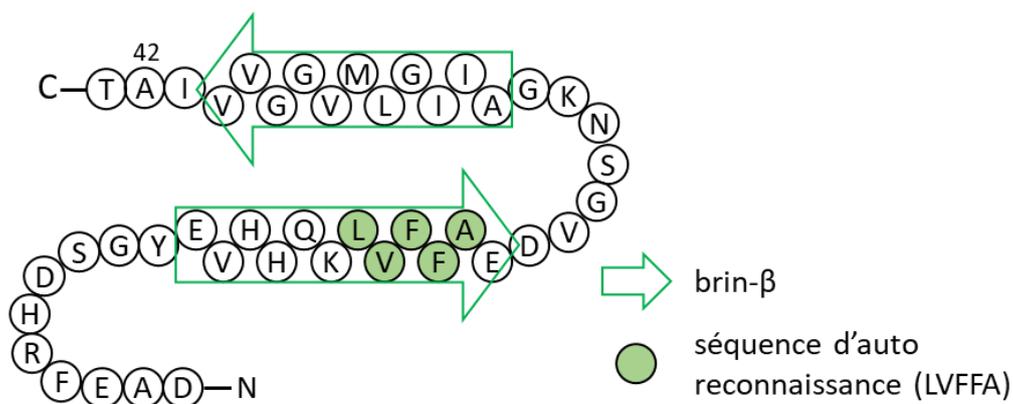


Figure 19. Séquence peptidique de l'amyloïde- β 1-43 repliée sous forme de feuillet- β .

Dans sa conformation physiologique, le peptide A β est soluble en milieu biologique et présente un domaine sous forme d'hélice- α (A β^α) (Figure 20). Les hélices alpha sont des structures tridimensionnelles formées par l'enroulement régulier de la chaîne peptidique sous forme hélicoïdale. La structure dynamique des peptides permet à l'A β de se déplier (A $\beta^{dépilée}$) et de se replier. Dans de cet équilibre il est possible que le peptide ne se replie pas correctement et adopte une structure secondaire en feuillet- β (A β^β) plutôt qu'en hélice- α . Ce sont ces peptides, mal repliés en feuillets- β qui s'agrègent, d'abord sous forme de dimères puis d'oligomères et ce jusqu'à former les fibrilles. Le déplacement de l'équilibre en faveur de l'agrégation se fait en raison de la vitesse d'échange entre les différentes formes : alors que la dynamique des monomères est particulièrement rapide, de 10ns à 1 μ s, celle des dimères est de l'ordre de 1s. Cela signifie que le dimère est un million de fois plus stable que le monomère, d'où le phénomène d'agrégation.^[38]

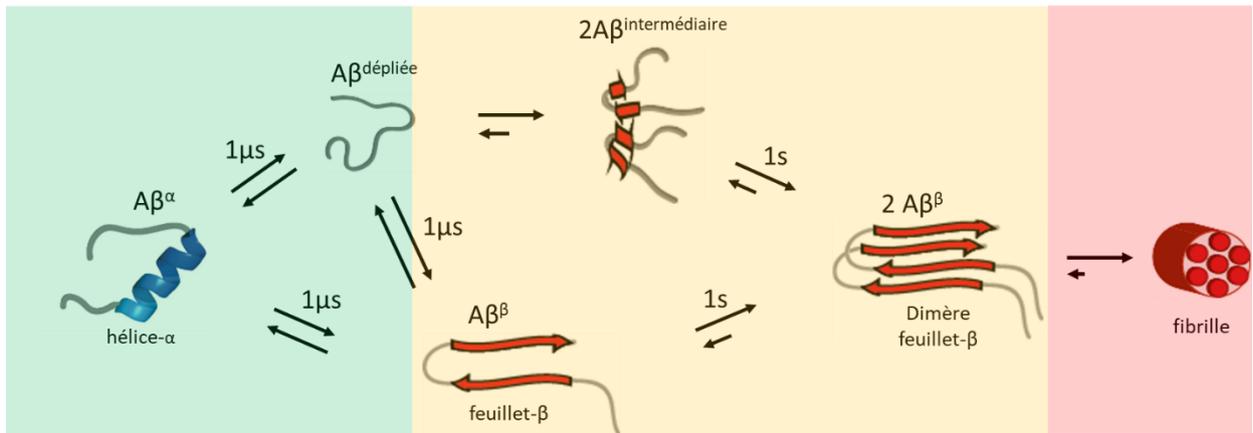


Figure 20. Dynamique de formation des dimères d'Aβ en feuillet-β.^[38]

Le processus complet d'agrégation, depuis les monomères jusqu'aux fibrilles, suit une cinétique particulière. Il peut être étudié en plaçant un échantillon d'Aβ en présence de Thioflavin T (ThT) et en mesurant l'évolution de la fluorescence à 480 nm en fonction du temps (lors d'une excitation à 450 nm).^[39,40] En effet, le ThT est très peu fluorescent en solution, il émet à 480 nm lorsqu'il se lie aux structures de type feuillet-β et permet donc de suivre la formation des fibrilles d'amyloïde-β. Le processus de fibrillation est découpé en trois phases : phase de latence, phase de croissance et phase de saturation, schématisées sur la Figure 21. Durant la phase de latence, le peptide Aβ est en équilibre entre sa forme originelle Aβ^α, sa forme dépliée (Aβ^{dépliée}), sa forme mal repliée Aβ^β et parfois d'agrégats amorphes qui n'interviennent pas dans le processus de fibrillation. La formation de dimère d'Aβ^β marque le début de la phase de croissance avec une évolution rapide vers des oligomères puis des protofibrilles pour finalement arriver sur un plateau de saturation où la structure fibrillaire prédomine. Au cours de la phase de latence, la solubilité des oligomères diminue fortement et les premières espèces insolubles apparaissent, ce phénomène de précipitation participe au déplacement de l'équilibre vers les fibrilles.

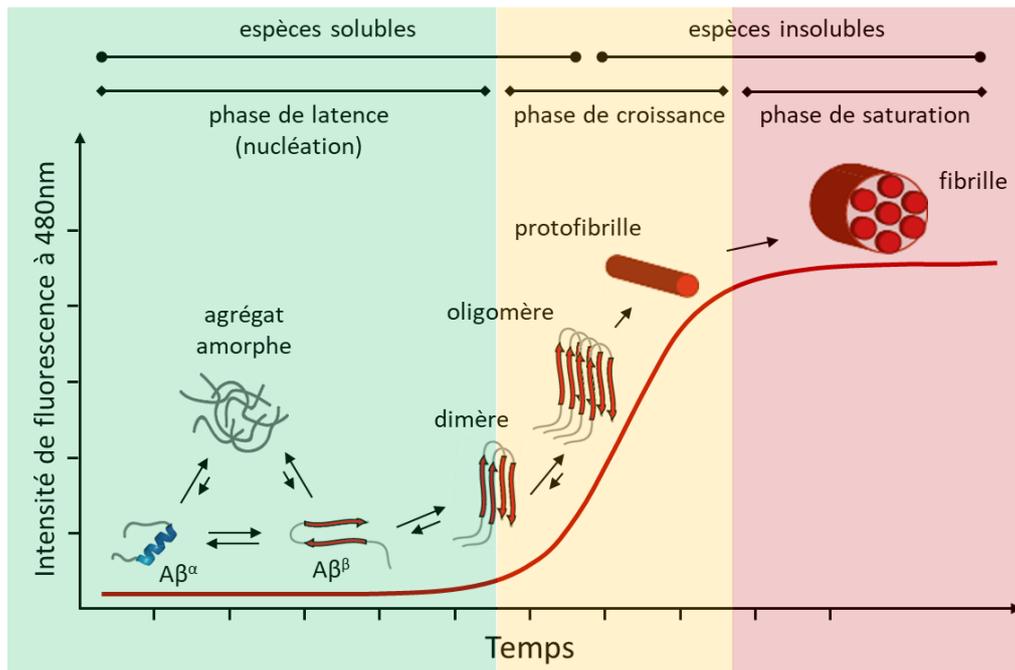


Figure 21. Processus d'agrégation de l'amyloïde en fibrille. Inspiré de M. R. Wilson, J. J. Yerbury, S. Poon, *Mol. BioSyst.* **2008**, 4, 42–52.^[41]

La reproductibilité des expériences d'agrégation est difficile à mettre en œuvre, les Drs. Faller et Hureau ont très récemment proposé des lignes directrices à suivre à ce sujet.^[42] En effet, la durée de chacune des phases est particulièrement sensible aux conditions expérimentales et de nombreux facteurs interviennent sur la vitesse de formation des oligomères puis des agrégats plus volumineux. En premier lieu il faut considérer la longueur des peptides (38 à 43 acides aminés) : les peptides Aβ₄₂ ont, par exemple, une propension à l'agrégation plus importante que les autres.^[43] Ensuite, il faut considérer les facteurs du milieu d'étude tels que la température, la concentration en protéine, la salinité du milieu, le pH, ou encore la présence d'ions métalliques qui influencent, eux aussi, l'agrégation.

Tout comme la protéine tau, l'Aβ a aussi des propriétés de protéine infectieuse.^[44,45] En effet, lorsqu'une fibrille se rompt, sa croissance reprend à partir des extrémités des fragments formés. L'expansion des plaques séniles respecte un schéma inverse à celle des enchevêtrements de protéine tau : les zones périphériques sont les premières à présenter des lésions, qui se répandent vers le tronc cérébral (Figure 22).^[31]

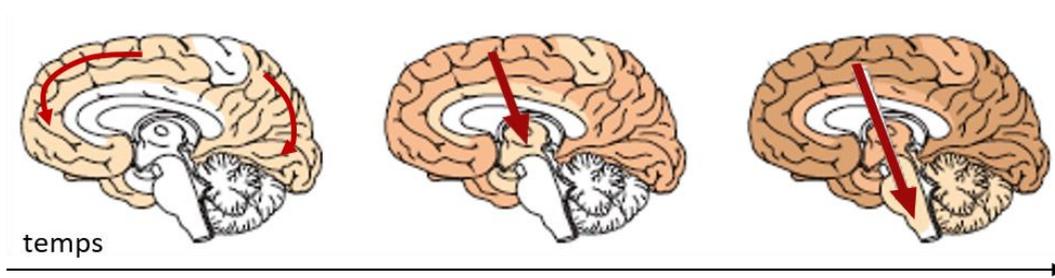


Figure 22. Expansion des agrégats d'amyloïde- β au cours du temps.^[31]

2.3 L'amyloïde- β et les ions métalliques

2.3.a Complexation des ions métalliques

La présence de métaux dans le milieu biologique est un élément supplémentaire important à considérer dans le processus d'agrégation de l'A β . Cela s'explique par la présence d'une partie hydrophile capable de coordonner les ions métalliques. En effet, les 15 premiers acides aminés de la séquence peptidique ne comportent pas moins de 9 groupements latéraux (Asp1, Glu3, Arg5, His6, Ser8, Tyr10, Glu11, His13, His14) qui peuvent coordonner les métaux (Figure 23) ; sans oublier que les fonctions amide du squelette peptidique peuvent également être coordinantes. La formation d'un complexe métallique impose une géométrie particulière au peptide, à savoir un repliement non fonctionnels « bloqué » (non dynamique) en feuillet- β accélérant l'oligomérisation et stabilisant les fibrilles. Il est important de savoir quels sont, parmi les acides aminés cités précédemment, ceux qui interviennent dans la complexation des métaux afin d'expliquer l'influence sur la géométrie de la protéine. Bien que de nombreux cations métalliques puissent être coordonnés par l'A β ,^[46] les cations endogènes majoritairement retrouvés dans les plaques séniles sont le fer, le zinc et le cuivre.^[47]

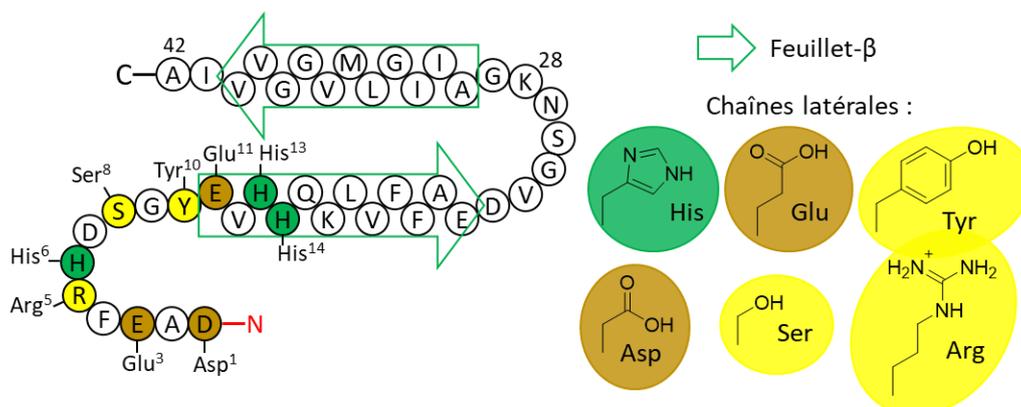


Figure 23. Séquence peptidique de l'amyloïde- β 1-42 avec ses potentiels sites de coordination.

Le ions fer sont retrouvés en quantité importante dans les plaques amyloïdes (≈ 1 mM). Le Fe(II) peut, à priori, interagir avec l'A β , cependant, il ne fait pas partie intégrante de leur structure. En effet, lors de l'extraction d'A β à partir d'échantillons biologiques de plaques séniles, le fer n'est pas extrait avec le peptide et reste majoritairement associé à la ferritine (protéine de stockage du fer).^[48] Sa forte concentration dans les plaques séniles serait donc secondaire et certainement due à une altération de l'homéostasie.^[49]

Les ions cuivre (Cu(II)) sont également retrouvés en grande quantité dans les plaques séniles, environ 400 μ M, ce qui est plusieurs centaines de fois supérieur à la concentration normale extracellulaire dans le cerveau. Contrairement au fer, les ions cuivre(II) sont extraits avec les peptides A β , ce qui valide la formation d'un complexe A β -Cu.^[48]

Les ions zinc (Zn(II)) sont, eux aussi, extraits avec l'A β à partir d'échantillon d'agrégats et forment donc un complexe A β -Zn.^[48] Leur concentration dans les plaques est particulièrement élevée et peut atteindre 1 mM. Bien qu'élevée, cette valeur est à nuancer car des ions zinc sont libérés avec les neurotransmetteurs et leur concentration naturelle peut localement atteindre 0.2-0.3 mM.^[47]

Pour étudier les sites de coordination des ions zinc et cuivre, des peptides tronqués ont été utilisés, A β ₁₋₁₆ et A β ₁₋₂₈. Ils correspondent à la partie hydrophile du peptide, qui comporte les acides aminés susceptibles de coordonner les ions métalliques. Ce sont de bons candidats pour l'étude de la coordination car, en raison de l'absence de la partie hydrophobe du peptide, la séquence 1-16 ne forme pas d'agrégat et la séquence 1-28 n'en forme que très légèrement.^[47] Les résultats obtenus par les différentes équipes de recherche sont difficilement répétables en raison de la très forte dépendance aux conditions expérimentales (pH, nature du tampon, concentration, température...). Cependant malgré quelques observations variables, l'ensemble de la communauté scientifique s'accorde sur des sites de coordination propres à chaque métal dont les résultats ont été regroupés par les Drs. Fallier et Hureau dans une revue en 2009.^[47]

- Pour la coordination du zinc, des études RMN et EXAFS (Extended X-Ray Absorption Fine Structure) ont montré que l'**His6**, l'**His13** et/ou l'**His14** sont présents dans la sphère de coordination du métal (Figure 23 – vert). Le zinc ayant besoin de 4 à 6 atomes donneurs, il est possible d'ajouter 1 à 3 groupements coordinants. Parmi les acides aminés restants, trois ont

été écartés grâce à différentes techniques d'analyses (Figure 23 – jaune) : l'**Arg5** n'est pas un candidat plausible car le pKa de l'imine est trop élevé pour pouvoir coordiner un cation métallique (pKa \approx 12 donc iminium en milieu biologique) ; le pKa de déprotonation de la **Tyr10** a été déterminé par UV-visible et reste inchangé avec ou sans métal ; les déplacements RMN ^1H de la **Ser8** ne varient pas de manière significative en présence de zinc. Finalement, les études montrent que deux complexes sont susceptibles de se former à pH physiologique : un premier où les fonctions carboxylate de **Asp1** et du **Glu11** interviennent dans la coordination (marron - I Figure 24) et un second (II Figure 24) où la fonction N-terminale de **Asp1** et le carboxylate de **Glu11** coordinent le métal. Ces deux complexes (I et II - Figure 24) sont en équilibre à pH = 7,4 avec pour forme majoritaire le complexe I. Une constante de stabilité thermodynamique, qui traduit l'importance de l'interaction entre le zinc et l'A β , de $K \approx 10^6 \text{ M}^{-1}$ a été calculée pour ces deux espèces en mélange à pH = 7,4.^[50] Cette valeur est une constante de stabilité moyenne car il est impossible d'isoler les deux complexes pour les étudier séparément.

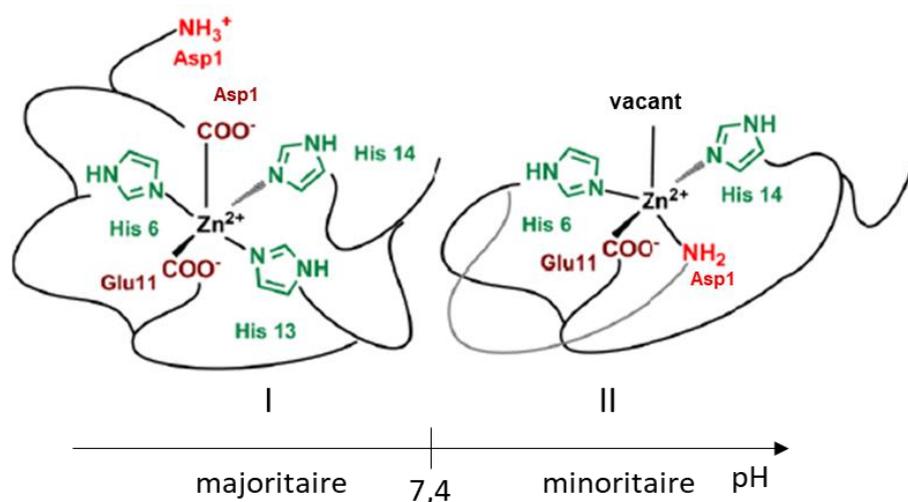


Figure 24. Structures des complexes Zn(A β) en fonction du pH.^[51]

- Pour la coordination du cuivre, l'équipe du Dr. Hureau a réalisé des études de Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) et de dichroïsme circulaire qui ont montré la possibilité de former deux complexes différents selon le pH du milieu (Figure 25). Comme pour le zinc, ces complexes font intervenir les histidines (**His6**, **His13** et **His14**), la fonction N-terminale de l'**Asp1** ainsi qu'une ou plusieurs fonctions amide du squelette peptidique. En considérant la présence des deux espèces ci-dessous à pH = 7.4, l'équipe du Dr. Hureau a

réinterprété les données de la littérature pour proposer une constante thermodynamique $K \approx 10^{10} \text{ M}^{-1}$.^[52]

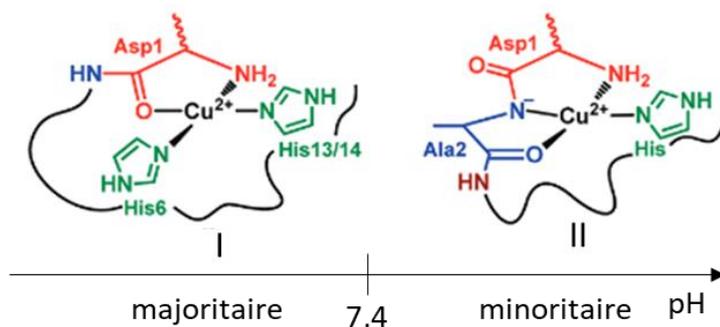


Figure 25. Structure des complexes Cu(Aβ) en fonction du pH.^[51]

2.3.b Toxicité des complexes métal-Aβ

- En plus du cuivre sous sa forme stable Cu(II), plusieurs équipes de recherche se sont intéressées au cuivre réduit Cu(I) qui peut être présent en milieu biologique. L'ion cuivreux (Cu(I)) est connu pour être impliqué dans l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) en tant que cofacteur des super-oxydes dismutases (SOD's) mais il est également un générateur de ROS lorsqu'il se trouve dans un milieu réducteur. Le milieu intracellulaire du cerveau présente un potentiel de -300 mV/NHE et le milieu extracellulaire est riche en ascorbate (centaines de μM), ce qui en fait un milieu réducteur. L'hypothèse de réactions impliquant le couple Cu(I)/Cu(II) dans la production de ROS est donc pertinente. Des études RMN et EXAFS ont montré la présence de Cu(I) dans des complexes linéaires impliquant les noyaux imidazole des histidines : **His6-Cu(I)-His13** ou **His6-Cu(I)-His14** ou **His13-Cu(I)-His14** avec une constante de stabilité réévaluée à $K \approx 10^7 \text{ M}^{-1}$.^[53] Les couples Cu(I)-Aβ / Cu(II)-Aβ et ASC / ASC^{•-} sont les catalyseurs d'une réaction en chaîne terminée par une réaction de fenton (production de radical hydroxyle HO[•] à l'aide de sels métalliques). Le dioxygène est réduit en ion radical superoxyde (O₂^{•-}) instable, qui se transforme en peroxyde d'hydrogène par dismutation spontanée. Enfin, ce dernier se dissocie en radical hydroxyle selon une réaction de fenton.^[54,55]

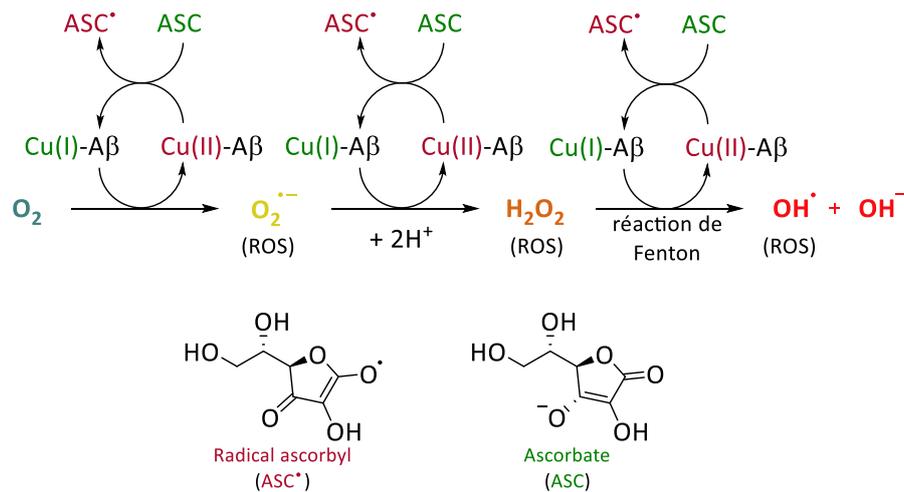


Figure 26. Schéma réactionnel de la production de ROS par le complexe Cu-A β en présence d'ascorbate.

A court terme l'excès de ROS est responsable du stress oxydant qui induit d'importants dommages aux cellules avec l'oxydation des membranes, des protéines, de l'ADN, etc... A plus long terme, l'exposition prolongée aux ROS amorcent les mécanismes d'apoptose, donc de mort cellulaire.

- La toxicité des complexes de zinc-A β est, quant à elle, sujette à débat. Les premières études réalisées par Bush et coll. ont démontré l'accélération de l'agrégation des peptides A β en présence d'une importante quantité de zinc.^[56,57] De plus, la coordination du métal par les résidus hydrophiles de l'A β favoriserait la précipitation des agrégats.^[58] Cependant, plusieurs études discutent l'effet de très faibles quantités de zinc qui pourraient ralentir le processus de fibrillation de l'A β en précipitant des espèces plus petites et moins toxiques.^[59,60] Le zinc libéré dans le cerveau pourrait donc avoir un effet neuroprotecteur mais deviendrait nocif à long terme lors de son accumulation.^[61] D'autres études seront nécessaires pour appréhender correctement les mécanismes mis en jeu autour des espèces Zn-A β .

Finalement, la formation de complexes entre l'A β et les ions Cu(II) et Zn(II) démontrée par les études de chimie de coordination et la toxicité induite par les espèces Cu-A β et Zn-A β viennent appuyer et compléter l'hypothèse de la cascade amyloïde proposée par Hardy et Higgins en 1992.^[62]

2.4 Hypothèse de la cascade amyloïde avec les ions métalliques

L'hypothèse de la cascade amyloïde est actuellement la plus soutenue pour expliquer le développement de la maladie d'Alzheimer. La libération excessive de peptide A β serait à la base des symptômes de la maladie d'Alzheimer, biologiques comme physiques. En 1992, Hardy et Higgins^[62] rapportent que la libération d'A β est responsable de la dégénérescence neurofibrillaire (taupathie), de la mort cellulaire, des dommages vasculaires et finalement de la démence sénile qui en découle. La formation des premiers agrégats d'A β rendrait les neurones plus sensibles à l'excitotoxicité, processus pathologique d'altération et de destruction neuronale par hyper activation par l'acide glutamique et ses analogues. Ils perturberaient l'homéostasie des ions calcium (mais également d'autres ions, comme le cuivre, le zinc et le fer) ce qui causerait une augmentation des ions calcium intracellulaires. Le calcium intervient dans le contrôle de la phosphorylation de la protéine tau qui, si elle est hyper phosphorylée, conduit à la dégénérescence neurofibrillaire.

La dishoméostasie des ions métalliques et leurs interactions avec l'A β apportent du crédit à cette hypothèse de cascade amyloïde. Le développement de la maladie peut être « résumé » dans un diagramme de signalisation cellulaire représenté Figure 27 qui débute au centre avec l'hydrolyse de l'APP (carré orange).^[63] Dans une cellule malade, les premières espèces oligomériques solubles qui complexent du cuivre produisent des ROS (Cu-A β 's – carré rouge) à l'origine des premiers dommages aux cellules : dishoméostasie, peroxydation des lipides de la membrane, stress oxydant des mitochondries, oxydation des protéines (récepteurs), inflammation (libération de cytokine et de macrophage neurotoxique). Les peptides A β peuvent également complexer du zinc qui va accélérer l'agrégation en fibrilles, non solubles dans le milieu extracellulaire. Ces espèces vont empêcher le fonctionnement normal des récepteurs de neurotransmetteurs tels que l'AMPA, le NMDAR et le nAChR. Ces derniers sont des canaux ioniques qui assurent l'homéostasie en échangeant des ions K⁺ et des ions Na⁺ ou Ca²⁺. De la même façon, d'autres récepteurs comme ceux qui transportent le glucose aux cellules ou les récepteurs métabotropes mAChR qui interviennent dans l'activation des canaux ioniques, vont se retrouver altérés. La perturbation de l'homéostasie provoque un excès de Ca²⁺ intracellulaire responsable du déséquilibre kinase - phosphatase qui provoque, à son tour, l'hyper phosphorylation des protéines tau. Ces protéines tau

anormales ne se lient plus aux microtubules et forment des agrégats : les enchevêtrements neurofibrillaires (NFT's). Finalement, toute cette cascade conduit à la mort des neurones par déclenchement des mécanismes d'apoptose cellulaires (récepteur de mort DR6). Chez un individu sain les cellules sont éliminées normalement, tandis que chez un malade, l'élimination renforce l'inflammation.

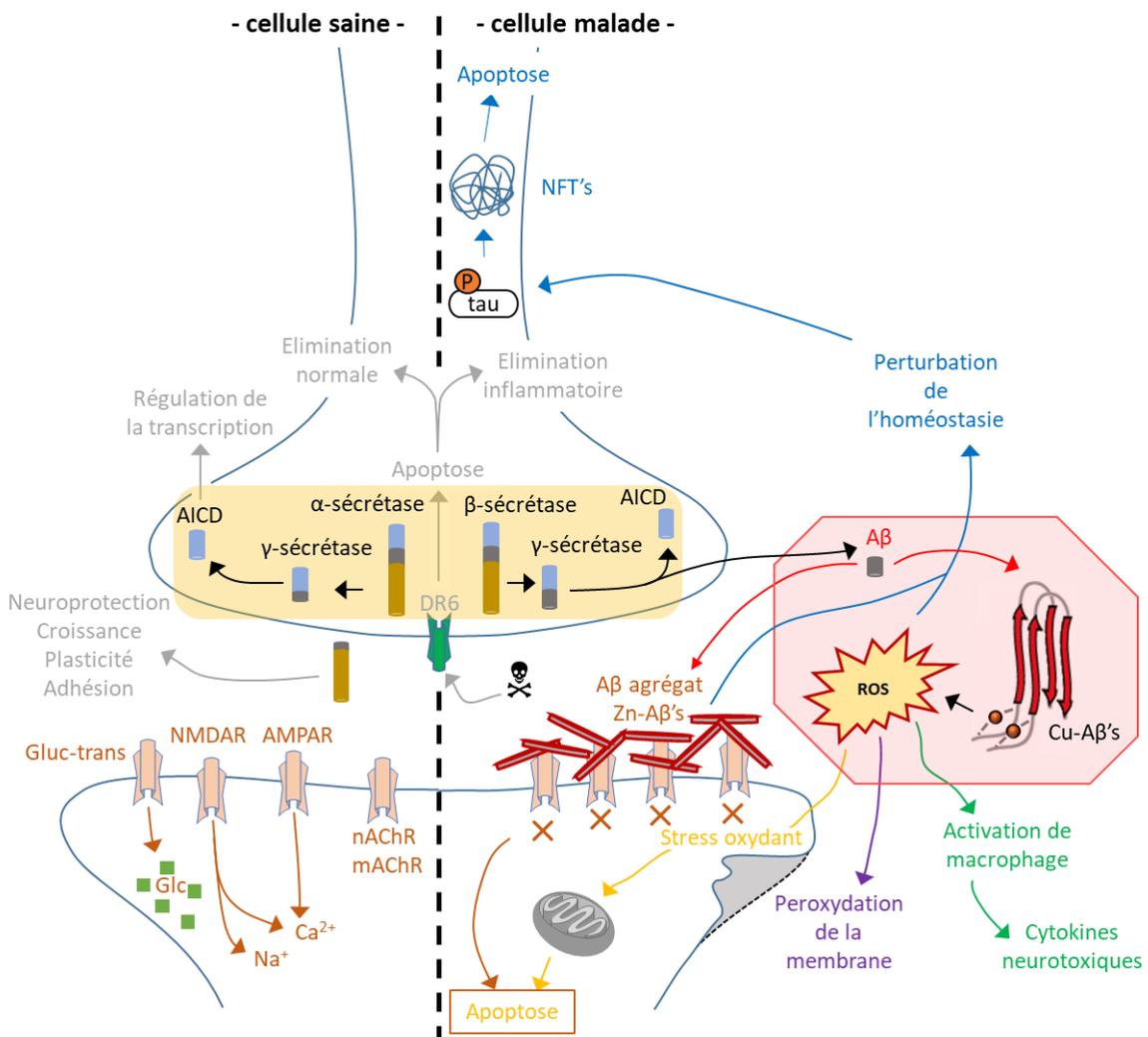


Figure 27. Diagramme de signalisation du développement de la maladie d'Alzheimer à partir des complexes métal-amyloïde (Zn-Aβ et Cu-Aβ).^[63]

Comme le montre ce diagramme, le développement de la maladie d'Alzheimer est une série de plusieurs réactions en chaîne et chaque voie de signalisation fait intervenir des protéines, des enzymes, des cofacteurs... Chacune de ces voies peut devenir une cible thérapeutique pour ralentir l'évolution des symptômes, empêcher le développement de la

maladie ou dans le meilleur des cas, la soigner en rétablissant le fonctionnement normal des cellules.

3. Les cibles thérapeutiques

Actuellement, la recherche contre la MA se développe autour de deux approches thérapeutiques : la première vise les éléments déclencheurs de la maladie afin de permettre de réduire, voire d'empêcher, l'apparition des pathologies secondaires qui en découlent ; la seconde consiste à traiter les symptômes de la maladie en essayant de ralentir le déclin cognitif des malades. Les seuls médicaments disponibles aujourd'hui s'appuient sur cette seconde approche qui permet uniquement d'améliorer la capacité à effectuer les activités de la vie quotidienne et de réduire les troubles du comportement pour repousser la dépendance des malades. Il est légitime que les deux approches aient été développées en parallèle car le traitement à utiliser dépend de l'avancement de la maladie. Un diagnostic précoce permettrait de se tourner vers la première approche tandis qu'un diagnostic trop tardif, comme à l'heure actuelle, oblige à traiter spécifiquement les symptômes car les lésions sont irréversibles.

3.1 Les inhibiteurs d'AcétylCholinEstérase (AChE)

Comme vu précédemment dans le diagramme de signalisation du développement de la maladie (cf. Figure 27, p46), les agrégats d'A β empêchent les neurotransmetteurs d'atteindre les récepteurs qui leur sont destinés. L'acétylcholine (ACh), neuromodulateur biosynthétisé à partir de la choline et d'Acétyl-CoA par la CholineAcétylTransférase (ChAT) (Figure 28), active les récepteurs nicotiques de l'ACh (nAChR) impliqués dans la transmission de l'influx nerveux, et les récepteurs muscariniques de l'ACh (mAChR) impliqués dans l'apprentissage et la mémoire. Dans le développement de la maladie, l'ACh ne parvient pas à activer ces récepteurs car elle est dégradée par l'acétylcholinestérase (AChE) avant de pouvoir les atteindre. Inhiber l'activité de l'enzyme AChE afin d'augmenter la concentration d'acétylcholine dans la fente synaptique permet de potentialiser l'activation des récepteurs et donc de ralentir le développement de la maladie.

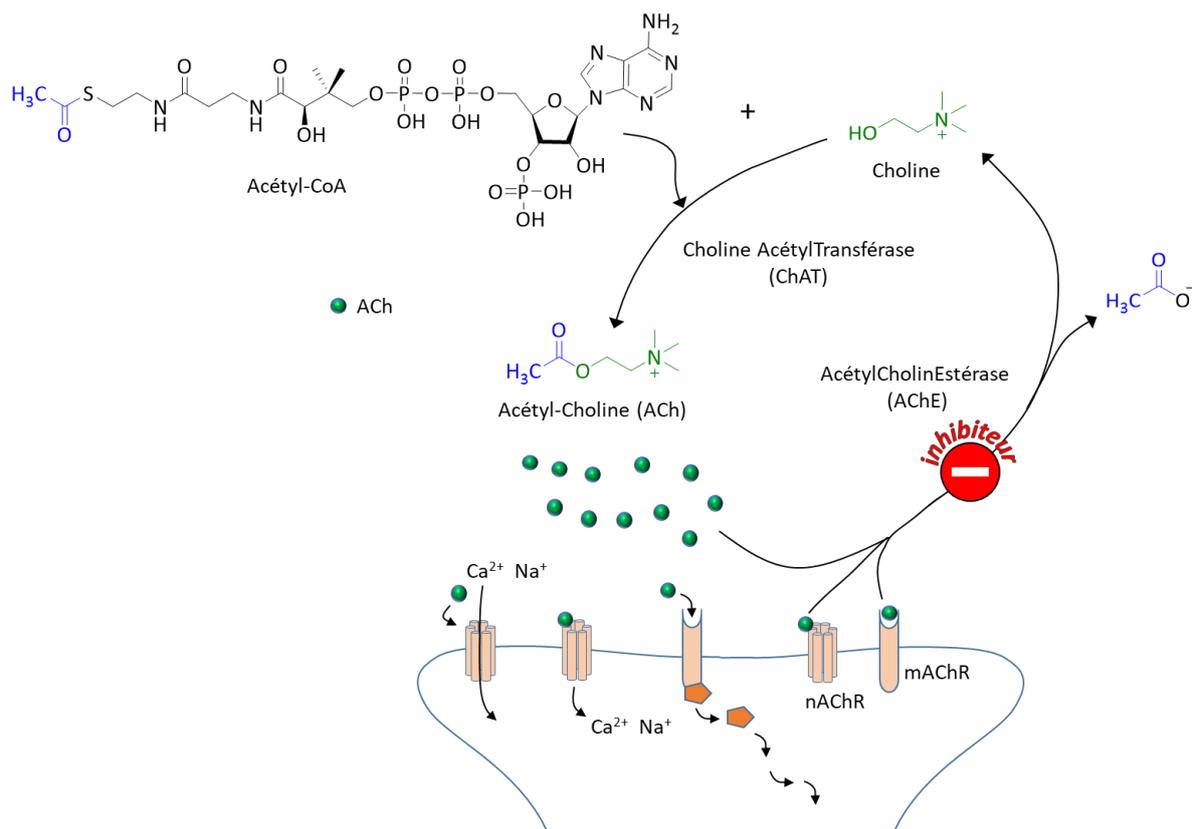


Figure 28. Système cholinergique dans une fente synaptique du système nerveux.

Il existe aujourd'hui plusieurs molécules faisant partie de la classe des inhibiteurs d'acétylcholinestérase ayant une autorisation de mise sur le marché délivrée par l'Agence Européenne du Médicament (EMA) et la « Food and Drug Administration » (FDA) (Figure 29). Il s'agit du donépézil (FDA 1996) (Aricept®), de la Galantamine (FDA 2001) (Reminyl®) et de la Rivastigmine (FDA 2000) (Exelon®).

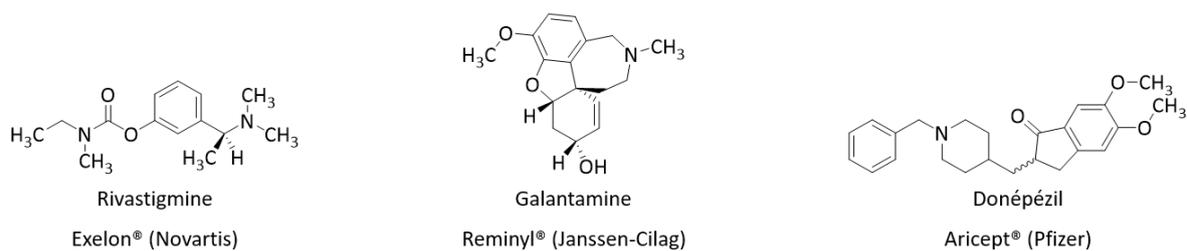


Figure 29. Structures des molécules anti-AChE autorisées sur le marché.

En parallèle du développement de molécules ciblant le système cholinergique, les chercheurs se sont intéressés à d'autres récepteurs dont le fonctionnement est perturbé chez les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer.

3.2 Les molécules à effet anti glutamate

Les récepteurs NMDA (NMDAR) et AMPA (AMPA), présents dans le diagramme de signalisation cellulaire discuté précédemment, sont des récepteurs ionotropes (canaux ioniques), qui s'ouvrent à la fixation d'un neurotransmetteur, le glutamate (Figure 30). Lorsqu'ils sont activés, ils induisent l'entrée d'ions Na^+ ou Ca^{2+} et la sortie d'ions K^+ et restent ouverts tant que l'antagoniste spécifique à chacun d'eux ne vient pas se fixer au récepteur. L'antagoniste naturel du récepteur NMDA est un ion magnésium Mg^{2+} dont le site de fixation (site allostérique) se trouve dans le canal et empêche la circulation des autres ions. Si ce canal reste ouvert, l'influx prolongé d'ions Ca^{2+} est responsable de l'excitotoxicité et de la perturbation homéostatique des cellules observées dans le développement de la maladie d'Alzheimer. Pour en faire un bon candidat médicament, l'antagoniste de synthèse ne doit pas avoir une trop forte affinité avec le site allostérique des récepteurs. Il doit provoquer la fermeture du canal le temps que la cellule retrouve son homéostasie et que la signalisation cellulaire puisse se faire avant de se retirer lorsque la concentration en glutamate augmente pour que les canaux s'ouvrent à nouveau. La mémantine est une molécule, non compétitrice au glutamate, avec une affinité légèrement plus élevée que l'ion Mg^{2+} pour le récepteur (Figure 30). C'est aujourd'hui la seule molécule possédant une autorisation de mise sur marché (FDA – 2003) comme inhibiteur spécifique des canaux NMDA pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

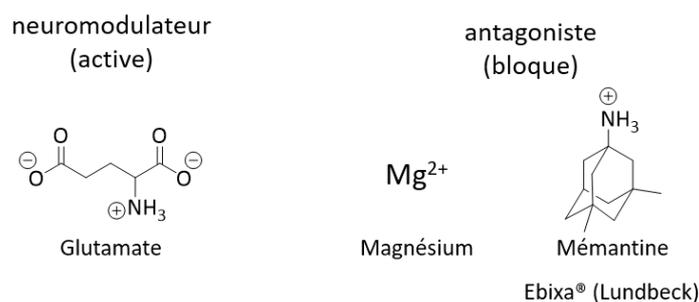


Figure 30. Structures des molécules capables de moduler l'activité des récepteurs NMDA ou AMPA.

Malheureusement, les quatre molécules disponibles sur le marché (points 3.1 et 3.2) ne ciblent qu'une des conséquences du développement de la maladie d'Alzheimer, à savoir le déficit en acétylcholine (point 3.1) ou l'hyperactivation des canaux glutamatergiques (point 3.2), mais en aucun cas les causes. Ils sont donc utilisés en traitement palliatif de la maladie,

i.e. traitement des troubles cognitifs légers. Selon certaines études, leur utilisation permet tout de même de ralentir le développement de la maladie mais absolument pas de la stopper ou de la guérir.^[64] En 2016, la Haute Autorité de Santé (HAS) a cependant remis en question leur réelle utilité, mettant en cause la difficulté à mesurer le gain, les effets secondaires graves et les interactions médicamenteuses. En conséquence, la HAS a considéré que *“ces médicaments n’avaient plus de place dans la stratégie thérapeutique du traitement symptomatique de la maladie d’Alzheimer”*. Ils sont toujours commercialisés mais ne font plus l’objet de remboursement par l’assurance maladie.^[65]

3.3 Le ciblage des protéines tau

La dégénérescence neurofibrillaire étant l’une des deux lésions principales observées chez les personnes souffrant de la maladie d’Alzheimer, elle fait l’objet de nombreuses études comme potentielle cible thérapeutique. L’évolution de la taupathie est directement liée au développement des symptômes physiques, par conséquent, l’approche ciblant la protéine tau s’est particulièrement développée. Plusieurs mécanismes thérapeutiques peuvent être mis en avant basés sur : la modification de l’agrégation des protéines, l’altération du processus de phosphorylation post-transcription, l’augmentation de l’élimination de la protéine ou encore la stabilisation des microtubules à l’aide de substituts. Les quelques exemples donnés se limiteront à l’approche thérapeutique visant à traiter la taupathie à l’aide d’inhibiteurs d’agrégation.

Wischnik et coll. ont rapporté un dérivé de la phénothiazine, le bleu de méthylène (**MB**), ayant une importante activité de désagrégation des NFT’s (Figure 31).^[66] Les études précliniques avec ce composé ont suggéré un très bon potentiel thérapeutique : une administration orale pendant 5 mois à des souris a permis de réduire significativement la quantité d’agrégats de protéines tau.^[67] Le composé empêche l’agrégation tau-tau mais n’influence pas les interactions tau-tubuline.^[66] Toutefois, les études cliniques ont révélé une efficacité limitée en raison d’une mauvaise biodisponibilité dans le cerveau. Les bons résultats précliniques ont cependant poussé les chercheurs à poursuivre leur étude avec des composés ayant de meilleures propriétés pharmacocinétiques. Pour cela, la forme réduite du **MB**, le **LMTM** (Figure 31) a été testée et a montré une meilleure absorption.^[68,69] La phase III des études cliniques s’est terminée en 2016 par des résultats controversés,^[70] une seconde étude

de phase III a dû être réalisée pour valider l'efficacité du composé^[71]; d'autres études cliniques sont actuellement en cours pour démontrer pleinement son efficacité.

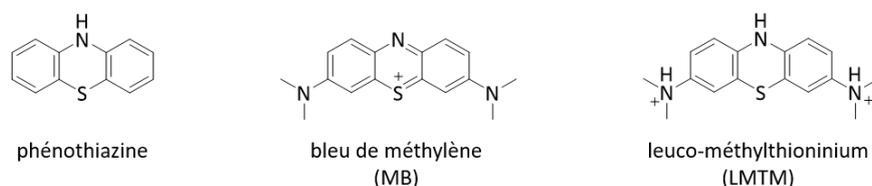


Figure 31. Structures de la phénothiazine et des inhibiteurs de l'agrégation des protéines tau.

De nombreux autres types de squelettes moléculaires ont été étudiés pour leurs propriétés inhibitrices de l'agrégation de la protéine tau. A titre d'exemple, Bulic et coll.^[72] ont synthétisé une série de dérivés de la rhodanine en faisant varier les groupements de part et d'autre du noyau (Figure 32). Des mesures d'inhibition de l'agrégation de la protéine tau ont été menées sur des cellules de souris, à partir d'un « composé hit », les modifications structurales ont permis de passer d'une inhibition de 20,4 % à 70,5 %. En plus de rapporter de nouvelles structures actives, ces expériences montrent l'importance de l'expérimentation sur les cellules afin de considérer simultanément l'activité, la cytotoxicité et la perméabilité membranaire.

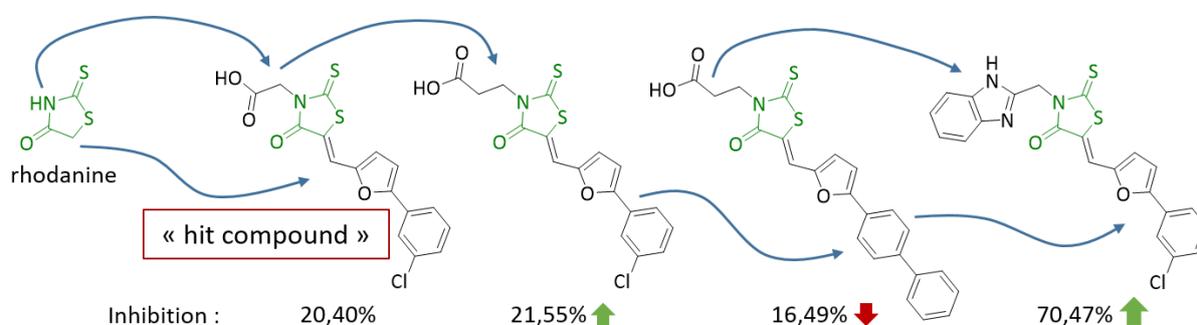


Figure 32. Dérivés de rhodanine testés pour l'inhibition de l'agrégation des protéines tau.

3.4 Le ciblage des peptides amyloïde- β

3.4.a Molécules inhibitrices de l'agrégation

Tout comme pour la protéine tau, l'inhibition de la fibrillogénèse de l'A β comme traitement de la maladie d'Alzheimer est l'une des stratégies les plus étudiées. Un grand nombre d'hétérocycles aromatiques présente des propriétés inhibitrices de l'agrégation des protéines de type amyloïde. Malheureusement, ces molécules sont souvent non spécifiques

d'une protéine en particulier, Masuda et coll. ont regroupé les données de plus 70 composés capables d'inhiber à la fois l'agrégation de l'A β , la protéine tau et l' α -synucléine (maladie de Parkinson).^[73] Parmi ces molécules non spécifiques figure le colorant rouge congo (**CR**) rapporté par Lorenzo et Yankner en 1994 pour être un excellent inhibiteur l'agrégation de l'A β (Figure 33).^[74] Cependant, ce composé présente des risques cancérigènes en administration orale et ne traverse pas la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE).^[75] D'autres dérivés du **CR** comme la **Chrysamine G** ou le **Chlorazol Black E** possèdent également d'excellentes propriétés inhibitrices d'agrégation (Figure 33).^[76,77] Néanmoins, l'activité de ces colorants est sujette à controverse à cause de potentielles interactions avec la **Thioflavin T (ThT)** utilisée dans les expériences pour mesurer la quantité d'agrégat d'A β .^[78]

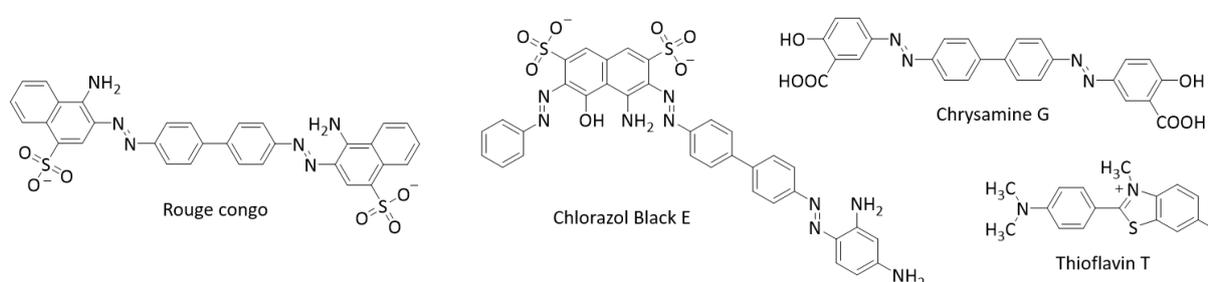


Figure 33. Structures du Rouge congo, du Chlorazol Black E, de la Chrysamine G et de la Thioflavin T.

Des dérivés polyphénoliques, tels que la **curcumine** ou le **NDGA**, ont été étudiés pour leur capacité à agir à différents stades du processus d'agrégation (Figure 34). Leurs effets sont différents, qu'ils soient utilisés sur de l'A β "fraîche", sur des fibrilles en cours de formation ou sur des fibrilles déjà formées. On parlera alors de capacité d'inhibition de formation, d'inhibition d'extension ou de déstabilisation.

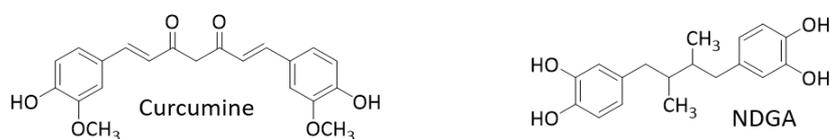


Figure 34. Structures de la Curcumine et du NDGA.

Ono et coll. ont réalisé des expériences aux trois stades du processus d'agrégation avec de l'A β ₄₀ et de l'A β ₄₂ (Figure 35).^[79,80] La quantité d'agrégats est suivie au cours du temps par la mesure de l'intensité de fluorescence de ThT dans les échantillons. Pour faire écho au problème des colorants cités précédemment, les auteurs ont préalablement vérifié qu'il n'y ait pas d'interaction entre les molécules testées et la ThT.

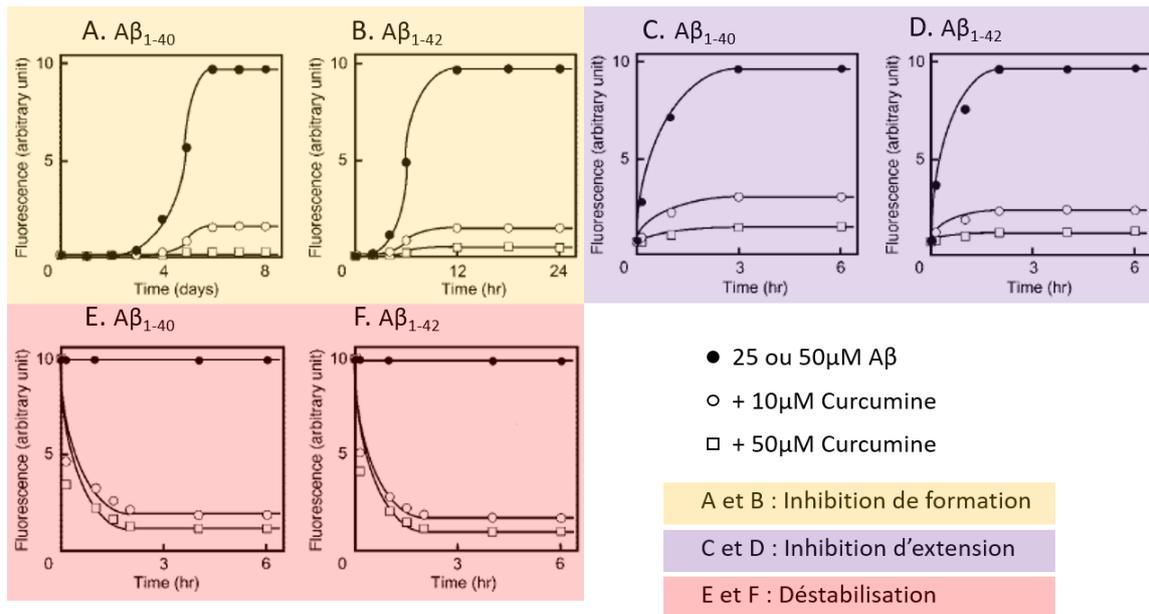


Figure 35. Activités de la curcumine sur le processus d'agrégation de l'Aβ₄₀ ou de l'Aβ₄₂ à différents stades.^[80]

Sur les expériences A et B, pour l'Aβ seule (ronds noirs), la fluorescence suit une cinétique d'agrégation classique : phase de latence, phase de croissance, phase de saturation (Cf. 2.2.b Processus d'agrégation de l'Aβ). La différence de vitesse d'agrégation entre l'Aβ₄₀ et l'Aβ₄₂ est particulièrement marquée avec une échelle en jours pour la première et en heures pour la seconde. Lorsque de la curcumine est ajoutée au début de l'incubation (ronds et carrés blancs), le plateau correspondant à la phase de saturation se situe bien plus bas, *i.e.* il y a moins de fibrilles dans l'échantillon.

Sur les expériences C et D, qui correspondent à l'inhibition de l'extension, l'expérience commence au cours de la phase de croissance. L'échantillon d'Aβ seule poursuit sa croissance jusqu'à un plateau identique aux expériences A et B. Lors de l'ajout de curcumine, la croissance est brutalement interrompue et le plateau de saturation se situe plus bas.

Sur les expériences E et F, les fibrilles sont déjà formées, la fluorescence est donc maximale au début de l'expérience. L'ajout de curcumine fait rapidement diminuer la valeur de départ, elle est donc capable de séparer les agrégats déjà formés.

Ces trois expériences montrent que la curcumine est efficace à tous les stades de l'agrégation. Cependant, un plateau plus proche de 0 est observé lors des expériences d'inhibition de

formation (A et B - Figure 35), ce qui laisse supposer que la curcumine cible mieux les espèces monomères et les petits oligomères.

La curcumine est probablement l'un des composés les plus étudiés vis-à-vis de la maladie d'Alzheimer et des études *in vivo* ont également été menées. Cette molécule est capable d'inhiber la formation d'oligomères, leur expansion et de déstabiliser les fibrilles déjà formées chez des souris Tg2576, modèle de la maladie d'Alzheimer.^[81] Malheureusement, la curcumine possède une faible solubilité et une mauvaise stabilité en milieu biologique ce qui a limité son utilisation chez l'homme.^[82-84]

3.4.b Ciblage des ions métalliques et de la protéine amyloïde- β

En raison des fortes concentrations de cuivre et de zinc présentes dans les plaques séniles chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, le ciblage de l'A β à l'aide d'inhibiteurs de l'agrégation n'est pas suffisant. En effet, inhiber l'agrégation n'empêche pas la formation d'espèces solubles toxiques pour les cellules telles que les complexes A β -Cu. Une seconde approche, qui vise à utiliser des molécules capables d'interagir avec les métaux, tout en offrant une inhibition de la formation d'agrégats, a donc été développée. Dickens et Franz ont mis en évidence l'excellente capacité thérapeutique de la 8-HydroxyQuinolone, **8-HQ** (Figure 36) : d'une part, elle inhibe l'agrégation de l'A β en présence de cuivre ou de zinc et d'autre part, elle réduit la quantité de H₂O₂ (ROS) produite par le complexe A β -Cu en présence d'ascorbate.^[85] Le mécanisme d'inhibition proposé est simple : les cations métalliques (Cu²⁺ et Zn²⁺), chélatés par la **8-HQ**, ne peuvent plus interagir avec l'A β .

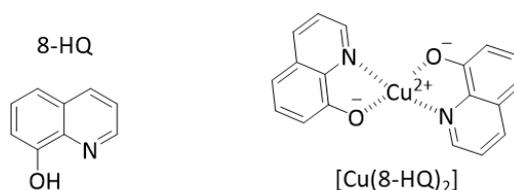


Figure 36. Structures de la 8-HydroxyQuinoléine (8-HQ) et de son complexe avec le cuivre Cu(8-HQ)₂.

Deux autres dérivés de la **8-HQ**, le clioquinol (**CQ**) et le **PBT2** ont fait l'objet d'études précliniques et cliniques (

Figure 37). Ils ont montré une amélioration des fonctions cognitives sur des souris modèles de la maladie d'Alzheimer et une diminution de la quantité d'A β intercellulaire.^[86] Leur

mécanisme d'action est décrit comme atténuant les complexes métal-protéine en agissant sur l'homéostasie des ions métalliques. Pour expliquer comment ces molécules sont capables d'extraire les métaux déjà complexés par l'Aβ, les constantes thermodynamiques des complexes de [Cu(CQ)₂] et [Zn(CQ)₂] ont été mesurées. Ces constantes reflètent l'affinité d'un ligand pour un métal donné. Les valeurs obtenues $K(\text{Cu}(\text{CQ})_2) = 10^{23.4} \text{ M}^{-1}$ et $K(\text{Zn}(\text{CQ})_2) = 10^{16.1} \text{ M}^{-1}$ sont très largement supérieures à celles des complexes Cu-Aβ ($K = 10^{10} \text{ M}^{-1}$) et Zn-Aβ ($K = 10^6 \text{ M}^{-1}$). Cette importante différence en faveur du CQ explique qu'il soit capable d'extraire les métaux des plaques séniles grâce à la formation de complexes thermodynamiquement plus stables.^[87-90]

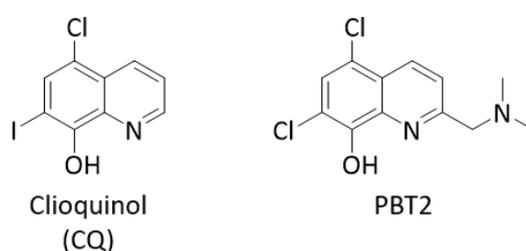


Figure 37. Structures du Clioquinol (CQ) et du PBT2, modulateurs de complexe métallo-protéique.

La principale différence entre le CQ et le PBT2 est leur biodistribution : le PBT2 est 20 fois plus disponible dans le cerveau des souris que le CQ. Finalement, le CQ a été écarté des tests cliniques en raison d'une neurotoxicité lors de traitements supérieurs à 1 mois. De plus, la synthèse de ce composé à grande échelle peut conduire à la formation du sous-produit di-iodé qui contaminerait la production.^[91] En 2014, les résultats d'un essai clinique en double aveugle ont conclu que le PBT2 n'apporte pas de changement significatif chez les patients souffrants de la maladie d'Alzheimer comparé au placebo.^[92]

Cette stratégie, qui cible à la fois la désagrégation de l'Aβ et les ions métalliques reste malgré tout particulièrement prometteuse. Dès 1997, quelques équipes de recherche se sont intéressées à l'utilisation de chélates azotés cycliques ou linéaires. Ces molécules ont l'avantage de posséder d'excellentes propriétés de complexation des métaux, tels que le cuivre et le zinc, mais également d'être extrêmement modulables. Le potentiel thérapeutique de ces ligands sera détaillé dans la suite de ce chapitre (Cf. 6. L'apport des chélates azotés dans les stratégies thérapeutiques).

4. Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer

Actuellement, le diagnostic *ante-mortem* de la maladie d'Alzheimer reste peu précis, les patients n'ont pas accès aux techniques les plus efficaces car trop coûteuses. Il faut tout d'abord réaliser des tests neuropsychologiques visant à s'assurer de la présence de troubles cognitifs. Ce n'est qu'une fois ce bilan établi qu'il est possible d'accéder à des analyses biologiques pour appuyer les hypothèses des neurologues. Ces examens sont principalement la mesure du taux des protéines A β dans le liquide céphalo-rachidien, l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) ainsi que l'imagerie par Tomographie par Emission de Positions (TEP).

- La mesure des concentrations protéiques vise à comparer la quantité de protéine chez l'individu testé par rapport à une moyenne mesurée sur des patients sains. Ce type de test offre un diagnostic peu précis car ces concentrations varient d'un individu à l'autre, même en l'absence de pathologie. Pour améliorer la précision, ce sont généralement les rapports entre plusieurs protéines qui sont mesurés, comme le taux A β_{42} /A β_{40} ou tau/ptau (ptau = tau anormale), qui sont modifiés lorsqu'une personne développe la maladie.^[93] Le développement de techniques de mesure de plus en plus précises permet d'améliorer la sensibilité de ces tests dont l'atout principal est le coût relativement faible.

- Les analyses IRM visent, quant à elles, à mettre en évidence des modifications structurelles telle que l'atrophie corticale généralement associée à la maladie d'Alzheimer.^[94] Bien que l'IRM soit une technique d'imagerie avec une très bonne résolution, le diagnostic de la MA par cette méthode est peu précis au stade précoce de la maladie. En effet, les premiers stades révèlent surtout des modifications métaboliques (A β et tau) plutôt que structurelles.^[95] Lorsque qu'une atrophie corticale est constatée, la maladie est déjà largement développée par le patient. Dans le but d'améliorer la sensibilité du diagnostic, les recherches s'orientent vers l'automatisation de l'interprétation des images à l'aide d'algorithmes afin de standardiser les résultats obtenus.^[96] Par ailleurs, le développement de nouveaux agents de contraste ciblant spécifiquement les lésions tau ou amyloïde est actuellement à l'étude, ces agents se basent sur l'emploi de ligands azotés et seront présentés dans la suite de ce chapitre.

- L'imagerie TEP est, à priori, la technique la plus sensible pour un diagnostic précis de la maladie. Elle permet d'analyser l'activité cellulaire ou de visualiser quantitativement les

lésions tout en les localisant. Il est déjà possible de cibler à l'aide de radiotraceurs le métabolisme du glucose, les systèmes cholinergique, dopaminergique ou encore serotonergique pour s'assurer d'un fonctionnement normal des cellules neuronales.^[97] Cependant ces cibles ne sont pas propres à la maladie d'Alzheimer et de nouveaux radiotraceurs ont été développés autour des deux lésions admises dans le développement de la maladie, *i.e.* les enchevêtrements de protéines tau (NFT's) ainsi que les plaques de peptides A β .^[97,98]

4.1 Imagerie TEP de la taupathie

Il n'existe actuellement aucune molécule autorisée sur le marché pour l'imagerie des NFT's bien que certaines aient montré leur potentiel en imagerie sur des échantillons de cerveau *post mortem* puis *in vivo* (Figure 38).^[99–101]

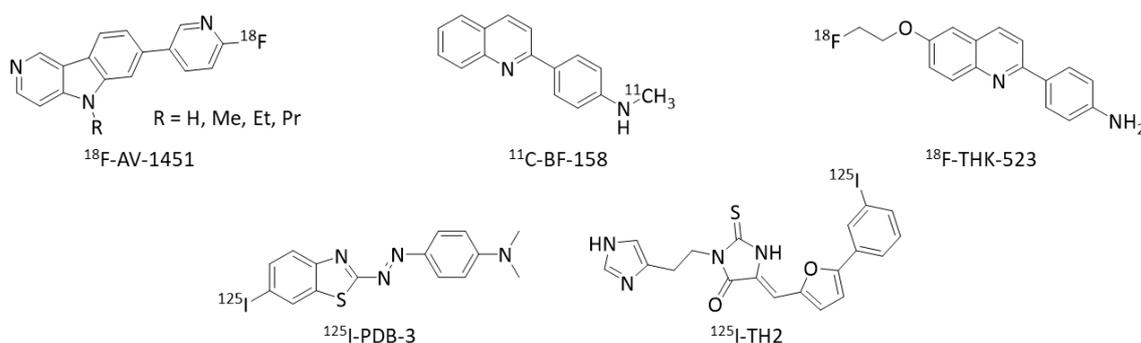


Figure 38. Structures de radiotraceurs ciblant les agrégats de protéines tau.

Une étude *in vivo* chez l'homme a été menée avec le **¹⁸F-AV-1451** sur des sujets présentant une démence due à une mutation sur le gène codant la protéine tau qui provoque la formation de NFT's similaires à ceux observés dans la maladie d'Alzheimer, sans le développement de pathologie liée à la protéine A β .^[101] Les images enregistrées (Figure 39) sur les sujets malades (A, B et C) montrent un niveau élevé de NFT's, contrairement au sujet sain (D). La quantification de la rétention de **¹⁸F-AV-1451** et la comparaison de l'expansion des lésions chez les trois patients permet de différencier les stades de la maladie. Par exemple, sur les images C l'expansion des lésions est plus importante vers les lobes frontaux (flèche blanche - Figure 39) et les ganglions de la base (flèche rose - Figure 39). Ces images correspondent au sujet présentant le stade le plus avancé de la maladie (A = 10 ans ; B = 4 ans ; C = 26 ans).

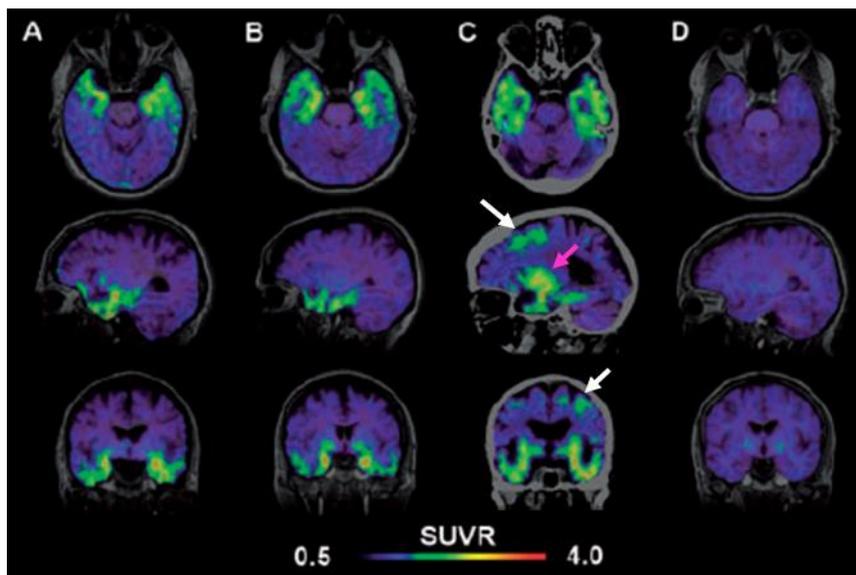


Figure 39. Imageries TEP de cerveaux humains réalisées à l'aide de **18F-AV-1451**.

4.2 Imagerie TEP des lésions amyloïdes

L'imagerie TEP des lésions amyloïdogéniques est actuellement la technique la plus développée pour le diagnostic de la MA. Plusieurs molécules possèdent déjà des autorisations de mise sur le marché de l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) et de la « Food and Drug Administration » (FDA). L'une des premières familles de radiotraceurs des plaques A β a été préparée en 2002 par l'équipe de W. E. Klunk à l'université de Pittsburgh.^[102] Il s'agit de dérivés de benzothiazole dont la structure est très proche de la thioflavine T (ThT). En 2003, les auteurs proposent la synthèse d'un dérivé, le **6-OH-BTA-1**, qui devient rapidement la référence pour l'imagerie des agrégats d'A β et qui sera renommé **PIB** pour « Pittsburgh compound B » (Figure 40).^[103,104] Les premiers essais réalisés avec un échantillon radiomarqué au carbone 11 avant injection ont permis d'imager avec une importante sensibilité les agrégats d'A β . Malheureusement, le carbone 11 possède un temps de demi-vie radioactive de seulement 20 min, incompatible avec une utilisation en routine dans un centre hospitalier. Un dérivé radiomarqué au fluor 18 ($t_{1/2} = 110$ min), le **¹⁸F-PIB**, a été synthétisé pour pallier ce problème de faible demi-vie. Cette première génération de composés a ouvert la porte à de nouvelles recherches pour l'industrie pharmaceutique. Une collaboration entre le laboratoire universitaire « Karolinska Institutet » et la société AstraZeneca a abouti à un essai clinique de phase III du **NAV4694**, toujours en cours.^[105,106] Le squelette de ce composé est similaire à celui du **PIB** : les modifications portent sur la nature des hétéro-éléments au sein des cycles

aromatiques : le cycle benzothiazole a été remplacé par un benzofurane et le cycle phénylamine par une pyridine-amine. Ce composé de 2^{de} génération présente des propriétés biologiques très similaires au ¹⁸F-PiB, néanmoins, il apporte une légère diminution de liaison à la matière blanche permettant d'augmenter le contraste des images comparativement aux autres radiotraceurs fluorés.^[107]

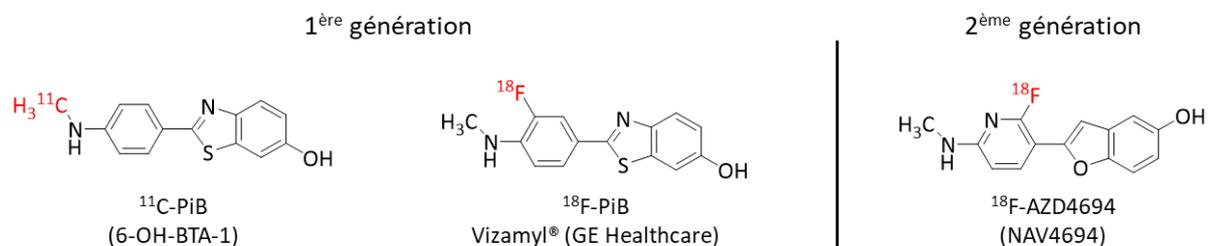


Figure 40. Structures de radiotraceurs de 1^{ère} et 2^{ème} génération ciblant les agrégats d'Aβ.

Dans le même temps, Kung et coll. ont présenté en 2001 une famille de composés dérivés de stilbènes dont l'affinité avec les agrégats d'Aβ est élevée.^[108] Parmi ces composés, le **SB-13** (Figure 41) radiomarqué au carbone 11 a montré de très bons résultats pour le ciblage des plaques d'Aβ sur des échantillons de tissus *post-mortem*.^[109] Il a ensuite été modifié en radiotraceur fluoré (¹⁸F) avec une chaîne éthylène glycol pour une meilleure lipophilie (¹⁸F-AV-1 - Figure 41).^[110] Des études de structure/réactivité ont également conduit au développement d'un analogue pyridine, le ¹⁸F-AV-45 (Figure 41), qui présente une affinité légèrement plus importante pour les agrégats d'Aβ ; de plus, sa clairance plus rapide diminue le bruit de fond sur les images.^[111,112]

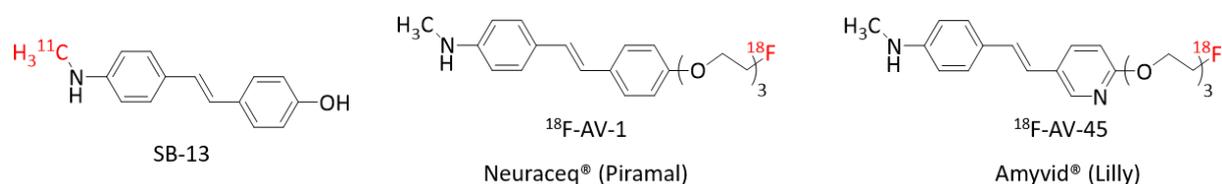


Figure 41. Structures de radiotraceurs ciblant les agrégats d'Aβ.

Les exemples présentés montrent que des molécules efficaces existent pour le diagnostic par imagerie TEP de la maladie d'Alzheimer. Cependant, la principale limitation reste le prix élevé de ces analyses en milieu clinique, environ 1200 € pour un examen (référence donnée pour le Royaume-Uni - 2019).^[113] De plus, tous les hôpitaux ne sont pas équipés de scanneur pour ce type d'imagerie (121 appareils en 2016 en France). L'équipement

croissant des établissements ainsi que les progrès réalisés dans la production de radioéléments devraient néanmoins permettre un développement important de cette technique d'imagerie dans un avenir proche. L'accès à des métaux radioactifs tel que l'isotope 64 du cuivre (^{64}Cu) avec un temps de demi-vie est de 12,7 heures, permet le développement de radiotraceurs basés sur l'emploi de ligands azotés qui seront présentés dans la suite de ce chapitre.

5. L'apport des chélates azotés en imagerie pour le diagnostic

Le développement de nouveaux agents d'imagerie IRM et TEP spécifiques à la maladie d'Alzheimer concentre aujourd'hui l'attention de nombreux laboratoires à travers le monde. Les complexes métalliques sont en première ligne grâce à la diversité des propriétés physicochimiques qu'ils proposent pour l'imagerie médicale (paramagnétisme, radioactivité, fluorescence). Plusieurs complexes métalliques sont déjà utilisés *in vivo*, les chercheurs se sont donc intéressés à ces composés pour en développer des nouveaux spécifiques à la maladie d'Alzheimer. Quelques exemples de complexes métalliques développés pour l'imagerie IRM et la TEP seront développés dans cette partie ; l'idée est de présenter brièvement les stratégies mise en œuvre pour développer de nouvelles molécules multifonctionnelles spécifiques à la MA à partir d'outils déjà reconnus.

5.1 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Il existe, aujourd'hui, plusieurs agents de contraste IRM à base de gadolinium, pour comprendre la conception d'un tel agent, il est important de rappeler brièvement le principe d'activité ainsi que les exigences physicochimiques à respecter. Le contraste observé sur les images lors d'un examen IRM est dû au temps de relaxation des protons des molécules d'eau dans les différents tissus. L'utilisation d'un agent de contraste à base de gadolinium permet d'augmenter ce contraste en modifiant le temps de relaxation des protons pour la ou les molécules d'eau qui se trouvent dans la sphère de coordination du gadolinium. Cependant le gadolinium libre, très toxique, doit être utilisé sous forme de complexe pour empêcher son accumulation dans l'organisme. Il est donc nécessaire de disposer d'un ligand avec huit (ou sept) atomes coordinants qui permet à une (ou deux) molécule d'eau d'entrer dans la sphère de coordination du centre métallique qui doit être enneacoordiné (neuf atomes). Le pouvoir

de ces agents de contraste se mesure, entre autre, par la valeur de la relaxivité des atomes d'hydrogène de la molécule d'eau coordonnée au métal (r_1), qui doit être la plus élevée possible. Les complexes $Gd(DTPA)$ (Magnevist®), $Gd(DOTA)$ (Dotarem®), $Gd(DO3A)$ ou encore $Gd(PCTA)$ (Figure 42) sont déjà décrits comme agents de contraste dans la littérature.^[114]

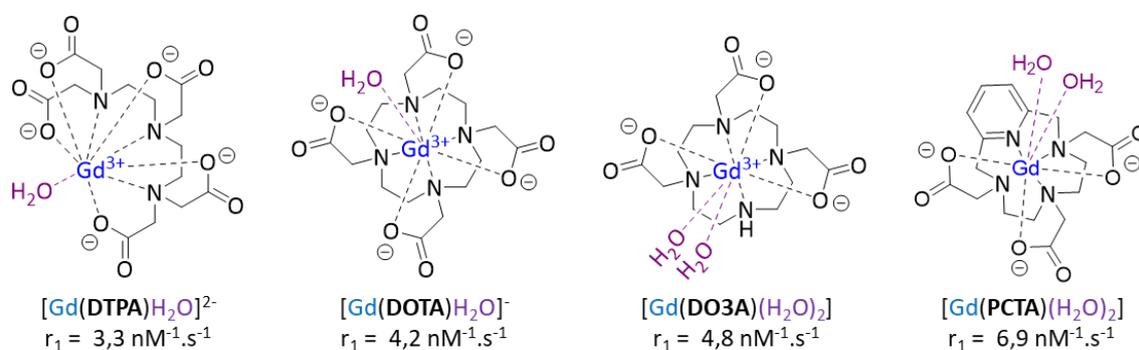


Figure 42. Structures de complexes de gadolinium décrits comme agents de contraste IRM.

C'est à partir de ces composés que plusieurs équipes de recherche ont décidé de synthétiser des agents de contraste spécifiques à la MA en les vectorisant à l'aide de petites molécules pour le ciblage des plaques d'A β . En 2016, Salerno et Porqueras ont publié une revue sur les différents agents de contraste ayant été développés par cette approche combinatoire (agent IRM + vecteur) ainsi que les problèmes rencontrés dans la mise au point d'une molécule efficace.^[115]

- En 2013, Vithanarachchi et Allen ont synthétisé un dérivé de **DTPA** fonctionnalisé par une curcumine pour obtenir le complexe $[Gd(DTPA\text{-}Curcumine)H_2O]^{2-}$ (Figure 43).^[116] Le ligand utilisé est un dérivé de DTPA porteur d'un groupement isothiocyanatobenzène sur son squelette carboné pour former un lien thiourée lors du couplage avec la molécule vectrice.

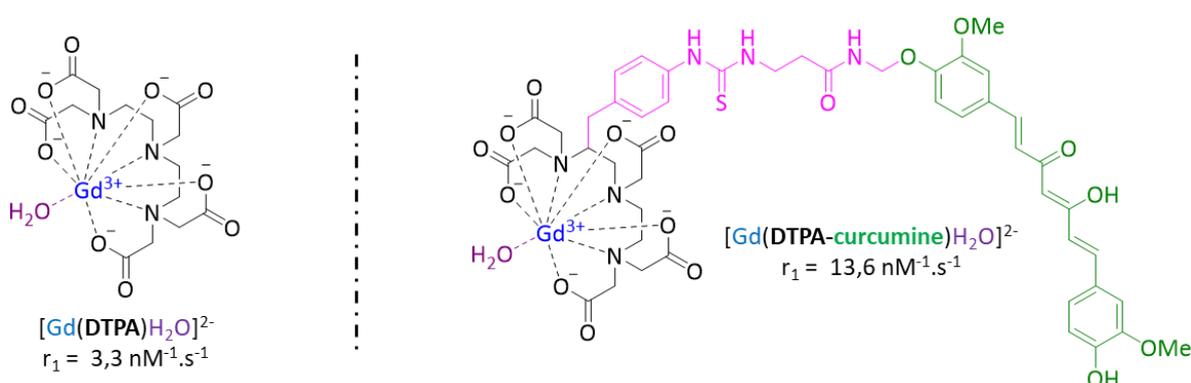


Figure 43. Structure du $[Gd(DTPA\text{-}curcumine)H_2O]^{2-}$. bleu = gadolinium(III), noir = chélate, rose = espaceur, vert = molécule vectrice pour le ciblage de l'A β , violet = molécule d'eau.

La valeur de r_1 du $[\text{Gd}(\text{DTPA-curcumine})\text{H}_2\text{O}]^{2-}$ est quatre fois supérieure à celle du $[\text{Gd}(\text{DTPA})\text{H}_2\text{O}]^{2-}$ en raison de la taille de la molécule qui a un effet important sur la relaxivité des atomes d'hydrogène de la molécule d'eau coordonnée. En effet, une molécule volumineuse tourne plus lentement sur elle-même, ce qui se traduit par une augmentation de la relaxivité r_1 .

- En 2013, Tóth et coll. ont présenté un ligand dérivé de **DO3A** fonctionnalisé par un **PIB** et utilisé pour différents modes d'imagerie dont l'IRM avec le complexe de gadolinium $[\text{Gd}(\text{DO3A-PIB})\text{H}_2\text{O}]$ (Figure 44).^[117,118] Le dérivé de **PIB** est introduit sur le **DO3A** par l'intermédiaire d'un groupement acétamide qui apporte un atome coordonnant supplémentaire et qui par voie de conséquence limite le nombre de molécules d'eau coordinantes à une seule.

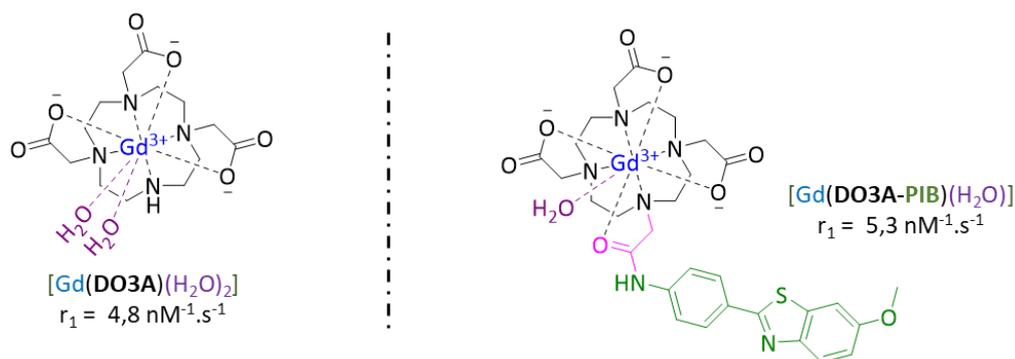


Figure 44. Structure du $[\text{Gd}(\text{DO3A-PIB})\text{H}_2\text{O}]$. bleu = gadolinium(III), noir = chélate, rose = espaceur, vert = molécule vectrice pour le ciblage de l'A β , violet = molécule d'eau.

- En 2014, Bort et coll. ont rapporté la préparation de plusieurs dérivés de **PCTA** vectorisés par des analogues du **PIB** en faisant varier les espaceurs entre le macrocycle et le vecteur. Le $[\text{Gd}(\text{PCTA-Lys-BOX})\text{H}_2\text{O}]^+$ est le complexe présentant la meilleure relaxivité r_1 (Figure 45).^[119] La molécule vectrice (**BOX**) est introduite sur le ligand par l'intermédiaire d'un espaceur composé d'une lysine et rattaché à la pyridine par une fonction éther.

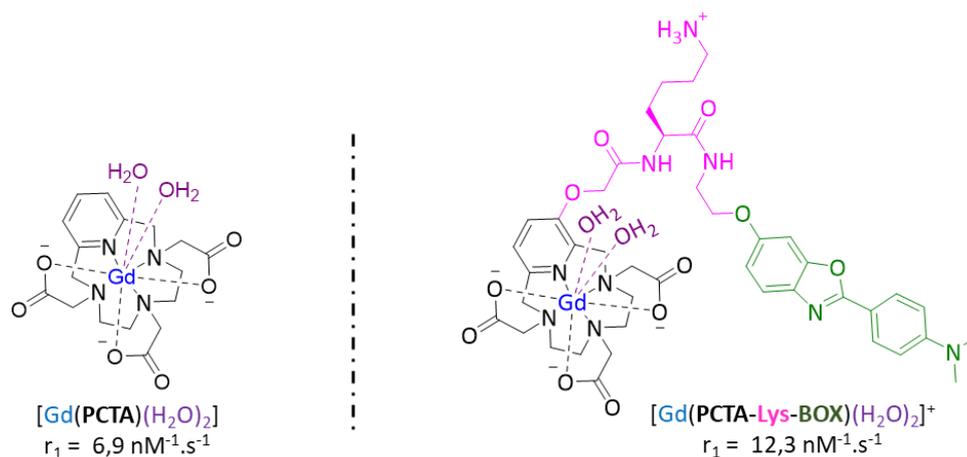


Figure 45. Structure du $[Gd(PCTA-Lys-BOX)H_2O]^+$. La charge du gadolinium (3+) a été omise pour plus de clarté. bleu = gadolinium(III), noir = chélate, rose = espaceur, vert = molécule vectrice pour le ciblage de l'A β , violet = molécule d'eau.

Une nouvelle fois, la valeur de la relaxivité r_1 est augmentée en raison de la modification de la taille de la molécule.

- En 2016 Geraldès et coll. ont décrit le complexe $[Gd(DOTA-PIB)H_2O]^-$, un dérivé de **DOTA** vectorisé, une nouvelle fois, par un **PIB**.^[120] Le **PIB** est introduit sur l'un des groupements acétate du ligand, en position α de l'acide carboxylique, par l'intermédiaire d'un espaceur propionamide.

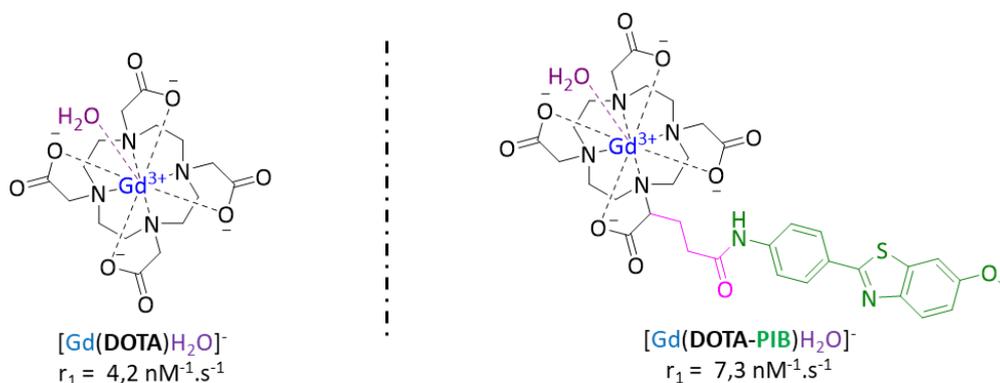


Figure 46. Structure du $[Gd(DOTA-PIB)H_2O]^-$; bleu = gadolinium(III), noir = chélate, rose = espaceur, vert = molécule vectrice pour le ciblage de l'A β , violet = molécule d'eau.

Les quatre agents de contraste présentés possèdent des relaxivités r_1 équivalentes ou supérieures aux complexes de gadolinium initiaux. Toutes les études réalisées montrent qu'ils interagissent avec les agrégats d'A β et que plus l'espaceur (en rose sur les figures 31 à 34), entre le macrocycle et la molécule vectrice est grand, plus l'interaction est forte. Cependant,

aucun des complexes présentés ne traverse suffisamment la BHE sur un modèle *in vivo* pour envisager une application médicale. Les deux explications les plus probables évoquées par les équipes de recherche sont, la présence de charges partielles négatives qui rendent impossible le passage de la BHE ainsi qu'une masse moléculaire des composés trop importante ($> 500 \text{ g.mol}^{-1}$, limite pour une bonne absorption selon les règles de Lipinski). Dans le futur, la conception des ligands pour une application en IRM dédiée à la maladie d'Alzheimer devrait s'orienter vers des ligands et complexes neutres ou positifs et relativement lipophiles.

5.2 Imagerie par Tomographie par Emission de Positons (TEP)

L'imagerie TEP est une technique déjà utilisée pour le diagnostic et l'étude de la maladie d'Alzheimer grâce aux petites molécules organiques radiomarquées avec du carbone 11 ($t_{1/2} = 20,4 \text{ min}$) ou du fluor 18 ($t_{1/2} = 109,8 \text{ min}$) (cf. 4. Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer). Cependant, ces éléments nécessitent plusieurs étapes de synthèse et purification pour être intégrés à l'agent d'imagerie (par une liaison covalente) avant son injection et doivent ensuite être rapidement utilisés en raison de leur faible temps de demi-vie. Plus récemment, les complexes métalliques à base de cuivre 64 ($t_{1/2} = 12,7 \text{ h}$) se sont révélés comme la parfaite alternative aux petites molécules organiques. En effet, le radiomarquage s'effectue rapidement et en une seule étape : complexation du cuivre radioactif par un ligand. Les complexes ainsi formés peuvent être utilisés plus longtemps, voire être transportés dans des zones reculées. Il n'existe actuellement aucun agent d'imagerie à base de cuivre 64 sur le marché mais plusieurs essais cliniques sont actuellement en cours pour le diagnostic des cancers,^[121,122] il est donc légitime que cette nouvelle stratégie s'étende à la synthèse de chélates spécifiques à d'autres maladies, Alzheimer y compris.

En 2017, l'équipe de L. M. Mirica a présenté les voies de synthèse^[123] puis les études biologiques^[124] de cinq complexes macrocycliques de cuivre 64 pour réaliser de l'imagerie TEP des agrégats d'A β (Figure 47). Le premier radiotracteur (L_1) est basé sur un macrocycle **TACN** (TriAzaCycloNonane) et dans les quatre autres (L_2 , L_3 , L_4 , L_5) l'agent chélatant est un diazapyridinophane ; tous sont fonctionnalisés par un ou deux groupements dérivés de benzothiazole (**PIB**), déjà cité pour leur affinité avec les agrégats d'A β (Cf. 4.2 Imagerie TEP des lésions amyloïdes, p.58).

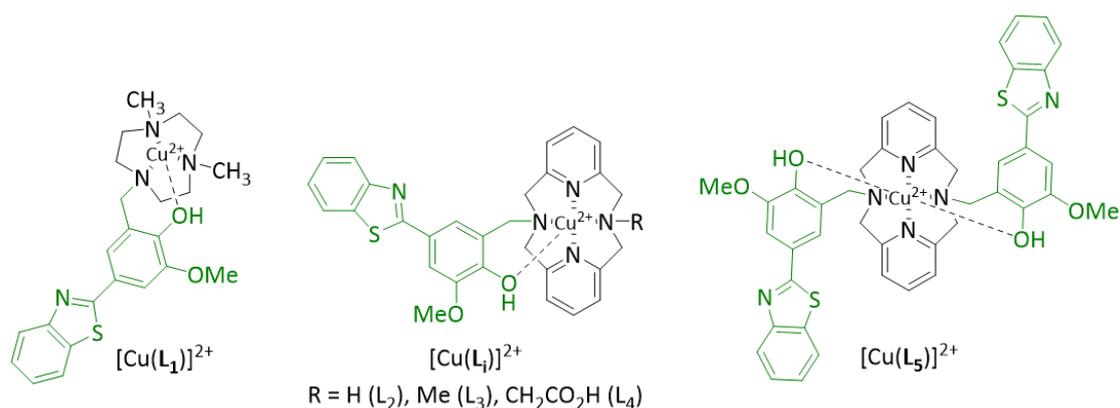


Figure 47. Structures des agents d'imagerie TEP fonctionnalisés par un/des groupe benzothiazole.

Tous les complexes de cuivre formés sont très stables, ciblent spécifiquement les plaques d'Aβ sur des sections de cerveau et, contrairement aux complexes de gadolinium, L₂, L₄ et L₅ ont montré une bonne pénétration de la BHE. A noter que les complexes L₂ et L₅ ne présentent pas de charge négative partielle (L₄ en présente une seule) toutefois, leur masse molaire est supérieure à 500 g.mol⁻¹. Les très bons résultats obtenus par ces trois composés en font d'excellents candidats pour de l'optimisation structurale ; le développement d'une seconde génération de radiotraceurs, avec des espaceurs et diverses molécules vectrices, est actuellement en cours.

6. L'apport des chélates azotés dans les stratégies thérapeutiques

Afin de développer un agent thérapeutique à partir de ligands azamacrocycliques ciblant les espèces β-amyloïdes, les recherches se sont orientées vers deux stratégies. La première consiste à utiliser des ligands capables d'interagir avec l'Aβ et de piéger les métaux, cuivre et/ou zinc présents, pour réduire la production d'espèces toxiques ; la seconde consiste à utiliser des complexes métalliques pour éliminer les espèces toxiques. Cette deuxième stratégie peut s'appuyer sur une large gamme de métaux capables de catalyser des réactions d'hydrolyse, d'oxydation ou de réduction de l'Aβ mais également sur des complexes capables de s'intercaler dans l'Aβ modifiant ainsi sa structure pour la rendre non toxique. Quelle que soit la méthode utilisée, ligand libre ou complexe métallique, elles reposent toutes deux sur le choix et la conception de ligands possédant les propriétés adéquates.

6.1 Le ciblage du cuivre et du zinc endogènes

Le piégeage du cuivre et du zinc endogènes à l'aide de chélates a émergé comme stratégie thérapeutique dès la fin des années 1990 avec les études réalisées par l'équipe de A. I. Bush.^[46,125–127] Plusieurs ligands se sont révélés capables d'influencer l'agrégation de l'A β -M (M = Cu, Zn) en complexant les ions métalliques. Parmi ces molécules, les ligands azotés linéaires EGTA^[126], EDTA^[46] et TPEN^[126] ont permis lors d'expériences *in vitro* d'extraire le cuivre de l'A β et d'inverser le processus d'agrégation (Figure 48).

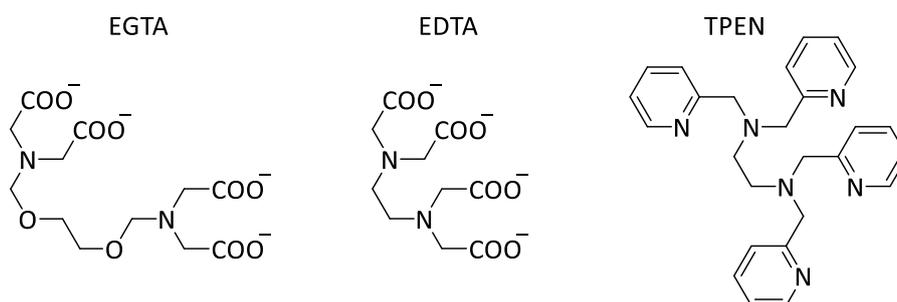
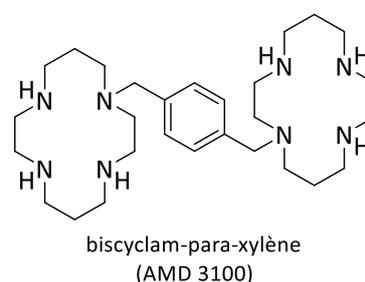


Figure 48. Structures de ligands azotés linéaires capables de moduler l'agrégation de l'A β -Cu.

Le premier macrocycle azoté à avoir été étudié comme potentiel traitement de la maladie d'Alzheimer est le biscyclam-para-xylène (structure ci-contre, successivement nommé JLK 169 et **AMD 3100**). Kraus et coll.^[128] ont montré en 2006 la capacité de ce bis-macrocycle à transporter le cuivre du milieu extracellulaire du cortex cérébral vers



l'intérieur des cellules chez le rat. Ce composé agit donc comme le Clioquinol (**CQ**) et le **PBT2**, il permet d'influencer l'homéostasie du cuivre, facteur-clé dans le développement de la maladie d'Alzheimer. Cependant, aucune étude clinique n'a été menée avec ce composé vis-à-vis des maladies neurodégénératives, probablement en raison de son activité sur un grand nombre de mécanismes biologiques (80 essais cliniques achevés, ClinicalTrials.gov).

En 2008, l'équipe de Li, en collaboration avec Bush, a rapporté la fonctionnalisation d'un cyclen par la séquence peptidique KLVFF (**cyc-KLVFF** - Figure 49)^[129] ; pour rappel il s'agit de la séquence d'auto-reconnaissance du peptide A β (cf. 2.2.b Processus d'agrégation de l'A β , p.36). Ce dérivé de cyclen permet d'extraire le cuivre(II) complexé par l'A β ₄₂ réduisant ainsi la production de ROS par l'A β ₄₂-Cu (Figure 49). Les expériences de désagrégation ont été suivies

par mesure de la fluorescence de la tyrosine de l'A β , celle-ci diminue très fortement lorsque le cuivre est complexé par l'A β .

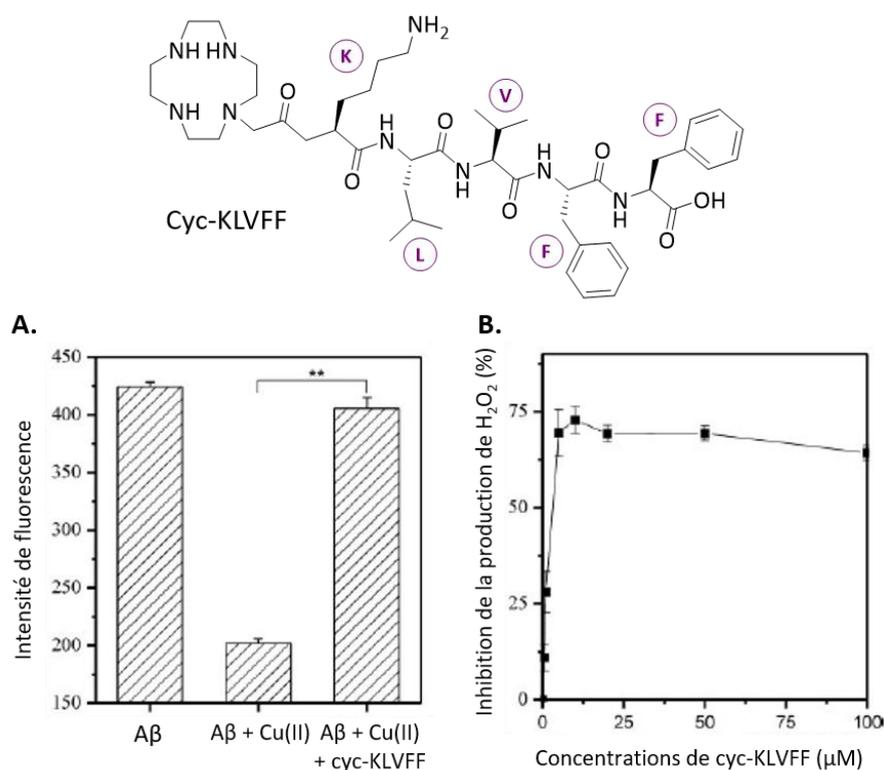


Figure 49. Activité du **Cyc-KLVFF** sur : (A) l'agrégation de l'A β_{42} -Cu (A β_{42} : Cu(II) : **cyc-KLVFF** = 10 : 16 : 40 μ M) (B) la production de H₂O₂ (ROS) par le complexe A β_{42} -Cu.^[129]

L'ajout de **cyc-KLVFF** permet un retour à la valeur de l'intensité de fluorescence en l'absence de cuivre. L'inhibition de la production de ROS par l'A β_{42} -Cu (10 μ M : 2 μ M) a également été étudiée en fonction de la concentration en **cyc-KLVFF** : le ligand permet de réduire de 70 % la production de ROS dès 0,5 équivalent (B. - Figure 49). En plus de l'activité du ligand vis-à-vis de l'A β -Cu, les auteurs ont également montré que le complexe [Cu(**cyc-KLVFF**)]²⁺ avait lui aussi une activité sur l'A β , celle-ci sera présentée dans la partie dédiée à l'activité des complexes métalliques (cf. 6.2 Le ciblage des peptides A β par des complexes métalliques, Figure 58, page 75).

En 2009, Chen et coll. ont montré que le cyclam et le cyclen sont capables, *in vitro*, d'améliorer la viabilité de cellules neuronales en présence d'A β -Zn ou d'A β -Cu sans toutefois arrêter totalement la production d'espèces toxiques (Figure 50).^[130]

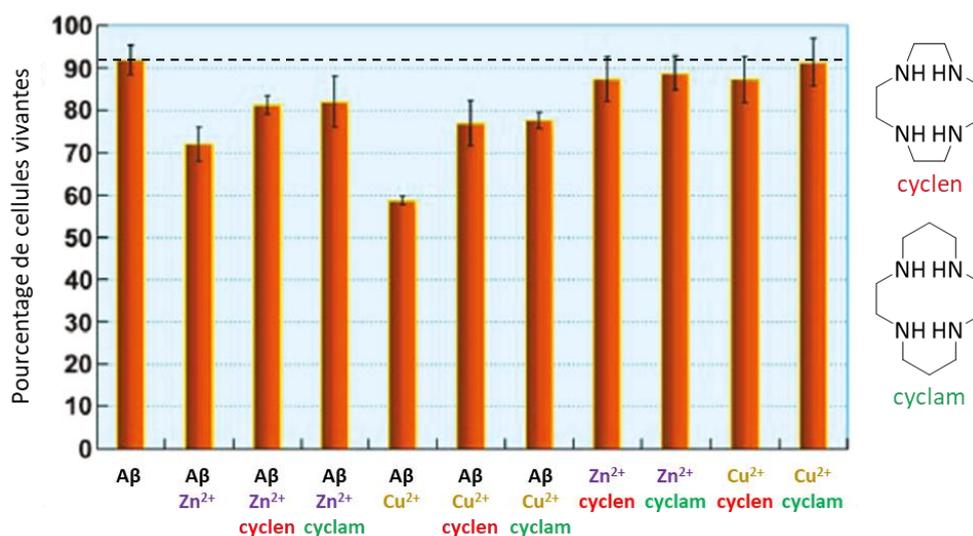


Figure 50. Cytotoxicité de l'Aβ₄₀, de l'Aβ₄₀-Zn et de l'Aβ₄₀-Cu sur des cellules neuronales C57BL6/J en présence ou non de **cyclen** et **cyclam** ([Aβ₄₀] = 10 μM ; Aβ/métal/ligand = 1/2/4).^[130]

Les résultats montrent qu'en présence d'Aβ₄₀ 90 % des cellules sont toujours vivantes après 48 h d'incubation. En présence d'Aβ₄₀-Zn le taux de survie des cellules descend à 70 % et remonte à environ 80 % lors de l'ajout de cyclam ou de cyclen. Lors de l'incubation de cellules neuronales avec de l'Aβ₄₀-Cu le taux de survie diminue jusqu'à 60 % en raison de la production de ROS et remonte entre 75 % et 80 % en présence de cyclen ou de cyclam.

Ces résultats, comme ceux obtenus par Bush avec des chélates linéaires, montrent le potentiel thérapeutique des ligands piégeant les métaux impliqués dans les mécanismes de développement de la MA. Cette étude, avec des macrocycles non fonctionnalisés, suggère également que le cyclam permet un meilleur ciblage du cuivre par rapport au zinc tandis que le cyclen ne montre pas de différence vis-à-vis de ces deux métaux. Le développement de la MA étant principalement liée à la dishoméostasie du cuivre, le cyclam semble être le meilleur choix comme plateforme de départ pour le développement d'un agent thérapeutique.

En 2015, Chen et ses collaborateurs ont rapporté deux nouveaux dérivés de cyclam, porteurs de deux méthyles et d'un ou deux groupements pyridine (Figure 51),^[131] eux aussi capables d'améliorer la viabilité de cellules neuronales en complexant le cuivre et en diminuant la production de ROS. Ces groupements ont été choisis afin d'augmenter la lipophilie du ligand et potentiellement améliorer le passage de la BHE mais aussi pour les propriétés antioxydantes de la pyridine.

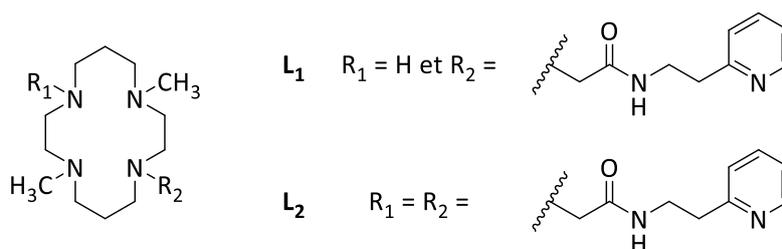


Figure 51. Dérivés de cyclam porteurs d'un ou deux groupements pyridine lipophiles et antioxydants.

Les études réalisées sur des cellules neuronales SH-SY5Y, montrent que le ligand L_2 est légèrement plus efficace que le ligand L_1 . Ces résultats sont cohérents avec la présence de deux groupements pyridine sur L_2 et par conséquent un caractère antioxydant plus fort. Malheureusement, ces deux macrocycles n'offrent pas de meilleurs résultats *in vitro* que le cyclam, des études *in vivo* seraient nécessaires pour montrer si les ligands L_1 et L_2 traversent mieux la BHE et si les pyridines apportent une amélioration comparée au cyclam.

Afin de comprendre comment doit évoluer la conception des ligands pour développer un agent thérapeutique efficace, l'équipe de C. Hureau, en collaboration avec notre laboratoire, a réalisé une étude portant sur l'aspect cinétique de la réaction de transchéliation : $A\beta-Cu + L \rightarrow A\beta + Cu-L$.^[20] Au total, six ligands ont été étudiés (Figure 52) : le cyclen, le cyclen monopicolinate (do1pa), le cyclen dipicolinate (do2pa) ainsi que le cyclam, le cyclam monopicolinate (te1pa) et le cyclam dipicolinate (te2pa). Ces travaux sont les premiers visant à utiliser les ligands synthétisés par notre équipe comme de potentiels agents séquestrants. Les dérivés fonctionnalisés par des groupements picolinate ont été choisis pour leurs excellentes propriétés de coordination du cuivre, initialement rapportées pour le développement d'agent d'imagerie TEP.

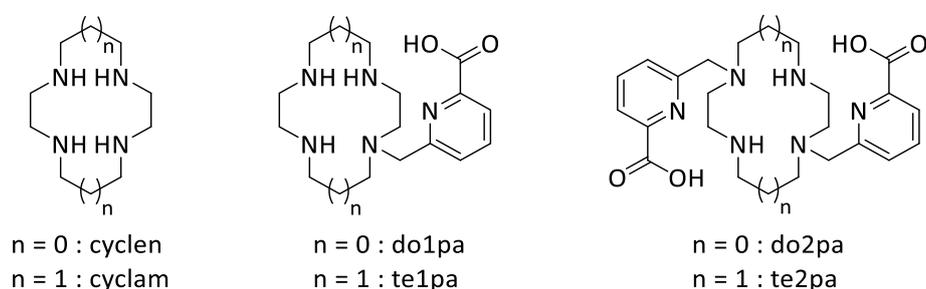


Figure 52. Structures des ligands issus de notre laboratoire et étudiés par Hureau et coll.

Les auteurs ont montré que ces six ligands sont capables d'inhiber la formation de fibrilles d' $A\beta-Cu$ rendant ainsi à l' $A\beta$ sa morphologie fibrillaire initiale. Le suivi, en fonction du temps,

de la fluorescence du ThT dans un échantillon d'A β montre une courbe sigmoïde correspondant aux trois phases du processus d'agrégation : nucléation, croissance, saturation (courbes noires, **A** et **B** Figure 53). En présence de cuivre, une légère augmentation et un plateau sont observés durant les premières heures avant la sigmoïde correspondant à aux trois phases (courbes grises - **A** et **B** Figure 53). L'étude des courbes noires et grises montre que le temps nécessaire pour atteindre la moitié de la fluorescence maximale est de 20h pour l'A β seule contre 60h pour l'A β en présence de cuivre avec une intensité de fluorescence environ deux fois plus faible ; cela s'explique par une morphologie différente des fibrilles.

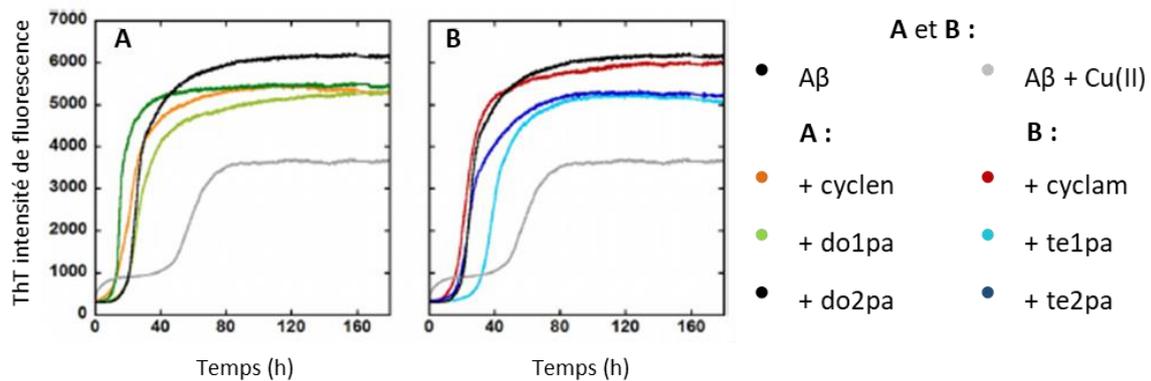


Figure 53. Agrégation des peptides A β avec ou sans cuivre et en présence **A**) de ligands dérivés du cyclen et **B**) de ligands dérivés du cyclam. Conditions : [L] = [A β_{40}] = 20 mM, [Cu $^{2+}$] = 18 mM, [ThT] = 10 mM, [HEPES] = 50 mM, pH 7,1, T = 37 °C.^[20]

Lors de l'ajout des six ligands, une courbe classique d'agrégation est retrouvée, ce qui confirme la complexation du cuivre par les ligands. A noter qu'excepter pour le cyclam, l'intensité maximale de fluorescence est plus faible en présence de ligand que pour l'A β seule. Cet effet peut s'expliquer par une interaction entre l'A β et le complexe Cu(L) qui modifie la morphologie des fibrilles et donc l'intensité de fluorescence de la ThT.

Les expériences d'agrégation de l'A β en présence de ThT étant longues de plusieurs heures, il est difficile de pouvoir comparer l'efficacité de chacun des ligands entre eux puisqu'ils parviennent tous, à terme, à récupérer le cuivre dans l'A β et à stopper la production de ROS. Afin d'obtenir des données à une échelle de temps plus faible sur l'interaction entre l'A β -Cu et les ligands, l'équipe de Hureau a mis au point une expérience permettant de suivre la production de ROS par le complexe A β -Cu grâce à l'observation de la consommation d'ascorbate (Asc) (Figure 54). Comme vu précédemment, la production de ROS dans le cerveau se fait au cours du cycle : réduction du cuivre(II) en cuivre(I) par l'ascorbate puis oxydation du

cuiivre(I) en cuivre(II) en présence de dioxygène. Au cours de cette réaction, de l'ascorbate est donc consommé et le suivi de sa concentration représente un excellent moyen de suivre l'effet d'un ligand sur le complexe A β -Cu à une échelle de temps bien plus limitée.

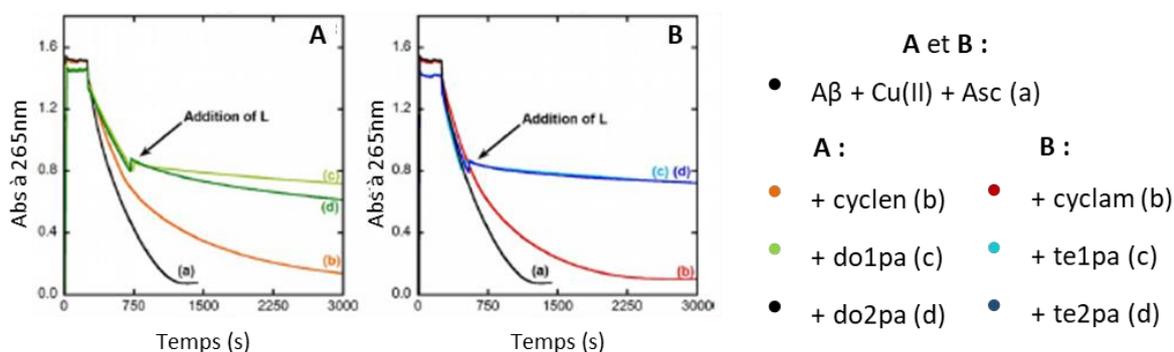


Figure 54. Cinétiques de consommation de l'ascorbate (Asc) par le complexe A β -Cu avec ajout ou non de ligand à 750 s : **A**) dérivés de cyclen et **B**) dérivés de cyclam. [L] = [Ab₁₆] = 12 μ M, [Cu²⁺] = 10 μ M, [Asc] = 10 μ M, tampon HEPES = 100 mM, pH 7.1.^[20]

L'échantillon d'A β -Cu et d'ascorbate (noir) montre une consommation totale de l'ascorbate après 1500 s (= 25 min) (courbes (a) – **A** et **B** Figure 54). Le cyclam et le cyclen ralentissent la transformation de l'ascorbate mais ne parviennent pas à arrêter la production de ROS et la quasi-totalité de l'ascorbate est oxydé au bout de 3000 s (= 50 min) (courbes (b) – **A** et **B** Figure 54). L'ajout des ligands do1pa, te1pa et te2pa après 750 s montrent un arrêt total et instantané de la consommation d'ascorbate, le do2pa montre un arrêt quasi-total. Ces résultats sont représentatifs de la cinétique de récupération du cuivre par les différents ligands dans l'A β .

Il s'agit de la première étude montrant la possibilité d'observer l'inhibition de la production de ROS à cette échelle de temps, mettant ainsi en évidence l'importance de la cinétique de la réaction de compétition $\text{Cu-A}\beta + \text{L} \rightarrow \text{A}\beta + \text{Cu(L)}$. Les résultats rapportés par l'équipe de Hureau montrent que la capacité des ligands à inhiber l'agrégation des peptides A β n'est pas une condition suffisante pour en faire un bon candidat thérapeutique. Ces données peuvent ainsi expliquer les différents échecs cliniques de candidats médicaments dont la cinétique de récupération des ions métalliques est trop lente et/ou réversible.

6.2 Le ciblage des peptides A β par des complexes métalliques

Parallèlement au développement de ligands pour la chélation des métaux, des équipes de recherche se sont intéressées à l'effet des complexes métalliques sur l'A β . Plusieurs complexes mettent en jeu des petites molécules hétérocycliques aromatiques avec de l'iridium (Ir),^[132] du ruthénium (Ru)^[133] ou encore du vanadium (V)^[134] ont été testés vis-à-vis de l'A β pour leur capacité d'oxydation des protéines (Figure 55).

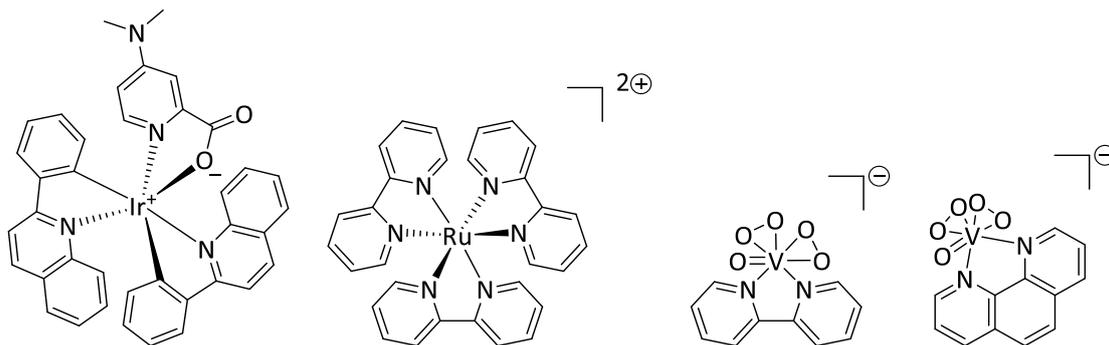


Figure 55. Structures de complexes oxydants capables de moduler l'agrégation et la toxicité de l'A β .

Les mécanismes d'activité de ces quatre composés sont légèrement différents. Les complexes d'iridium et de ruthénium doivent être irradiés (lumière blanche) afin de générer de l'oxygène singulet à partir du dioxygène présent dans le milieu et ainsi oxyder certains acides aminés de l'A β . Dans le cas des complexes de vanadium peroxy, aucune activation n'est nécessaire, ils sont directement actifs sur les protéines.

D'autres complexes ont été étudiés pour leur capacité à s'insérer dans la protéine A β et ainsi modifier sa structure. Les changements de la géométrie de la protéine modifient ses propriétés d'agrégation et par voie de conséquence sa toxicité. Des complexes de platine (Pt²⁺),^[135] de rhodium (Rh⁺)^[136] ou encore de cobalt (Co³⁺)^[137] ont été rapportés pour cette application (Figure 56).

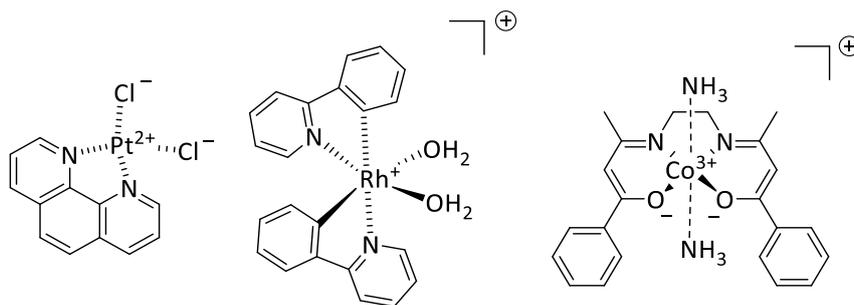


Figure 56. Structures des complexes intercalants de l'Aβ.

Les sites d'action des complexes de platine et de rhodium n'ont pas été déterminés mais le suivi d'agrégation de l'Aβ₄₂ par fluorescence du **ThT** et les tests de viabilité cellulaire montrent que ces complexes empêchent l'agrégation et inhibent la toxicité induite par l'Aβ₄₂. Quant au complexe de cobalt (Co(**benacen**)⁺), les auteurs ont déterminé que le complexe réalise un échange des ligands en position axiale (ammine – NH₃) par les histidines de l'Aβ (His6 - His13 ou His6 - His14). Il s'insère donc dans la partie hydrophile convoitée par le cuivre ou le zinc et la géométrie de la nouvelle espèce Co(**benacen**)-Aβ induit une diminution de l'agrégation des peptides.

Les derniers complexes, qui nous intéressent particulièrement, sont des complexes ayant des propriétés de catalyseur de réaction d'hydrolyse de l'Aβ. L'équipe de J. Suh a été la première, en 2007, à rapporter des complexes macrocycliques comme protéases artificielles de l'Aβ.^[138] Cette nouvelle stratégie consiste à cibler une protéine en particulier et à l'hydrolyser afin de la rendre inactive. Plusieurs métaux de transition possèdent des propriétés acido-basiques intéressantes pour une telle application (Fer, Cobalt, Nickel, Cuivre, Zinc). Les auteurs ont testé une librairie de 888 composés associant un complexe [Co(**cyklen**)]³⁺ comme agent d'hydrolyse et une molécule vectrice formée de groupes aromatiques pour cibler les peptides Aβ (Figure 57). Seulement quatre composés se sont avérés capables d'hydrolyser l'Aβ₄₂ et seulement deux d'hydrolyser l'Aβ₄₂ et l'Aβ₄₀. Le composé **A**, fonctionnalisé par un groupement triazine portant un groupement phényle benzoxazole, s'avère le plus efficace (Figure 57).

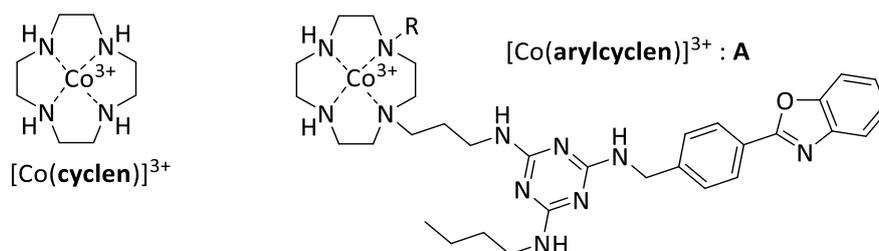


Figure 57. Structure du $[\text{Co}(\text{cyclen})]^{3+}$ et du composé **A**, dérivé de $[\text{Co}(\text{arylcyclen})]^{3+}$ capable d'hydrolyser l' $\text{A}\beta_{42}$ et l' $\text{A}\beta_{40}$.

Des études plus poussées avec le composé **A** ont montré qu'il n'hydrolyse que des espèces oligomériques.^[138] Les auteurs précisent ne pas avoir déterminé quels oligomères, mais affirment que le complexe n'agit pas sur les monomères ni sur les fibrilles. En 2011, l'équipe de Suh a proposé un mécanisme réactionnel de l'hydrolyse des peptides par le $[\text{Co}(\text{cyclen})]^{3+}$ (Schéma 1).^[139]

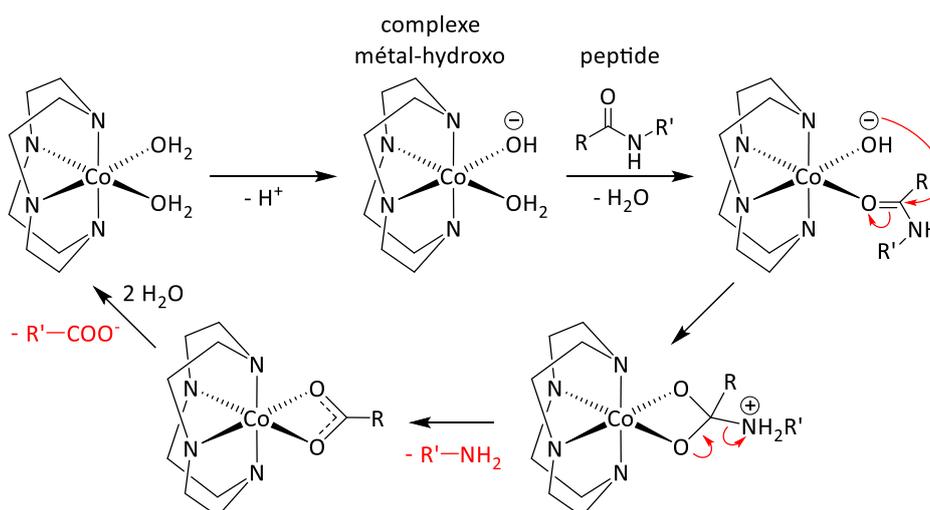


Schéma 1. Mécanisme réactionnel d'hydrolyse d'une fonction amide par le complexe $[\text{Co}(\text{cyclen})]^{3+}$. La charge du cobalt a été omise pour plus de clarté.

En milieu aqueux le complexe possède deux sites de coordination labiles pouvant accueillir des molécules d'eau. Sous l'effet d'une base, par exemple un acide aminé environnant, une des molécules d'eau peut être déprotonée pour former un complexe métal-**hydroxo**. La seconde molécule d'eau peut à son tour être échangée par une fonction carbonyle du peptide, ce qui permet une attaque nucléophile de l'ion hydroxyde à proximité. L'activité catalytique du composé est dépendante de la stabilité de l'intermédiaire comportant un métalocycle à 4 atomes. Finalement, l'extrémité amine du peptide est éliminée et le complexe diaqua de départ est régénéré après la libération de l'extrémité carboxylate. Dans cette même étude,

les auteurs ont rapporté le test de 612 complexes de cobalt(III) dérivés de cyclen et oxacyclen (même macrocycle où un atome d'azote est substitué par un atome d'oxygène) dont aucun n'a été capable d'hydrolyser l'A β ₄₂.^[139]

Un second exemple d'hydrolyse des peptides A β a été rapporté par l'équipe de Li avec le **cyclen-KLVFF**.^[129] En plus d'être capable d'extraire le cuivre dans la partie hydrophile de l'A β , le complexe [Cu(**cyclen-KLVFF**)]²⁺ formé a montré une activité d'hydrolyse catalytique du peptide. Les analyses MALDI TOF/MS d'échantillons d'A β ₄₂ (10 μ M) incubés pendant 5 ou 7 jours avec du complexe de cuivre (40 μ M) ont révélé la présence de nombreux fragments, notamment après 7 jours où il ne reste plus qu'une infime partie de peptide entier (Figure 58).

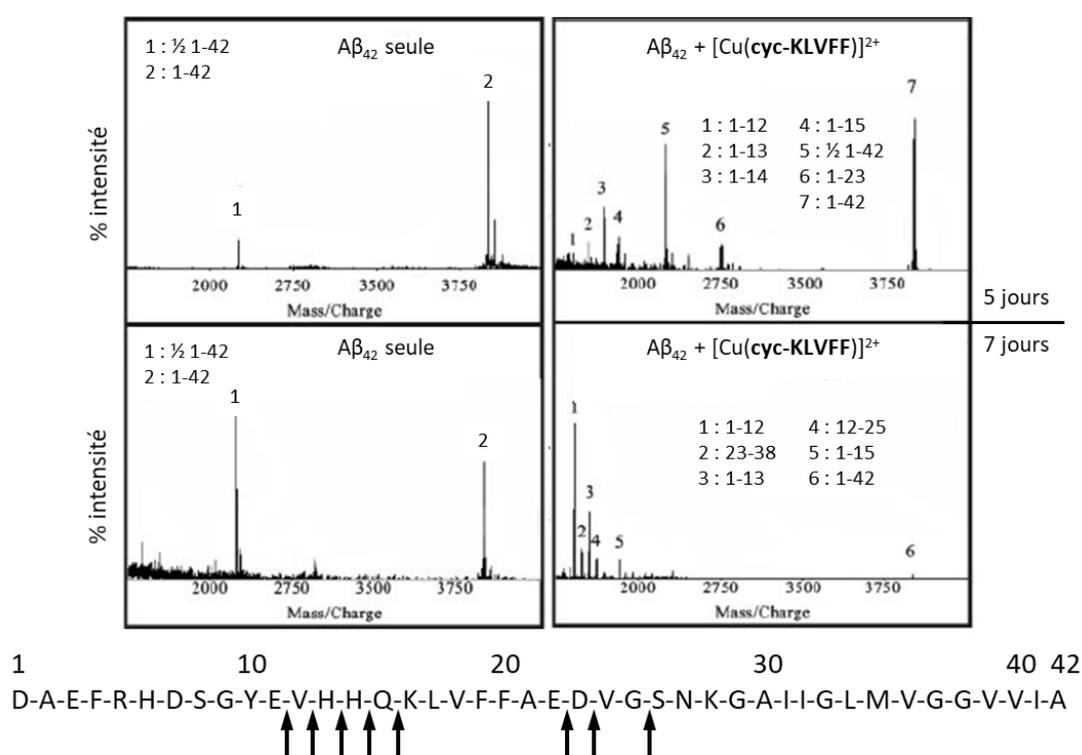


Figure 58. Analyses MALDI TOF/MS d'échantillons d'A β ₄₂ incubés seuls ou avec du [Cu(**cyclen-KLVFF**)]²⁺ pendant 5 et 7 jours. Séquence peptidique de l'A β ₄₂ et récapitulatif des sites d'hydrolyse (flèches noires).^[129]

Le récapitulatif des sites d'hydrolyse sur la séquence de l'A β montre que les liaisons peptidiques concernées se trouvent toutes autour de la séquence d'auto reconnaissance **KLVFF** présente sur le peptide A β et sur le complexe. Ces résultats suggèrent une bonne interaction entre le peptide A β ₄₂ et la séquence **KLVFF** du complexe ainsi qu'une bonne disponibilité du cuivre pour former un complexe métal-hydroxo et hydrolyser les liaisons peptidiques avoisinantes. En revanche, la diversité d'acides aminés entre lesquels le complexe

[Cu(**cyc-KLVFF**)]²⁺ réalise l'hydrolyse (E-V, V-H, H-H, H-Q, Q-K, E-D, D-V, G-S) ne suggèrent aucune sélectivité.

Le dernier exemple abordé au sein de ce chapitre est celui à partir duquel ce sujet de thèse a été mis au point. En 2017, l'équipe du Pr. Lim a présenté une étude comparant l'activité des complexes de nickel (Ni²⁺), cuivre (Cu²⁺), zinc (Zn²⁺) et cobalt (Co²⁺) du tétraméthylcyclam (**TMC**) vis-vis de l'hydrolyse de l'Aβ₄₀ et de l'Aβ₄₂.^[4] Les auteurs ont montré que ces quatre complexes présentent une activité d'hydrolyse mais que les complexes de cuivre, nickel et zinc ne sont que très peu actifs tandis que le [Co(**TMC**)]²⁺ s'avère beaucoup plus efficace. A pH physiologique (pH = 7,4 - Tableau 1), l'analyse MALDI-MS d'échantillons d'Aβ₄₀ incubés vingt-quatre heures avec les complexes [M(**TMC**)]²⁺ (M = Cu, Ni, Zn, Co) montrent une diminution plus ou moins importante de la concentration en peptide.

Tableau 1. Concentrations d'Aβ₄₀ après 24 h d'incubation sans ou avec [M(**TMC**)]²⁺ (M = Cu, Ni, Zn, Co) à pH = 7,4.^[4]

Echantillons	[Aβ ₄₀] (μM)
Aβ ₄₀	7,35 ± 0,18
Aβ ₄₀ + [Cu(TMC)] ²⁺	7,20 ± 0,18
Aβ ₄₀ + [Ni(TMC)] ²⁺	6,17 ± 0,21
Aβ ₄₀ + [Zn(TMC)] ²⁺	5,99 ± 0,22
Aβ ₄₀ + [Co(TMC)] ²⁺	2,93 ± 0,54

La diminution observée pour le complexe de cuivre est quasiment nulle, pour ceux de nickel et zinc la diminution est légère mais tout de même significative. En revanche, le complexe de [Co(**TMC**)]²⁺ montre une diminution de plus de moitié de la quantité d'Aβ. La différence d'efficacité de ces quatre complexes a été attribuée à plusieurs propriétés : l'interaction avec l'Aβ, la géométrie des complexes ainsi que la constante d'acidité (pKa) de la réaction $[M(L)]^{2+} + H_2O \rightarrow [M(L)(OH)]^+ + H^+$.

- Des analyses ESI-MS ont montré que chacun des complexes peut former un adduit [Aβ₄₀ + M(**TMC**)], ce qui signifie que certains acides aminés de l'Aβ viennent occuper le/les sites de coordination libres du métal. Le complexe [Co(**TMC**)]²⁺ est le seul présentant un pic en plus pour la masse [Aβ₄₀ + 2 Co(**TMC**)] qui pourrait expliquer son efficacité accrue.

- La géométrie pyramidale des quatre complexes $[M(\text{TMC})]^{2+}$ est relativement similaire (Figure 59), cependant le $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ est légèrement plus distordu, le repliement du ligand semble laisser un plus grand espace sur la face accessible du métal et permet donc une interaction axiale probablement plus forte entre le métal et un ligand du milieu (acide aminé, contre-ion, eau...).

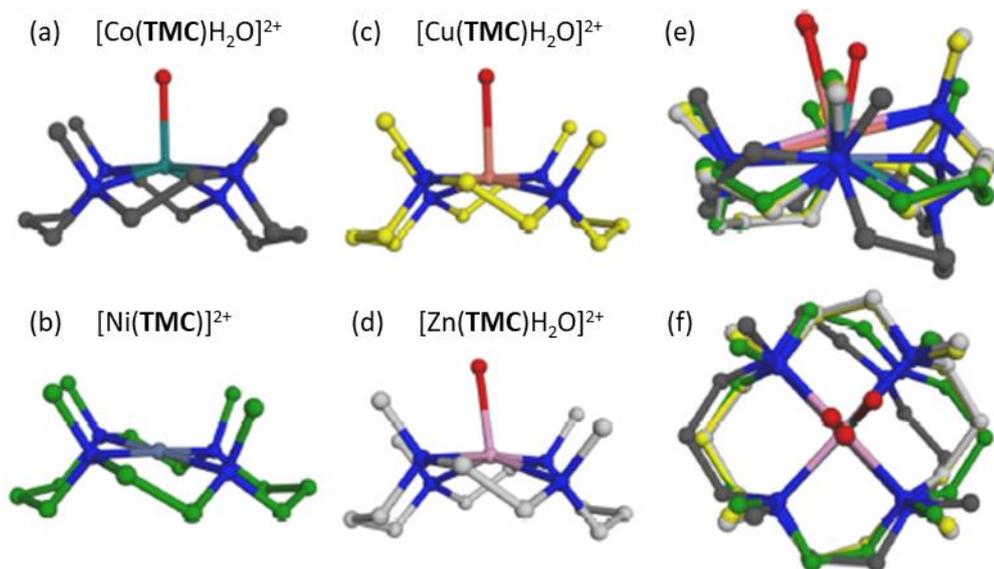


Figure 59. Simulations informatiques des complexes $[M(\text{TMC})]^{2+}$. Structures (a) $[\text{Co}(\text{TMC})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$, (b) $[\text{Ni}(\text{TMC})]^{2+}$, (c) $[\text{Cu}(\text{TMC})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ et (d) $[\text{Zn}(\text{TMC})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$. Superposition des structures $[M(\text{TMC})]^{2+}$ (e) vue de profile et (f) vue du dessus.^[4]

- La constante d'acidité de la réaction $[M(\text{TMC})]^{2+} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow [M(\text{TMC})(\text{OH})]^+ + \text{H}^+$ qui correspond à la formation d'un complexe métal-hydroxo est primordiale pour réaliser l'hydrolyse de la liaison peptidique. Cette constante a été mesurée par l'équipe de Lim par titration UV-Visible pour le $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ et s'avèrent être relativement basse ($\text{pK}_a = 8,5$). Cette valeur explique l'effet du pH sur l'activité du complexe, à $\text{pH} = 6,6$ le complexe perd en efficacité tandis qu'à $\text{pH} = 8,5$ il est légèrement plus efficace qu'à pH physiologique (Tableau 2).

Tableau 2. Concentration d' $\text{A}\beta_{40}$ après 24 h d'incubation avec $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ à $\text{pH} = 6,6 ; 7,4$ et $8,5$.^[4]

Echantillons	$[\text{A}\beta_{40}]$ (μM)
--------------	--

$A\beta_{40}$ (pH 7,4)	$7,35 \pm 0,18$
$A\beta_{40} + [Co(TMC)]^{2+}$ (pH 6,6)	$6,25 \pm 0,21$
$A\beta_{40} + [Co(TMC)]^{2+}$ (pH 7,4)	$2,93 \pm 0,54$
$A\beta_{40} + [Co(TMC)]^{2+}$ (pH 8,5)	$2,42 \pm 0,44$

En 1983, Hancock et coll. avaient mesuré les constantes d'acidité des complexes métal-**hydroxo** $[M(TMC)(OH)]^+$ (M = Cu, Ni, Zn et Co), regroupées dans le Tableau 3.^[140] Il s'avère que la constante d'acidité du $[Co(TMC)(OH)]^+$ est la plus basse des quatre complexes, ce qui explique en partie l'efficacité accrue de ce complexe pour l'hydrolyse de l' $A\beta$.

Tableau 3. Constantes d'acidité relatives à la formation des complexes métal-**hydroxo** $[M(TMC)(OH)]^+$.

	Cu(II)(TMC)	Ni(II)(TMC)	Zn(II)(TMC)	Co(II)(TMC)
$[M(L)]^{2+} + H_2O \rightleftharpoons [M(L)(OH)]^+ + H^+$ (pKa)	non mesurée	10,28	8,56	8,24

La constante du $[Cu(TMC)]^{2+}$ n'a pas pu être calculée car probablement plus élevée que la limite de mesure de l'électrode (pH = 11 – 12) et celle du $[Ni(TMC)]^{2+}$ (pKa = 10.28)^[141] est trop élevée pour que la réaction ait lieu en milieu biologique de façon efficace. La constante mesurée par Hancock et coll. pour le complexe $[Co(TMC)]^{2+}$ (pKa = 8,24) est relativement proche de celle calculée par l'équipe coréenne. Quant au complexe $[Zn(TMC)]^{2+}$ (pKa = 8,56), sa constante d'acidité est relativement proche de celle du cobalt, ce qui expliquerait que le complexe de zinc soit le second plus efficace. En revanche la nette supériorité du complexe de cobalt proviendrait de l'accumulation avec les autres propriétés considérées par l'équipe de Lim, à savoir, la géométrie du complexe et les interactions entre le complexe $[M(TMC)]^{2+}$ et l' $A\beta$.

Lim et coll. ont proposé, en tout, cinq mécanismes réactionnels pour l'hydrolyse du peptide $A\beta$ par les complexes $[M(TMC)]^{2+}$. Toutefois, deux mécanismes mono-moléculaire (Schéma 2) et un bi-moléculaire (Schéma 3) sont particulièrement probables.

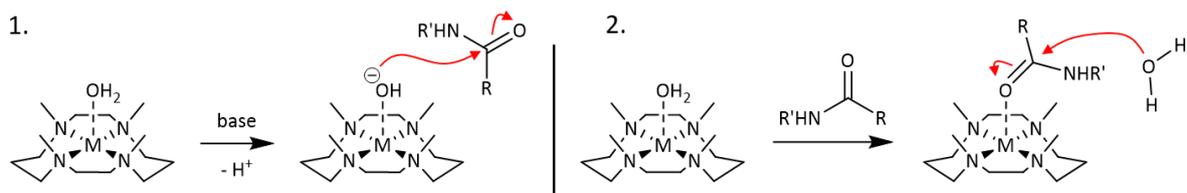


Schéma 2. Hypothèses mécanistiques de l'hydrolyse d'un peptide par le complexe $[\text{M}(\text{TMC})]^{2+}$.^[4]

Mécanisme 1 : en milieu aqueux la position axiale de coordination du centre métallique est occupée par une molécule d'eau, cette molécule d'eau est déprotonée par un acide aminé basique environnant. Cette réaction est déterminée par la constante d'acidité de formation du complexe métal-**hydroxo**. L'ion hydroxyde nucléophile réagit alors avec le carbonyle d'une liaison peptidique et l'hydrolyse.

Mécanisme 2 : le carbonyle d'une liaison peptidique peut s'échanger avec la molécule d'eau en position axiale du centre métallique pour former l'adduit $[\text{A}\beta + \text{M}(\text{TMC})]$. L'électrophilie du carbone se trouve alors exaltée et une molécule d'eau peut hydrolyser la liaison peptidique.

Les auteurs ont également émis l'hypothèse d'un mécanisme bi-moléculaire réunissant les deux mécanismes précédents (Schéma 3).

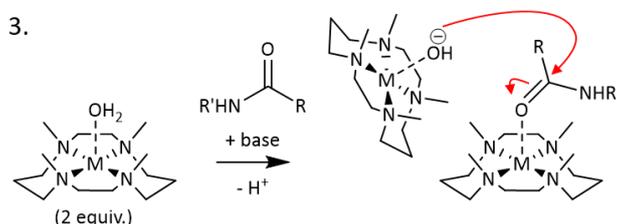


Schéma 3. Mécanisme bi-moléculaire d'hydrolyse d'un peptide par le complexe $[\text{M}(\text{TMC})]^{2+}$.^[4]

Mécanisme 3 : Il fait intervenir deux équivalents de complexe, un pour générer l'ion hydroxyde et un second pour exalter l'électrophilie du carbone d'une liaison peptidique. Ce mécanisme permettrait d'expliquer l'efficacité accrue du $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$. En effet, en plus de former l'espèce métal-**hydroxo** à un pH plus bas que les autres, ce complexe est le seul pour lequel des adduits $[\text{A}\beta + 2 \text{Co}(\text{TMC})]$ ont été observés.

Le complexe $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ est le premier complexe de cobalt(II), et à notre connaissance le seul, présentant une telle activité d'hydrolyse vis-à-vis de l'A β sans montrer de toxicité pour les cellules neuronales. Considérant ces résultats, il a été envisagé en collaboration avec l'équipe du Pr. Lim d'étudier d'autres dérivés de cyclam afin de comprendre comment les

modifications structurales peuvent influencer les propriétés des complexes et donc l'activité biologique.

Conclusion du chapitre I

La maladie d'Alzheimer est une maladie multifactorielle grave et particulièrement complexe. Les mécanismes mis en jeu au cours de son développement ne sont pas encore tous élucidés mais la recherche a apporté énormément de réponses au cours des dernières décennies. Deux lésions sont admises par la communauté scientifique comme responsables de la maladie : les agrégats de peptides A β à l'extérieur des cellules et les enchevêtrements neurofibrillaires de protéines tau dans les cellules. Ces deux causes semblent être liées et sont responsables d'une cascade d'évènements conduisant à la mort cellulaire. Le développement de la MA est caractérisé par une augmentation dans la quantité d'A β extracellulaire mais également par un déséquilibre dans le ratio de ses différentes formes A β_{40} /A β_{42} . Ces peptides sont susceptibles d'adopter un repliement non naturel en feuillet- β et de s'agréger spontanément par des interactions hydrophobes pour former des oligomères solubles ainsi que des espèces volumineuses insolubles appelées fibrilles. En plus de l'agrégation, les peptides A β peuvent coordiner des ions métalliques endogènes comme le cuivre (I et II) et le zinc(II) grâce à une extrémité hydrophile comportant de nombreux groupements coordinants. Ce sont les espèces A β -Cu et A β -Zn ainsi formées qui s'avèrent être particulièrement toxiques. Le zinc accélère et stabilise la formation de fibrille insoluble dans le milieu extracellulaire tandis que l'A β -Cu génère des espèces réactives de l'oxygène particulièrement toxiques pour les cellules.

Il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement de la maladie d'Alzheimer. Quelques molécules sont toutefois commercialisées pour le traitement palliatif des symptômes développés par les malades. Plusieurs familles de composés ont également été développées pour le diagnostic, notamment des radiotraceurs comme le ^{11}C -PIB, pour l'imagerie TEP des plaques amyloïdes. Au cours des dernières décennies, les potentiels traitements de la MA font probablement partie de ceux ayant subi le plus d'échecs en phase clinique, tandis que le

nombre de personnes atteintes augmente de façon exponentielle. La recherche de nouveaux agents diagnostiques plus fiables (et moins chers) et de potentiels agents thérapeutiques est devenue un enjeu majeur du XXI^{ème} siècle. C'est dans ce contexte que les macrocycles azotés saturés se sont présentés comme d'excellents candidats tant pour le diagnostic que pour le traitement. La stratégie thérapeutique s'est développée autour de deux axes : l'utilisation de chélatants pour récupérer le zinc et/ou le cuivre dans les agrégats d'A β et ainsi diminuer leur toxicité ou bien l'utilisation de complexes de métaux de transition capables de moduler l'agrégation et la toxicité de l'A β par divers moyens tels que l'intercalation ou l'hydrolyse protéique.

Les travaux décrits dans ce manuscrit s'inscrivent dans les deux axes de la stratégie thérapeutique avec de nouveaux ligands dérivés du cyclam pour la complexation du cuivre et du zinc présents dans les agrégats d'A β ainsi que l'étude de l'interaction des complexes métalliques (cuivre, zinc, cobalt) issus de ces mêmes ligands avec les peptides A β .

CHAPITRE 2 : Synthèse de dérivés du cyclam : méthylés, renforcés, C- et N-fonctionnalisés

La synthèse de macrocycles, notamment du cyclam, s'avère être un véritable défi synthétique et a été marquée par la mise au point de stratégies innovantes au cours du temps. Nous verrons dans la première partie de ce chapitre les principales méthodes de cyclisation développées pour la préparation des tétraazamacrocycles, puis adaptées à la synthèse des macrocycles C-fonctionnalisés. Nous aborderons également les procédés marquants ayant conduit à l'obtention de macrocycles N-fonctionnalisés de façon régiospécifique mais également ceux menant à des macrocycles structurellement contraints, dits renforcés, par un pont éthylénique entre les atomes d'azote adjacents ou opposés.

La seconde partie de ce chapitre sera dédiée à la présentation des résultats de synthèse obtenus au cours de ces trois années. Nous verrons les stratégies qui ont été mises en place pour obtenir les ligands C-éthylènehydroxy méthylés et renforcés qui composent la série n°2 ainsi que celles pour les ligands N-éthylènehydroxy qui constituent la série n°3. La synthèse de chaque composé a nécessité une réflexion que nous essaierons de retranscrire au travers des échecs rencontrés et des solutions qui nous ont permis de les surmonter.

1. Rappels bibliographiques

La synthèse de composés macrocycliques repose sur l'obtention d'une molécule cyclique à partir d'une ou des molécules linéaires. Pour cela, il existe plusieurs techniques : la cyclisation simple par une réaction intramoléculaire entre deux fonctions adéquates ou bien la condensation entre plusieurs fragments, identiques ou différents (Figure 60).^[142]

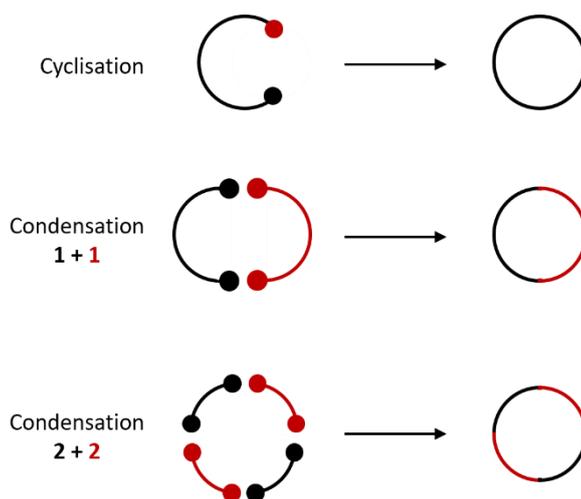


Figure 60. Exemples de cyclisation simple et de condensation.

Quelle que soit la méthode utilisée, le principal inconvénient est la compétition entre la réaction de cyclisation et la réaction concurrente de polymérisation intermoléculaire (Figure 61). Tout l'enjeu a donc été de développer des procédés permettant limiter la polymérisation au bénéfice de la cyclisation. Dans ce contexte, plusieurs stratégies de synthèse ont vu le jour.

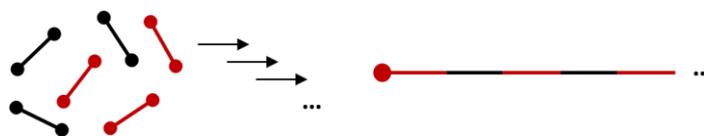


Figure 61. Réaction intermoléculaire de polycondensation.

La cyclisation par condensation de plusieurs molécules rend possible l'introduction de fonctions supplémentaires sur les macrocycles en utilisant des fragments pré-fonctionnalisés (commerciaux ou synthétisés) (Schéma 4). Cette technique a permis la préparation de nombreux macrocycles azotés porteurs de fonctions (réactives ou non) sur des atomes de carbone du squelette macrocyclique ; on parle alors de macrocycles C-fonctionnalisés.

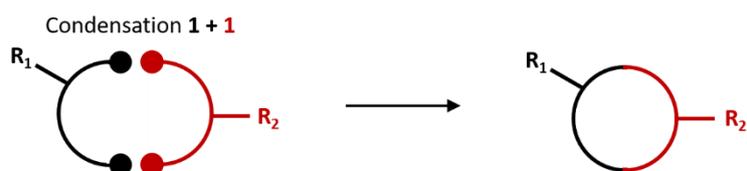


Schéma 4. Condensation 1 + 1 de fragments C-fonctionnalisés par des groupements R_1 et R_2 .

Toutefois, l'obtention des fragments C-fonctionnalisés nécessite parfois plusieurs étapes de synthèse et les fonctions introduites peuvent influencer la réaction de cyclisation qui s'en suit (vitesse, solubilité, rendement, ...). Malgré ces inconvénients, l'intérêt d'apporter des fonctions supplémentaires sur le squelette carboné est double : préserver les atomes d'azote du macrocycle pour la coordination des métaux et utiliser les groupes C-fonctionnels pour le couplage à d'autres molécules ou supports solides. Ainsi, il est possible de synthétiser des macrocycles bifonctionnels dont les propriétés de coordination seront peu impactées après une conjugaison, un greffage sur un polymère, une surface ou une nanoparticule.

De nombreuses méthodes de cyclisation, présentes dans la littérature, sont communes à la préparation de tétraazacycloalcanes de tailles variées (Figure 62). Le projet de thèse n'incluant que des dérivés du cyclam, nous présenterons principalement les voies de synthèse pour ce macrocycle, bien que certaines aient été initialement développées pour les homologues cyclen, homocyclen, isocyclam ou plus rarement pour le [15]ane N_4 et le [16]ane N_4 .

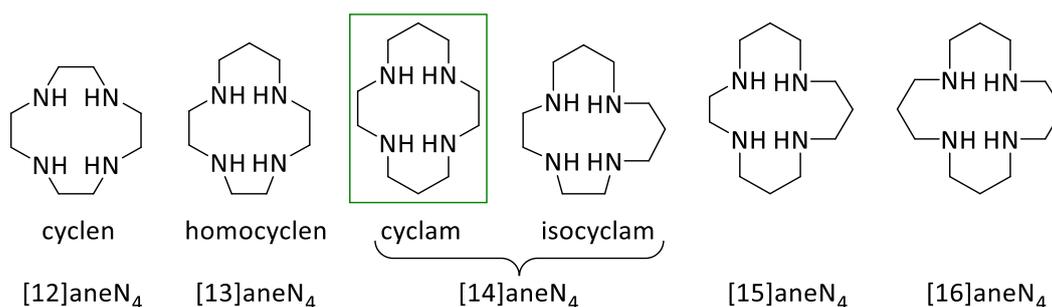


Figure 62. Structures des tétraazacycloalcanes les plus courants.

1.1 Méthodes de cyclisation pour la synthèse du cyclam et des cyclams C-fonctionnalisés

1.1.a Découverte du cyclam

Le cyclam, a été découvert de manière fortuite en 1937 par J. van Alphen au cours de la synthèse de polyamines aliphatiques (Schéma 5).^[143] La tétramine 232, nommée par le nombre d'atomes de carbone entre chaque fonction amine, a été obtenue par la réaction d'un équivalent de 1,3-dibromopropane avec deux équivalents d'éthylène-1,2-diamine.^[144] L'ajout supplémentaire de 1,3-dibromopropane sur la 232 pour poursuivre l'allongement de la polyamine a conduit à une fraction majoritaire ne présentant plus aucune amine primaire mais seulement des amines secondaires. Van Alphen a alors décrit le produit obtenu comme étant probablement le 1,4,8,11-tétrazacyclotétradécane, c'est-à-dire le cyclam.

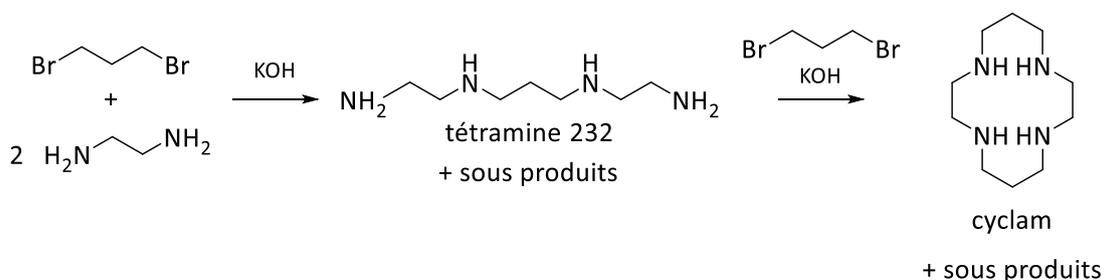


Schéma 5. Synthèse suivie par van Alphen conduisant au cyclam.

Au regard des propriétés intéressantes que pourrait avoir une polyamine cyclique, de nouvelles voies de synthèse du cyclam, plus performantes, ont été recherchées. De nombreuses années ont été nécessaires avant que des méthodes simplifiant significativement son obtention soient rapportées.

1.1.b Cyclisation entre amines et dérivés d'acides carboxyliques

En 1961, H. Stetter et E.-E. Mayer proposent une nouvelle voie de synthèse du cyclam, au départ d'une diamine, ayant pour but de favoriser la réaction de cyclisation entre les réactifs (Schéma 6).^[145] Tout d'abord, la propane-1,3-diamine est protégée avec des groupements tosylé pour limiter la réactivité des amines. Deux équivalents de bromoacétate de méthyle sont utilisés pour introduire deux atomes de carbone supplémentaires sur chaque amine ainsi que des fonctions réactives. Les esters méthyliques sont ensuite activés sous la

forme de chlorure d'acyle à l'aide de chlorure de thionyle (SOCl_2) puis le composé est engagé dans une réaction de cyclisation avec la propane-1,3-diamine.

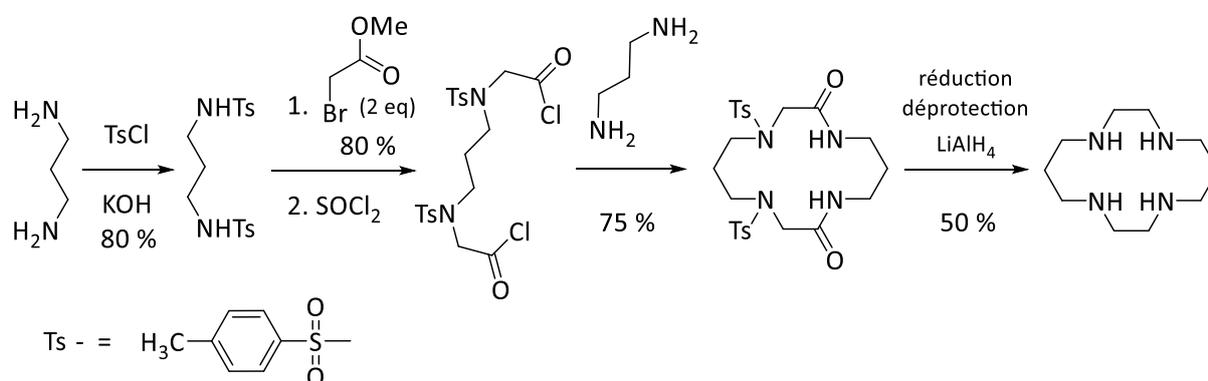


Schéma 6. Synthèse du cyclam par Stetter & Mayer.

La contrainte stérique apportée par les groupements tosylé et la rigidité des carbonyles limitent la polymérisation en faveur de la réaction de cyclisation. Le cyclam diamide ditosylé obtenu est réduit et déprotégé lors d'une même étape en utilisant de l'aluminohydruure de lithium pour donner le cyclam. Cette synthèse offre un bon rendement de cyclisation mais l'utilisation de réactifs sensibles reste un inconvénient majeur.

Une condensation [1+1] a également été réalisée à l'aide de dérivés d'acides carboxyliques porteurs de divers groupements sur leur chaîne carbonée. En 1977, Tabushi et coll. ont rapporté une méthode générale de synthèse de cyclams C-fonctionnalisés sur un carbone en position β des atomes d'azote, à l'aide de dérivés de diesters éthyliques.^[146] Elle repose sur la condensation de la tétramine 232 avec différents analogues fonctionnalisés du malonate de diéthyle (Schéma 7). La cyclisation est effectuée directement dans l'éthanol à reflux sans aucune protection préalable de la tétramine, ce qui conduit certainement à la formation de nombreux polymères. Le dérivé dioxocyclam obtenu est réduit à l'aide de diborane pour obtenir les cyclams C-fonctionnalisés correspondants avec des rendements globaux compris entre 15 et 25 %. Bien que ces valeurs soient faibles, cette méthode de synthèse présente un intérêt majeur par la grande variété des substituants R pouvant être introduits ; ce procédé peut également être utilisé pour la synthèse du dioxocyclam et du cyclam ($\text{R} = \text{H}$).^[147]

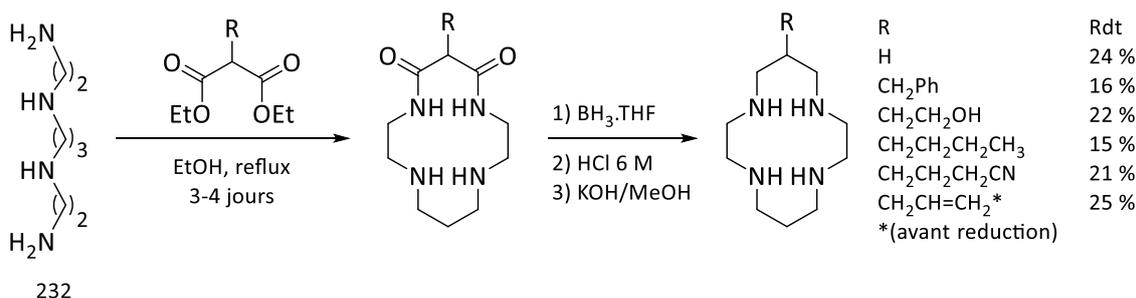


Schéma 7. Synthèse de cyclams C-fonctionnalisés à l'aide de dérivés du malonate de diéthyle.

1.1.c La méthode « Richman-Atkins »

En 1974, Richman et Atkins ont proposé une méthode générale de synthèse d'un grand nombre d'aza-éther-macrocycles possédant jusqu'à 21 atomes dont 7 hétéro éléments. Cette stratégie de cyclisation, proposée pour le cyclen,^[148] est également transposable au cyclam selon les protocoles décrits par Chavez et Sherry^[149]. Elle s'appuie sur des réactions de cyclisation à faibles rendements imaginées par Stetter et Roos en 1954 entre une amine linéaire protégée par des groupements tosylé et un dérivé di-halogéné.^[150] Richman et Atkins ont amélioré le procédé en optant pour la formation préalable d'amidures à l'aide d'éthanoate de sodium puis l'utilisation d'un bisélectrophile tosylé, dans un solvant aprotique polaire (DMF). Cette alternative permet d'obtenir des rendements de synthèse de 40 à 90 % selon les amines utilisées.

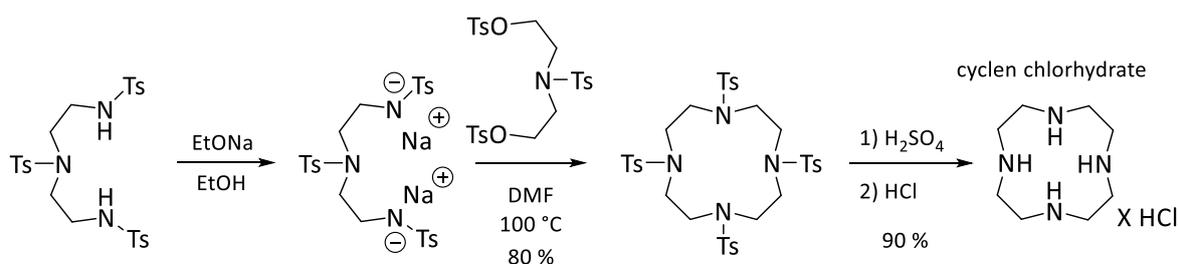


Schéma 8. Méthode Richman-Atkins pour la synthèse du cyclen chlorhydrate.

Pour la synthèse du cyclam, Chavez et Sherry ont montré que l'utilisation de carbonate de potassium est suffisante pour déprotéger les fonctions sulfonamide, qui réagissent alors avec le bisélectrophile bromé à température ambiante avec un excellent rendement (Schéma 9). Les amines sont déprotégées avec un mélange réducteur d'amalgame de sodium (Na/Hg) dans du méthanol tamponné avec de l'hydrogénophosphate de sodium, le rendement de déprotection n'a pas été communiqué.

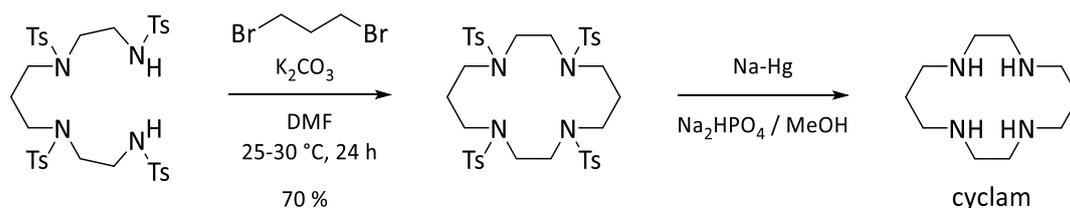


Schéma 9. Adaptation de la méthode Richman-Atkins pour la synthèse du cyclam par Chavez et Sherry.

Dans les deux exemples cités, la protection de l'amine linéaire avec des groupements tosylé génère une contrainte conformationnelle favorable à la cyclisation permettant de s'affranchir de la haute dilution. L'inconvénient majeur de cette méthode reste la « non-économie » d'atomes avec l'utilisation de nombreux groupements tosylé.

Ce procédé de synthèse a également été adapté pour la préparation de macrocycles *C*-fonctionnalisés.^[151,152] Par exemple, Muller et Handel, en 1982, ont utilisé ce protocole pour la synthèse d'un macrocycle *C*-fonctionnalisé par une chaîne lipophile sur un carbone en position β des atomes d'azote (Schéma 10).^[151] La condensation entre un dérivé diamidure tétratosylé et un bisélectrophile ditosylé porteur d'une chaîne lipophile offre un rendement de 80 %. La déprotection des amines est ensuite réalisée à l'aide d'une solution d'acide bromhydrique et d'acide acétique avec un rendement de seulement 40 à 50 %.

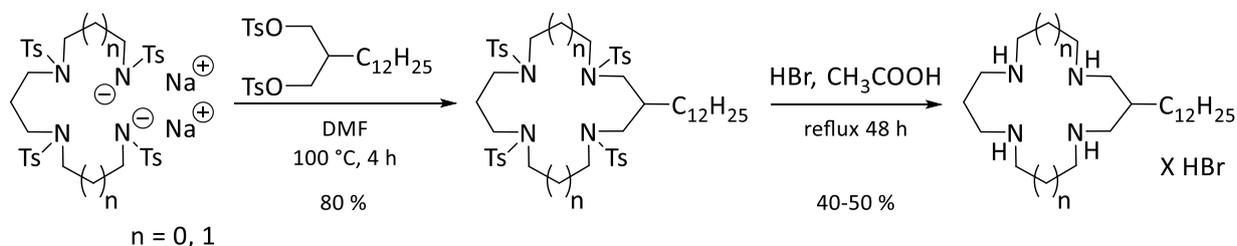


Schéma 10. Synthèse des sels d'hydrobromates de macrocycles *C*-fonctionnalisés par une chaîne lipophile.

La déprotection à l'aide d'acide sulfurique, comme dans la méthode de Richman et Atkins, ne permet pas d'obtenir de meilleurs rendements.

1.1.d Cyclisation sur support externe

Les réactions de cyclisation peuvent également être menées sur un support externe. Cette stratégie consiste à construire le macrocycle autour d'un élément externe, éliminé en fin de réaction, dont le rôle est d'imposer une géométrie particulière au composé linéaire pour

favoriser la formation du macrocycle (Schéma 11). Ce concept est nommé « effet de matrice » ou « template effect » en anglais. Deux types de supports ont été rapportés pour la synthèse des macrocycles : des cations métalliques^[153] ou des groupements organiques^[154].

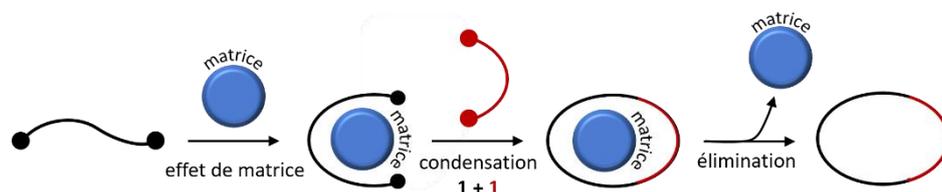


Schéma 11. Réaction de cyclisation par effet de matrice.

(i) Cyclisation sur support métallique

En 1972, E. Kent Barefield a proposé la première synthèse du cyclam s'appuyant sur un effet de matrice (Schéma 12).^[153] Pour ce faire, un ion nickel(II) est utilisé pour former un complexe avec la tétraméthylène linéaire (323) ; la structure plan carré du complexe obtenu permet d'orienter les amines terminales dans une disposition favorisant la cyclisation et limitant la formation des polymères. La réaction de cyclisation, réalisée à l'aide de glyoxal, conduit à un complexe macrocyclique diimine dont la réduction par le nickel de Raney sous pression de dihydrogène mène au complexe de Ni(II)(cyclam). Ce dernier, dissocié par ajout d'un excès de cyanure ($\text{N}\equiv\text{C}^-$), permet d'obtenir le cyclam libre avec un rendement global de 20 %.

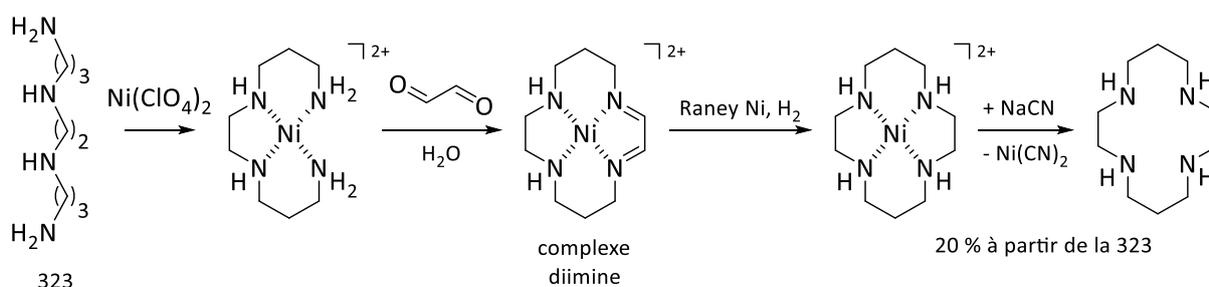


Schéma 12. Synthèse du cyclam selon Barefield avec pré-organisation de la 323 à l'aide de nickel(II).

L'étape de réduction du complexe-diimine, particulièrement laborieuse, entraîne une perte importante de composé. Bien que plus économe en atome comparé aux synthèses utilisant des groupements protecteurs, ce procédé nécessite l'utilisation de réactifs dangereux et très polluants. Néanmoins, il permet la préparation rapide d'une grande quantité de cyclam (plusieurs dizaines de kilogramme). En 1973, Barefield et coll. ont rapporté une version

améliorée de cette synthèse offrant un rendement global de 50 % grâce à l'utilisation de borohydrure de sodium lors de la réduction du complexe diimine.^[155]

En 1991, R. Guillard et coll. ont déposé un brevet européen avec la société Air Liquide® décrivant un procédé de synthèse des macrocycles, dont le cyclam (Schéma 13).^[156] La synthèse débute par la préparation de la tétramine 323 : de l'acrylonitrile est additionné sur de l'éthylènediamine pour former le composé linéaire dinitrile selon des réactions décrites par S.R. Buc et coll.^[157] Les fonctions nitrile sont ensuite réduites à l'aide d'alliage de Raney et la 323 est obtenue avec 36 % de rendement. La suite du procédé est inspirée de celui rapporté par Barefield : pré-organisation de l'amine linéaire par formation du complexe de nickel, condensation avec le glyoxal, réduction des imines et dissociation du complexe à l'aide de cyanure.

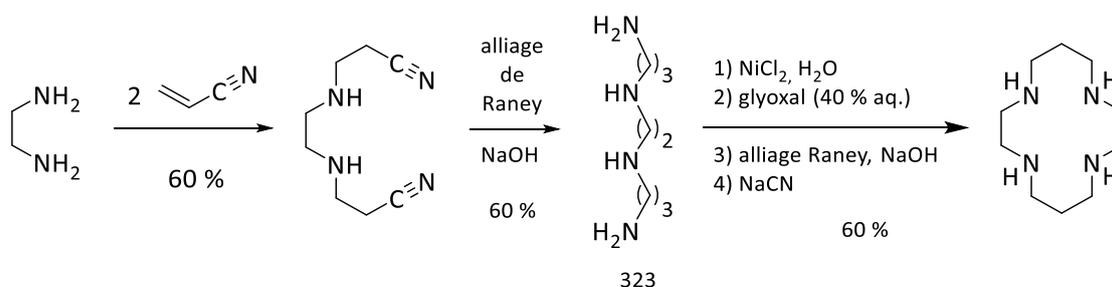


Schéma 13. Procédé breveté par Air Liquide® pour la synthèse du cyclam.

Dans ce protocole, les auteurs ont utilisé de l'alliage de Raney, plus commode à utiliser, pour la réduction du complexe-diimine menant au cyclam avec un rendement de 60 % à partir de la 323.

(ii) Cyclisation sur support organique

Afin de pallier les inconvénients de l'utilisation de supports métalliques, les recherches se sont orientées vers le développement de supports externes organiques. Les premiers aminaux de tétramines, carbone lié à deux atomes d'azote, ont été décrits dès 1980, sans pour autant être considérés comme de potentiels précurseurs des macrocycles. En effet, B. Fuchs^[158], R. A. Kolinski^[159] et G. R. Weisman^[160] ont présenté les voies de synthèses, les structures et les propriétés physicochimiques de plusieurs bisaminaux formés par la condensation de tétramines linéaires et de composés α -dicarbonyles symétriques (glyoxal ou butanedione). Ce n'est qu'à la fin des années 1990 que les bisaminaux ont été utilisés comme

intermédiaires pré-organisés pour des réactions de cyclisation. Quelques années après, en 2003, notre laboratoire a rapporté une étude détaillée de ces composés. Handel et coll.^[161] ont rationalisé les voies de synthèse qui mènent au maximum à quatre stéréoisomères (Schéma 14) et dont les proportions varient de 0 à 100 % en fonction du dérivé dicarboxylé, de la tétramine et des conditions réactionnelles utilisées.

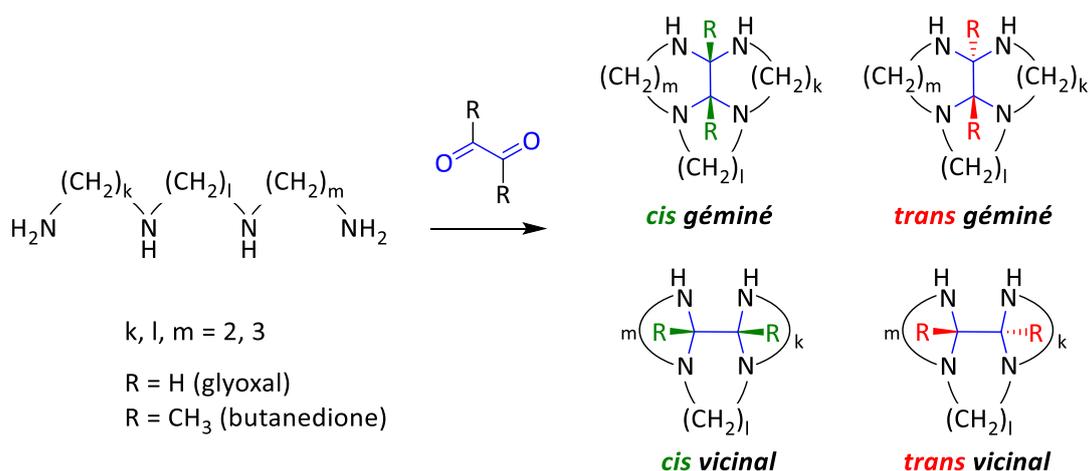


Schéma 14. Stéréoisomérisation des composés bisaminés après condensation d'une tétramine linéaire et d'un dérivé α-dicarbonyl symétrique.

Les composés bisaminés sont dits **géminés** lorsque le carbone aminal se trouve entre deux amines de même nature, ou **vicinaux** dans le cas contraire et sont de configuration **cis** ou **trans** selon la position relative des deux groupements R.

La fin des années 1990 a été marquée par la mise au point des premières réactions de cyclisation à l'aide de ces intermédiaires bisaminés. En 1996 et 1997 deux brevets, déposés par les sociétés Bracco^[162] et Nycomed Imaging^[163], ont revendiqué l'obtention de tétraazacycloalcanes par des méthodes de synthèse basées sur l'emploi d'un intermédiaire bisaminal-glyoxal (Schéma 15). Les réactions de cyclisation présentées dans ces brevets permettent en effet d'obtenir des macrocycles bisaminés avec d'excellents rendements. Cependant, les méthodes décrites pour l'étape de déprotection conduisant aux macrocycles libres sont, aujourd'hui encore, sujettes à controverse : Nycomed Imaging a décrit la déprotection du cyclen bisaminal (k, l, m, n = 1) à l'aide d'hydroxylamine (NH₂OH) et Bracco a décrit la déprotection de tous les tétraazacycloalcanes bisaminés à l'aide de plusieurs oxydants (KMnO₄, NaClO, Br₂).

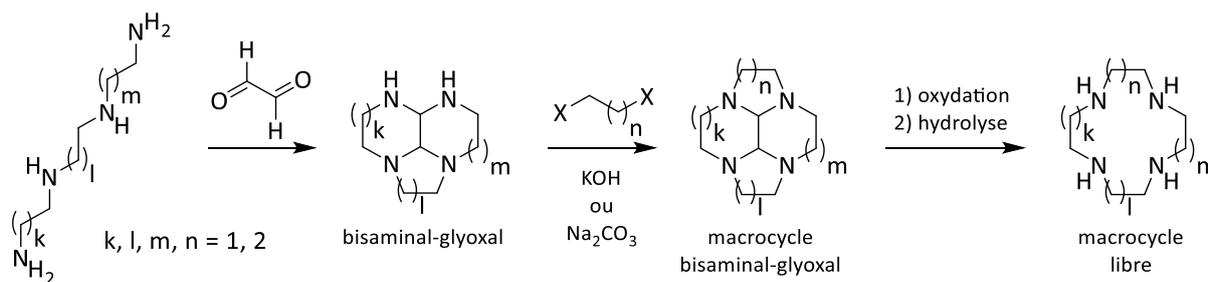


Schéma 15. Procédé de synthèse décrit dans le brevet de Bracco.

Les réactions semblables rapportées dans la littérature jusqu'à présent ne confirment la déprotection des macrocycles bisaminal-glyoxal que dans le cas du *cis*-cyclen-bisaminal, aucune ne montre la déprotection des bisaminals-glyoxal *trans* ou la déprotection d'autres macrocycles.^[164]

La grande stabilité des intermédiaires bisaminal-glyoxal et les difficultés rencontrées à les déprotéger n'ont pas découragé les équipes de recherche. Ces composés se sont révélés particulièrement intéressants en raison de la réactivité singulière de leurs fonctions amine lors de la formation d'ammoniums quaternaires. De plus, Kotek et coll.^[165] ont montré, en 2000, que les bisaminal-glyoxals ammoniums pouvaient être facilement déprotégés, ce point important sera détaillé dans la partie 1.2.c Mono- et di-N-alkylation *du* cyclam via un intermédiaire bisaminal.

En 1998, au laboratoire, Handel et coll. ont présenté une méthodologie de synthèse des macrocycles très similaire aux brevets de Nycomed® et Bracco®, conduisant à l'obtention des tétraazacycloalcanes mais, cette fois-ci, *via* des bisaminals formés à partir de la butanedione (Schéma 16).^[154] La condensation, à froid, des tétramines 232 ou 222 avec la butanedione conduit à la formation d'un seul stéréoisomère, le *cis*-géminal. La cyclisation est ensuite réalisée à l'aide d'un dérivé dihalogéné avec des rendements de 90 % sur la 232-bisaminal et de 60 % sur la 222-bisaminal. Le grand atout de cette stratégie tient essentiellement dans l'étape de déprotection des macrocycles bisaminal-butanedione qui se fait, sans difficulté et avec d'excellents rendements (> 90 %), par hydrolyse à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 10 %. Pour être isolé, le chlorhydrate du macrocycle est précipité dans l'éthanol.

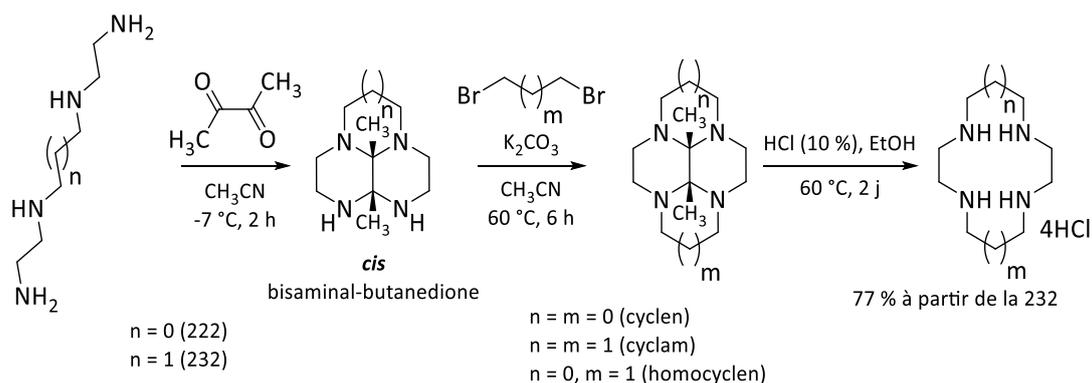


Schéma 16. Synthèse des tétraazacycloalcanes à l'aide d'intermédiaires bisaminals-butanedione.

Contrairement à l'utilisation d'une matrice métallique, cette voie de synthèse sur support organique ne produit pas de déchets métalliques (nickel ou nickel de Raney) et elle ne fait pas intervenir d'ions cyanure. Cette synthèse offre un excellent rendement global (77 %) et reste la plus économique en atome, malgré la libération du support en fin de réaction.

Ce procédé de cyclisation à l'aide d'un intermédiaire bisaminal-butanedione, simple et efficace avec seulement trois étapes de synthèse, a ensuite été adapté pour la préparation de cyclams C-fonctionnalisés :

- R. Guilard et coll.^[166] ont décrit la synthèse de plusieurs tétraazacycloalcanes portant un groupement alcool, acide carboxylique ou ester sur leur squelette carboné, isolés avec des rendements de 71 à 87 % (Schéma 17).

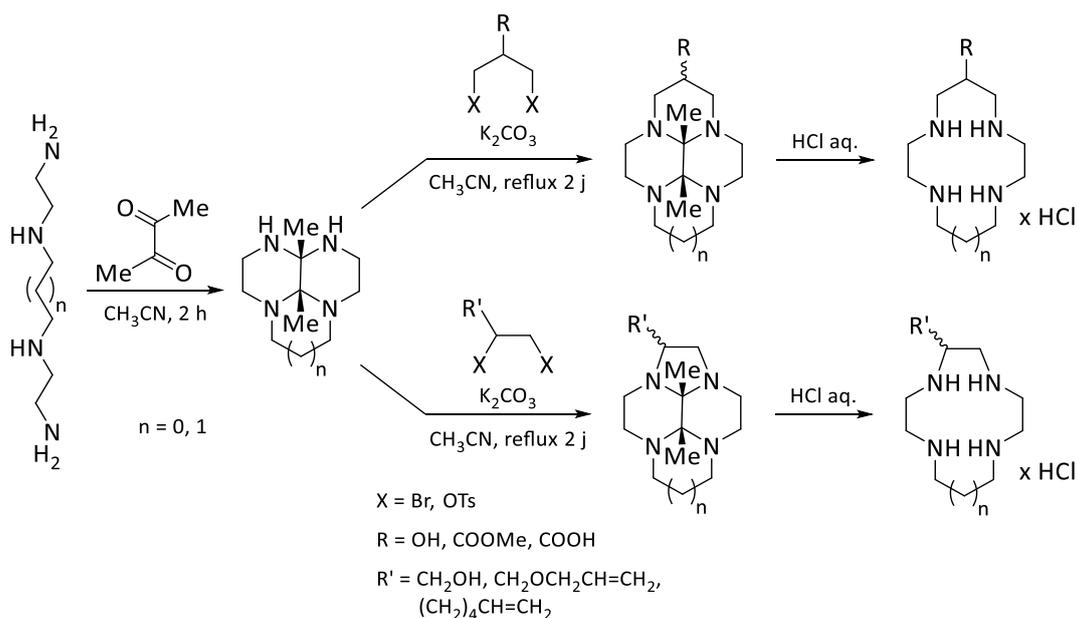


Schéma 17. Synthèses des tétraazacycloalcanes C-fonctionnalisés à l'aide d'intermédiaires bisaminals.

- Les équipes de Tregloan^[167] et d'Archibald^[168] ont rapporté les synthèses de cyclam C-fonctionnalisés par des groupements anthracényle et para-nitrobenzyle avec des rendements respectifs de 51 et 74 % (Schéma 18). Ici aussi, la tétramine est préorganisée sous forme de bisaminal-butanedione et la cyclisation est réalisée à l'aide d'un bis électrophile dibromé. Ces deux macrocycles ont été facilement déprotégés dans une solution d'acide chlorhydrique.

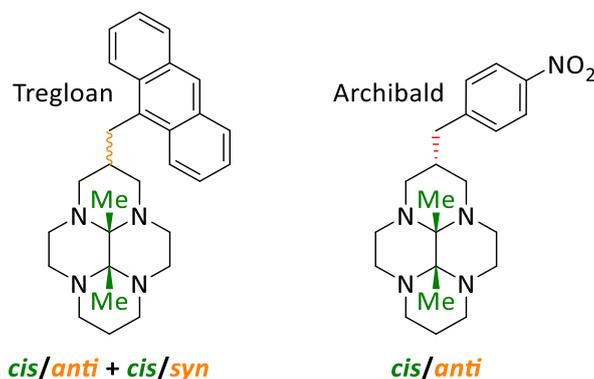


Schéma 18. Intermédiaires cyclam-bisaminal fonctionnalisés par des groupements anthracényle et p-nitrobenzyle.

Au cours de ces synthèses, la présence de l'intermédiaire bisaminal peut conduire à la formation de deux diastéréoisomères selon la position relative de la C-fonctionnalisation et des méthyles du pont bisaminal. Lorsque la fonction se trouve du même côté que les méthyles, on parle de l'isomère *cis/syn*, dans le cas contraire il s'agit de l'isomère *cis/anti*. La synthèse de Tregloan^[167] conduit à la formation d'un mélange *cis/syn* et *cis/anti* tandis que la synthèse d'Archibald^[168] conduit uniquement à la formation du composé avec la gêne stérique la plus faible, le composé *cis/anti*. Toutefois, l'existence de ces isomères n'est pas gênante, les positions relatives disparaissent lors de l'hydrolyse acide de la matrice bisaminal.

1.1.e Cyclisation entre un bisaminal et un ester α , β -insaturé

Dès les années 1980, Kimura a été un pionnier dans la préparation de dérivés de cyclam à partir de la tétramine linéaire 232 et d'esters α,β -insaturés. En 1983, il a présenté la synthèse d'un dérivé de cyclam avec une fonction amide (oxocyclam) à l'aide d'acrylate de méthyle puis a rapidement étendu sa méthode à d'autres dérivés C-fonctionnalisés.^[169,170] Cette méthode, bien qu'assez efficace pour la préparation de l'oxocyclam (reflux, 24 h, 50 %), a montré des difficultés de cyclisation lors de l'utilisation d'un dérivé portant un groupement pyridine (reflux, 16 j, 40 %) (Schéma 19).

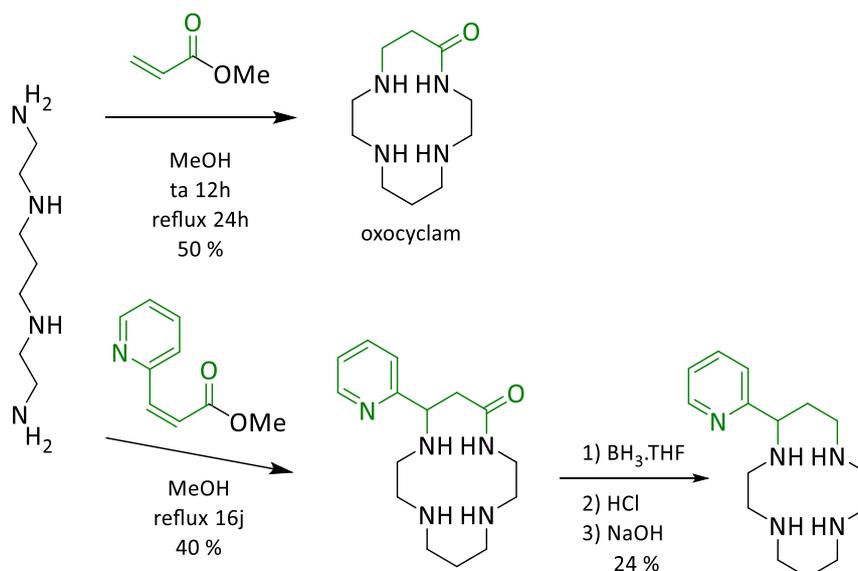


Schéma 19. Synthèses de l'oxocyclam et d'un cyclam-pyridine à l'aide d'esters α, β -insaturés.

La C-fonctionnalisation d'un atome de carbone en position α d'un atome d'azote présente l'inconvénient majeur de conduire à un composé ne possédant aucun élément de symétrie et dont la fonctionnalisation régiospécifique des atomes d'azote est particulièrement compliqué.

Trente ans plus tard, la réactivité des esters α, β -insaturés a été mise à profit, au laboratoire par Tripiet et coll., dans un brevet développé pour la synthèse de trois macrocycles C-fonctionnalisés sur un carbone en β des atomes d'azote (Schéma 20).^[12,171] La cyclisation est réalisée entre un ester α, β -insaturé et α -fonctionnalisé et un intermédiaire 232 préorganisé à l'aide de glyoxal. Les dérivés C-fonctionnalisés sont obtenus sous la forme d'un mélange *cis/syn* et *cis/anti* lorsque la réaction est faite dans le méthanol mais l'équipe a, par la suite, montré qu'il est possible de ne former que l'isomère *cis/syn* en se plaçant dans l'acétonitrile.

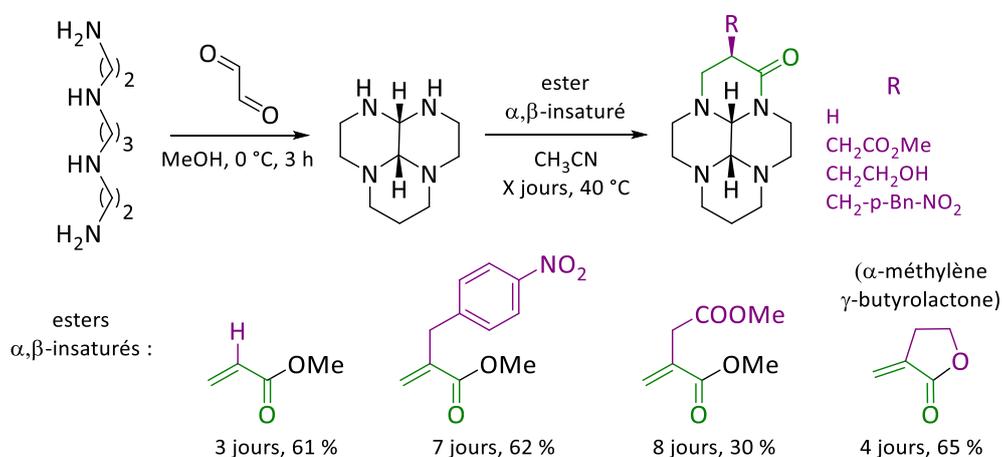


Schéma 20. Synthèse de dérivés de cyclam sur support à l'aide d'esters α, β -insaturés.

Afin de détailler le mécanisme réactionnel de l'étape de cyclisation, la réaction avec l' α -méthylène- γ -butyrolactone est présentée ci-dessous, ce réactif conduit à une C-fonctionnalisation par un groupement éthylènehydroxy (Schéma 21). La réaction débute par une addition de Michael entre l'alcène et une des amines secondaires de la 232-glyoxal et conduit à la mise en place d'un équilibre cétoénolique, étape clé dans la formation d'un ou plusieurs isomères. En effet, Tripier et coll. ont démontré que dans le méthanol les isomères *cis/syn* et *cis/anti* de la forme céto sont formés, tandis que dans l'acétonitrile, seul l'isomère *cis/syn* est observé. Il est essentiel de noter que chacun de ces isomères se trouve sous forme racémique, les deux configurations absolues, (R) et (S), des atomes de carbone asymétriques sont possibles. La forme céto évolue ensuite vers une réaction d'addition-élimination entre l'ester et la seconde amine secondaire pour mener au cyclam-C-fonctionnalisé avec sa matrice bisaminal et une fonction amide.

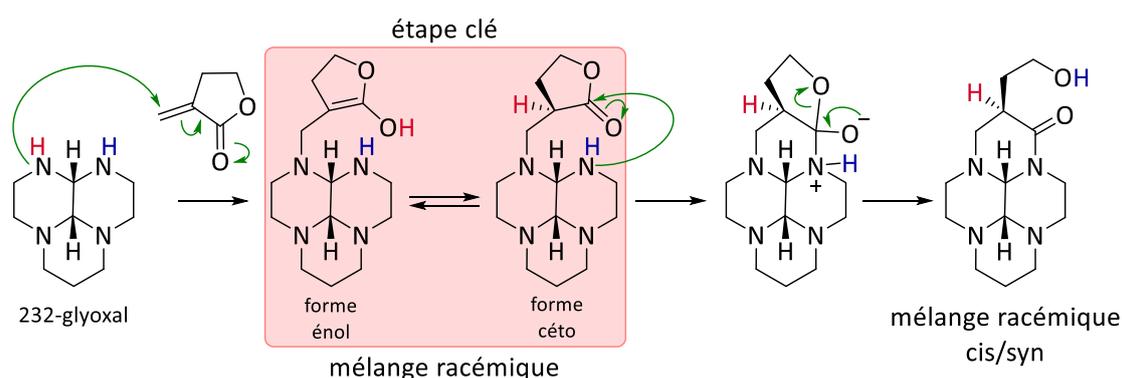


Schéma 21. Mécanisme réactionnel de la cyclisation du 232-glyoxal et de l' α -méthylène- γ -butyrolactone dans l'acétonitrile.

Les macrocycles oxo-C-fonctionnalisés sous la forme bisaminal-glyoxal ne peuvent pas être directement déprotégés mais ils présentent la même réactivité que le cyclam-glyoxal, qui sera détaillée dans la partie 1.2.c Mono- et di-*N*-alkylation du cyclam via un intermédiaire bisaminal. Le procédé de synthèse utilisant un intermédiaire bisaminal-butanedione, dont la déprotection est facile, a été rapporté par l'équipe pour la cyclisation avec l' α -méthylène- γ -butyrolactone.^[172]

Les composés macrocycliques présentés dans cette première partie ont la possibilité d'être fonctionnalisés sur les atomes d'azote, on parle alors de *N*-fonctionnalisation. Contrôler la réactivité de ces amines représentent une autre difficulté dans la synthèse des ligands azotés macrocycliques et de nombreuses stratégies ont été développées pour y parvenir.

1.2 Méthodes de *N*-fonctionnalisation du cyclam et des cyclams *C*-fonctionnalisés

Dans le cas du cyclam (comme du cyclen) les quatre atomes d'azote sont identiques en raison de deux plans de symétrie (σ), tandis que dans le cas des cyclams β -*C*-fonctionnalisés les atomes d'azote sont identiques deux à deux en raison de l'existence d'un unique plan σ , si la nature de R l'autorise (Figure 63).

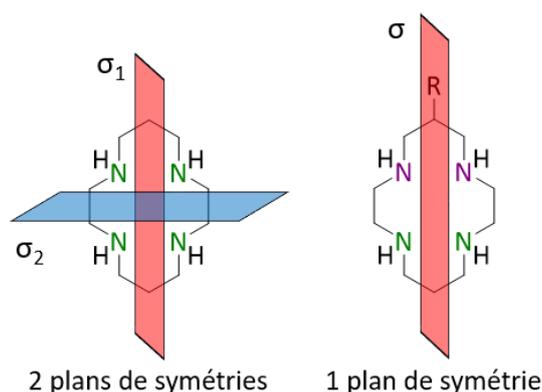


Figure 63. Structures du cyclam et d'un cyclam *C*-fonctionnalisé avec leurs éléments de symétrie.

Cette équivalence des atomes d'azote pose problème pour le contrôle sélectif de la fonctionnalisation des amines. En effet, dans l'hypothèse d'une substitution nucléophile menée selon des conditions statistiques sur le cyclam, plusieurs composés peuvent être obtenus : un composé monosubstitué, trois régioisomères pour le composé disubstitué (N^1, N^4 ou N^1, N^8 ou N^1, N^{11}), un composé trisubstitué et un composé tétrasubstitué (Figure 64).

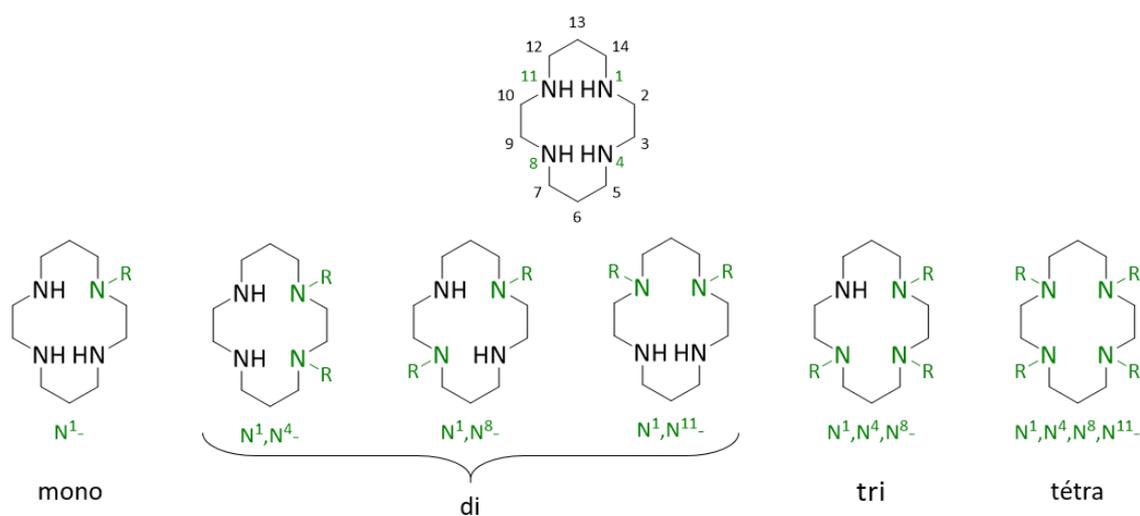


Figure 64. Structures des différents dérivés *N*-fonctionnalisés du cyclam.

La *N*-fonctionnalisation des cyclams β -*C*-fonctionnalisés peut conduire à la formation d'un nombre encore plus important de régioisomères en raison de la perte d'un plan de symétrie : deux composés monosubstitués, quatre disubstitués (N^1,N^4 ou N^1,N^8 ou N^1,N^{11} ou N^4,N^8), deux trisubstitués et un tétrasubstitué (Figure 65).

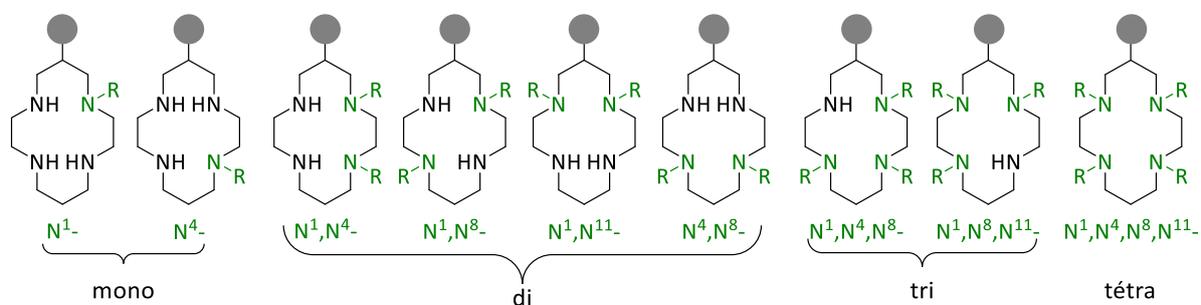


Figure 65. Structures des dérivés mono- et tri- *N*-fonctionnalisés d'un cyclam-*C*-fonctionnalisé.

Les méthodes de *N*-alkylation des composés *C*-fonctionnalisés sont semblables à celles mises en œuvre pour le cyclam mais se font plus rares dans la littérature. Dans la suite de ces rappels bibliographiques les voies de synthèse permettant d'obtenir les dérivés méthylés et ceux fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy, au centre de ce projet de thèse, seront mises en avant.

1.2.a Techniques de mono- et tri *N*-fonctionnalisation du cyclam

La mono- et la tri-*N*-fonctionnalisation peuvent être discutées simultanément car elles représentent des réactions complémentaires. En effet, l'alkylation d'une amine avec une fonction spécifique peut être réalisée de façon directe ou par la protection préalable des trois autres. De la même façon l'ajout de trois groupements peut être réalisé de façon directe ou *via* la protection préalable d'une seule amine ; l'un permet donc d'obtenir l'autre et *vice versa*.

(i) L'alkylation statistique

L'alkylation statistique est l'une des premières techniques à avoir été développée pour la fonctionnalisation du cyclam (et des autres macrocycles). Bien que de nombreux composés puissent être formés au cours d'une réaction aléatoire, tous ne se forment pas à la même vitesse et dans les mêmes proportions, il est donc possible de favoriser la formation d'un produit en particulier. Cette stratégie peut être qualifiée d'empirique car elle repose principalement sur l'utilisation d'un nombre précis d'équivalent de réactifs et de conditions

expérimentales bien définies, propre à chaque réaction. Généralement, le cyclam *N*-alkylé recherché doit être séparé des autres sous-produits d'alkylation en fin de réaction.

Wong et Li ont présenté une méthode générale de mono-*N*-fonctionnalisation pour le cyclam (et le cyclen) applicable à un grand nombre d'agents alkylants (Schéma 22).^[173] Il est possible d'introduire des groupements comme l'éthylènehydroxy (-CH₂CH₂OH), menant au **TE1EtOH**, mais également des groupements protecteurs tel que le benzyle (-CH₂Ph). La réaction est réalisée avec 2,5 équivalents de cyclam pour 1 équivalent d'électrophile en présence d'un excès de carbonate de potassium, dans l'acétonitrile. Les produits monoalkylés sont récupérés avec de bons rendements après purification sur colonne d'alumine. Cependant, la méthode est décrite pour de faibles quantités de matière, 0,5 mmol de cyclam (100 mg) dans 50 mL d'acétonitrile et la montée en échelle n'offre, malheureusement, pas les mêmes résultats.

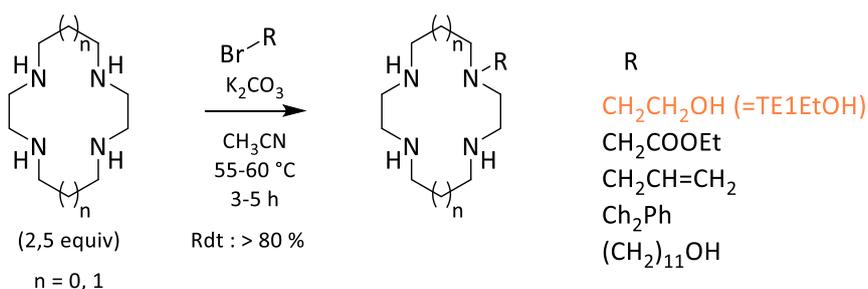


Schéma 22. Méthode général de mono-*N*-alkylation statistique.

La mono-*N*-fonctionnalisation peut également être réalisée par la séquence : triprotection statistique du macrocycle, alkylation de la dernière amine puis déprotection. C'est autour de cette stratégie que la trialkylation statistique s'est particulièrement développée et malgré trois étapes de synthèse pour aboutir au produit souhaité, cette technique peut conduire à de très bons résultats.

- En 1987, l'un des premiers exemples de trialkylation statistique du cyclam a concerné la triprotection par des groupements tosyle, proposé par Fabbrizzi et coll.^[174] Les premiers essais réalisés avec trois équivalents de tosyle par unité de cyclam et un excès de triéthylamine ont conduit à l'obtention d'un mélange de tritosyle-cyclam (35 %), de tétratosyle-cyclam (35 %) et de ditosyle-cyclam. Cependant, la séparation du tritosyle et du tétratosyle s'est avérée relativement compliquée et a conduit les auteurs à modifier les conditions

expérimentales. Ainsi, l'utilisation de deux équivalents de chlorure de tosylo a permis d'éviter la formation du tétratoylo-cyclam et d'obtenir le tritosyle-cyclam avec un rendement de 32 % (Schéma 23).

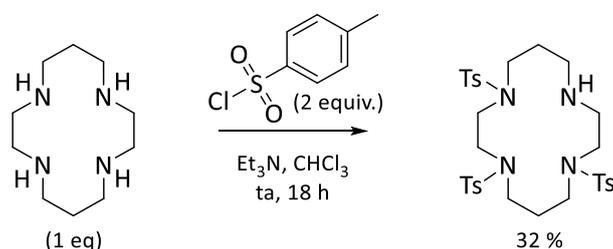


Schéma 23. Tri-*N*-protection du cyclam par des groupements Ts.

Ce composé triprotégé a ensuite été engagé dans des réactions de substitution nucléophile, notamment par Wainwright et coll., en 1997, pour la première synthèse du **TE1EtOH** (Schéma 24).^[175] Le tritosyle-cyclam est fonctionnalisé à l'aide d'oxyde d'éthylène, époxyde gazeux particulièrement réactif, puis le produit obtenu est déprotégé par hydrolyse dans de l'acide sulfurique à 105 °C pendant trois jours.

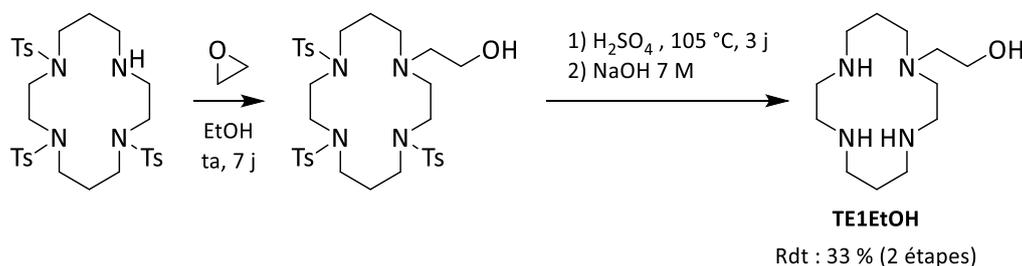


Schéma 24. Synthèse du **TE1EtOH** à l'aide d'un intermédiaire tritosyle-cyclam.

L'utilisation du tritosyle-cyclam permet donc d'obtenir un composé mono-*N*-alkylé, cependant, l'étape d'hydrolyse des *N*-tosyles dans l'acide sulfurique ne convient pas à tous les groupements fonctionnels. C'est pourquoi, la triple protection statistique à l'aide d'autres groupes protecteurs, ayant des conditions de déprotection plus douces, a été développée.

- En 1996, R. Guilard et coll. ont mis au point la méthode de synthèse d'un cyclam triprotégé avec des groupements Boc dont l'hydrolyse s'effectue à température ambiante dans l'acide tels que l'acide chlorhydrique, l'acide bromhydrique ou l'acide TriFluoroAcétique (TFA).^[176] Les conditions rapportées mettent en jeu 2,4 équivalents de dicarbonate de di-tert-butyle (Boc₂O) pour un équivalent de cyclam à température ambiante. Dans ces conditions, il se forme les dérivés tétra-, tri- et di-protégés. Le triBoc-cyclam est isolé, après colonne

chromatographique sur gel de silice, avec un rendement de 67 %. Des conditions permettant d'améliorer le rendement ont été proposées par Fabbrizzi en 2002^[177] puis par Herrero en 2014 (Schéma 25).^[178] Les conditions expérimentales optimales mettent en jeu 3 équivalents de Boc₂O en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane : 1,7 équivalents sont ajoutés lentement à température ambiante puis les 1,3 équivalents restant sont ajoutés très lentement à -15 °C. Dans ces conditions, la formation du tétraBoc- et du diBoc-cyclam est modérée et le triBoc-cyclam, majoritairement formé, est isolé avec 86 % de rendement.

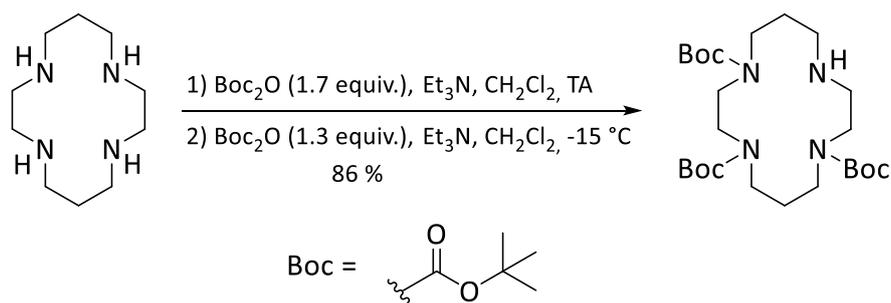


Schéma 25. Tri-N-protection du cyclam par des groupements Boc.

- La triprotection avec des groupements TriFluoroAcétyle (notés pour des raisons de commodités TFA) qui s'éliminent en milieu basique, NaOH dilué à température ambiante, constitue une alternative aux Boc. Ainsi, il est possible de choisir le groupement protecteur en fonction de la résistance aux conditions acides ou basiques du groupement fonctionnel que l'on souhaite introduire sur le cyclam. La synthèse de ce composé, proposée par Moore^[179] en 2003, consiste à ajouter quatre équivalents de trifluoroacétate d'éthyle sur une solution de cyclam dans du méthanol en présence de triéthylamine (Schéma 26).

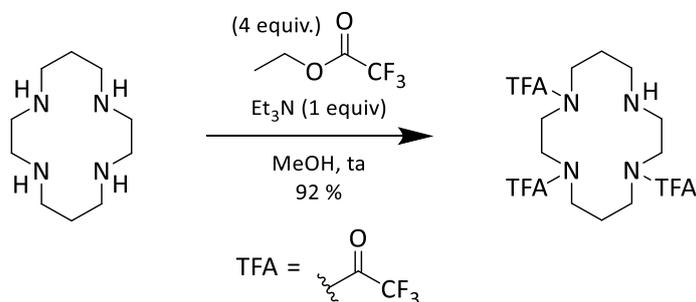


Schéma 26. Tri-N-protection du cyclam par des groupements TriFluoroAcétyle (TFA).

L'utilisation d'un large excès de trifluoroacétate d'éthyle a montré que le TFA₄cyclam ne se forme quasiment pas au cours de la réaction. Le TFA₃cyclam souhaité, purifié sur une colonne de silice éluée avec de l'acétate d'éthyle, est isolé avec un rendement de 92 %.

Van Halfen et Young ont rapporté en 2004 une séquence de protection/déprotection basée sur les groupements TFA pour la synthèse en 5 étapes du 1,4,8-triméthylcyclam.^[180] Le cyclam est tout d'abord triprotégé à l'aide de groupements TFA puis la dernière amine secondaire est protégée avec un groupement tosyloyle, orthogonale aux TFA. Ces derniers sont hydrolysés à l'aide de potasse et le monotosylcyclam obtenu est triméthylé par une réaction de Eschweiler-Clarke (E-C, *vide infra*). Enfin, le tosyloyle est éliminé avec un mélange d'acide bromhydrique et d'acide acétique dans le phénol pour obtenir le 1,4,8-triméthylcyclam avec un rendement global de 57 % (Schéma 27). Bien que le rendement de chaque étape soit très bon, cette voie de synthèse n'est absolument pas économe en atomes.

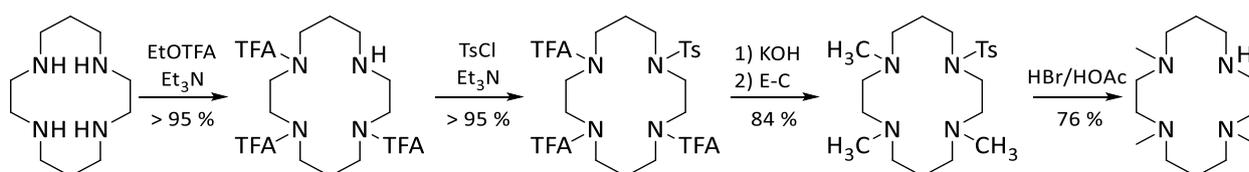


Schéma 27. Préparation du 1,4,8-triméthylcyclam par Halfen et Young.

La réaction de méthylation utilisée par Halfen et Young, appelée réaction de Eschweiler-Clarke^[181] ou méthylation douce, permet d'obtenir le dérivé *N*-méthyle d'une amine secondaire ou *N,N*-diméthyle d'une amine primaire, sans risque de suralkylation. Elle consiste à additionner du formaldéhyde sur une amine pour former, après élimination d'eau, un iminium, qui en présence de formiate, est rapidement réduit en *N*-méthyle (Schéma 28).

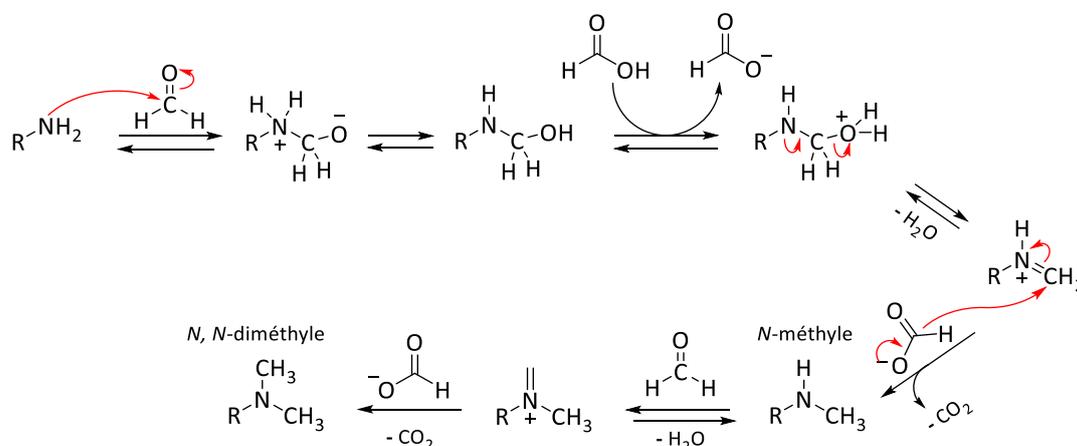


Schéma 28. Mécanisme de la réaction de Eschweiler-Clarke.

Tous les exemples présentés ci-dessus montrent que, sous contrôle, la mono- ainsi que la tri-*N*-fonctionnalisation du cyclam par des méthodes statistiques sont possibles avec des rendements corrects. Cependant, quelle que soit la stratégie choisie, la fonctionnalisation directe ou *via* la protection des autres amines, les réactions ne sont pas économiques en atomes et nécessitent souvent une, voire plusieurs, purifications par chromatographie.

(ii) Les groupements triprotecteurs

Dans les années 1990, notre laboratoire a mis au point une stratégie originale de mono-*N*-fonctionnalisation mettant en jeu un groupement protégeant simultanément trois amines. Ainsi, Handel et coll. ont développé des voies de synthèse pour l'obtention du cyclam (ou du cyclen) triprotégés par un groupement phosphoryle (PO),^[182] par un atome de bore (B)^[183] ou par des métaux tricarbonyles du groupe 6 comme le chrome et le molybdène ($\text{Cr}(\text{CO})_3$ ou $\text{Mo}(\text{CO})_3$) (Figure 66).^[184] A la différence de l'alkylation statistique qui conduit à la formation de produits secondaires, cette nouvelle stratégie de protection mène de manière univoque au cyclam tri-*N*-protégé.

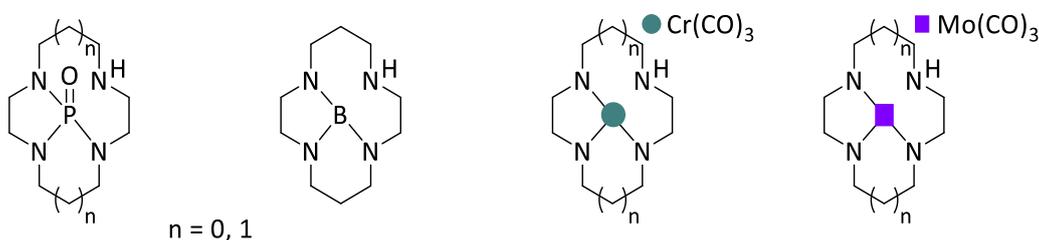


Figure 66. Cyclams protégés par des groupements trivalents.

Le cyclam-phosphoryle et le cyclam-bore sont respectivement obtenus à partir de la tris(diméthylamino) phosphine $\text{P}(\text{NMe}_2)_3$ ou borane $\text{B}(\text{NMe}_2)_3$ et les complexes tricarbonyles à partir des métaux hexacarbonyles correspondants. Les composés triprotégés formés peuvent ensuite être monofonctionnalisés avec divers électrophiles en présence de carbonate de sodium (butyllithium nécessaire pour la fonctionnalisation du cyclam-bore). Les conditions de déprotection de ces composés sont généralement plus douces que celles utilisées pour les groupements tosylo et Boc. Le cyclam phosphoryle s'hydrolyse facilement à température ambiante dans l'acide chlorhydrique dilué (0,5 M), le cyclam-bore s'hydrolyse simplement en présence d'eau^[183] et les complexes des métaux tricarbonyles s'oxydent à l'air en milieu acide.

Ces conditions douces de déprotection, particulièrement celles du cyclam-bore, permettent d'envisager l'insertion de groupements sensibles.

1.2.b Techniques de di-*N*-fonctionnalisation du cyclam

(i) Alkylation statistique

La dialkylation statistique du cyclam est à priori plus compliquée car elle conduit potentiellement à l'obtention de trois régioisomères (Cf. Figure 64, page 98). Les quelques réactions rapportées dans la littérature montrent, en effet, la difficulté à synthétiser sélectivement chaque régioisomère *via* cette stratégie. A titre d'exemple, R. Guilard a présenté, en 1995, une synthèse du composé N¹,N⁸-diBoc-cyclam au cours de laquelle plusieurs isomères de position se forment (Schéma 29).^[185] L'addition de 1,8 équivalents de Boc₂O sur une solution de cyclam dans le dichlorométhane conduit à l'obtention des dérivés N¹,N⁸- et N¹,N¹¹- diBoc-cyclam avec des rendements respectifs de 25 % et 39 % ; le composé N¹,N⁴-diBoc ne se forme pas mais du N¹,N⁴,N⁸-triBoc se forme à hauteur de 19 %.

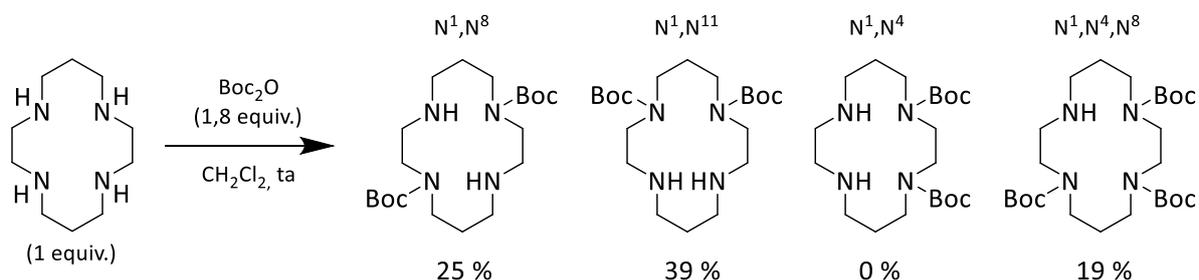


Schéma 29. Synthèse du cyclam diprotégé par des groupements Boc.

Comme le suggère les résultats ci-dessus, la dialkylation statistique n'est manifestement pas une stratégie efficace pour obtenir un régioisomère spécifique de façon univoque et d'autres méthodes doivent être envisagées.

(ii) Le cyclam dioxamide

Au laboratoire, une stratégie de synthèse des composés N¹,N⁴-dialkylés s'appuyant sur la protection de deux fonctions amine sous forme d'amides a été mise au point à partir du cyclam (et du cyclen). Le cyclam dioxamide, a été synthétisé pour la première fois par Mishnev et coll. en 1994 avec un rendement de 50%.^[186] En 1999, Handel et coll. ont rapporté une voie de synthèse menant aux composés 1,4-disubstitués (Schéma 30).^[187] Le cyclam dioxamide est

obtenu par condensation du cyclam et de l'oxalate de diéthyle avec un rendement de 82 %. La dialkylation a été réalisée à l'aide de divers groupements : benzyle, pycolye, acétate de tert-butyle ou encore propyle et cela avec d'excellents rendements. La déprotection est effectuée dans une solution de soude à température ambiante pour obtenir les cyclams N^1, N^4 -disubstitués recherchés.

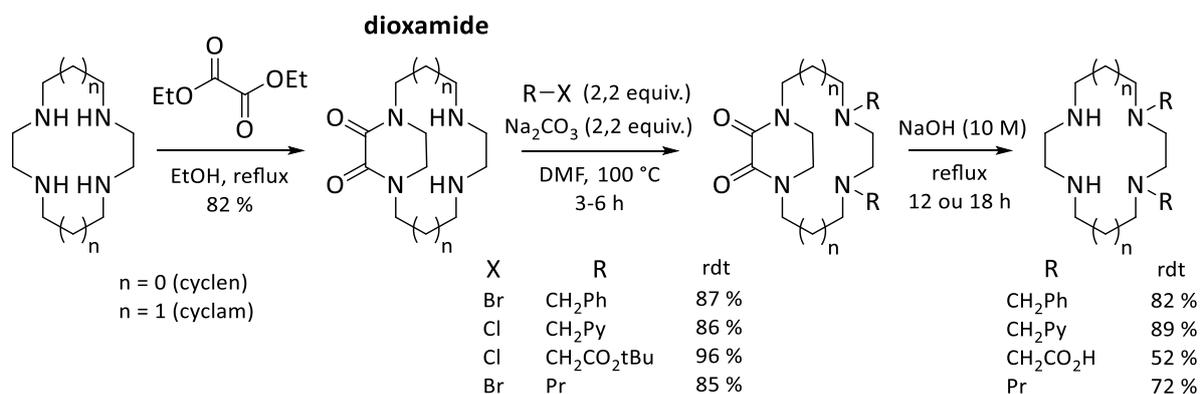


Schéma 30. Synthèse de cyclams N^1, N^4 -disubstitués à l'aide du cyclam dioxamide.

Ce procédé de synthèse a été utilisé pour introduire deux groupements différents en position N^1 et N^4 , néanmoins, cela revient à faire de l'alkylation statistique sur le cyclam-dioxamide.

1.2.c Mono- et di-*N*-alkylation du cyclam via un intermédiaire bisaminal

La chimie des cyclams bisaminals s'est largement développée en tirant profit de leur réactivité particulière pour la synthèse sélective de dérivés monoalkylés et N^1, N^8 -dialkylés.^[165] Comme nous l'avons vu précédemment (Cf. Cyclisation sur support organique Cyclisation), le cyclam-glyoxal ne peut être déprotégé. Néanmoins, l'étude de ce composé a montré qu'il présente deux atomes d'azote nucléophiles (accessibles) et deux autres non réactifs (non-accessibles).^[188] La représentation plane de la molécule laisse supposer que tous les atomes d'azote sont identiques mais la structure tridimensionnelle, particulièrement contrainte, ne possède pour seul élément de symétrie qu'un un axe C_2 (Figure 67).

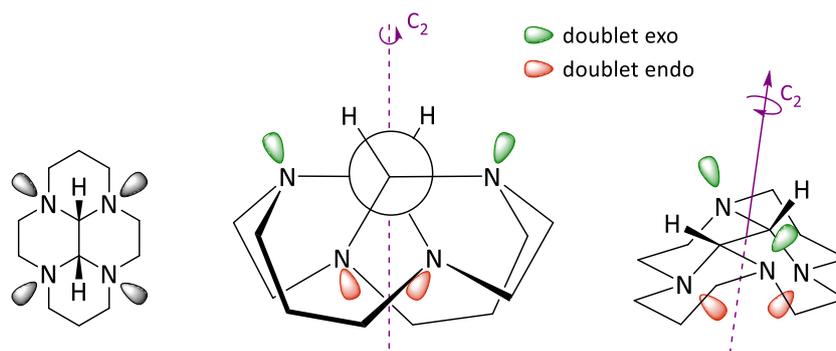


Figure 67. Structure et réactivité du *cis*-cyclam-glyoxal.

Ces structures montrent l'orientation des doublets non liants des quatre atomes d'azote, deux doublets, dits **endo**, se trouvent à l'intérieur de la cavité et sont non accessibles tandis que les deux autres, dits **exo**, sont orientés vers l'extérieur et sont disponibles pour une réaction. Par conséquent, le cyclam-glyoxal ne peut être alkylé qu'en position N¹ et N⁸.^[189] Une fois sous forme d'ammonium, les composés de configuration **cis** peuvent être déprotégés tandis que les composés de configuration **trans** demeurent inertes.^[165,190]

La formation d'un sel d'ammonium des composés bisaminals nécessite l'utilisation d'un électrophile activé ou très réactif. A notre connaissance, les seuls dérivés utilisés pour ce type d'alkylation sont les dérivés de bromure de benzyle, les esters de bromoacétate (méthyle, éthyle, *tert*-butyle...), le bromure de picolyne ou l'iodométhane.^[191] De plus, Hermann et coll. ont montré la possibilité d'isoler sélectivement le composé mono ou difonctionnalisé en raison de la rapidité avec laquelle intervient la première addition par rapport à la seconde, plus difficile et donc plus lente.^[165] Cette différence de réactivité a été exploitée en vue de réaliser deux monoalkylations successives avec deux électrophiles différents afin d'obtenir un cyclam disubstitué non symétrique (Schéma 31).^[165] Lorsque la solubilité des réactifs le permet, réaliser la réaction de monoalkylation dans l'acétone ou le tétrahydrofurane (THF) permet de précipiter le premier sel d'ammonium et ainsi empêcher la seconde alkylation.

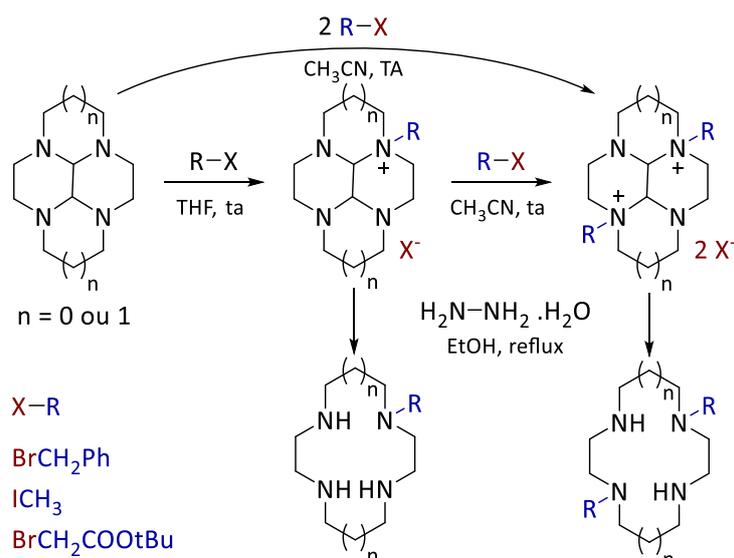


Schéma 31. Synthèse de cyclams N¹,N⁸-dialkylés à partir du cyclam-glyoxal.

Ces réactions de fonctionnalisation sont parfaitement univoques, le précipité récupéré est tout simplement lavé avec le solvant de réaction et aucune autre purification n'est nécessaire. Une fois la réaction terminée, le sel d'ammonium ou de diammonium est libéré de son support en quelques heures à l'aide d'hydrazine dans l'éthanol ou d'une solution aqueuse de soude à reflux.^[190] La chimie des composés bisaminals permet d'éviter le recourt aux groupements protecteurs tels que le tert-butoxycarbone (Boc) ou le tosylo (Ts) et, par conséquent, engendre une importante économie d'atomes. Le cyclam-glyoxal est un excellent intermédiaire pour accéder aux composés mono- et tri-fonctionnalisés (réactions complémentaires) ainsi qu'aux dérivés N¹,N⁸-difonctionnalisés.

Cette méthode s'applique également à la fonctionnalisation des cyclam-glyoxals C-fonctionnalisés obtenus suite à la réaction entre un bisaminal de tétramine linéaire et un ester α,β -insaturé présentées précédemment (Cf. 1.1.e Cyclisation entre un bisaminal et un ester α,β -insaturé). Le brevet déposé au laboratoire par Tripier et coll.^[12] a été étendu à l'obtention des cyclams C-fonctionnalisés libres, obtenus grâce à la déprotection des sels d'ammonium (Schéma 32). Pour ce faire, le macrocycle bisaminal est alkylé à l'aide de bromure de benzyle en position N¹ et N⁸, puis libéré de son support à l'aide d'hydrate d'hydrazine. Enfin, le composé dibenzyle peut être engagé dans d'autres réactions de fonctionnalisation et/ou libéré de ces groupements protecteurs par hydrogénélyse catalytique.

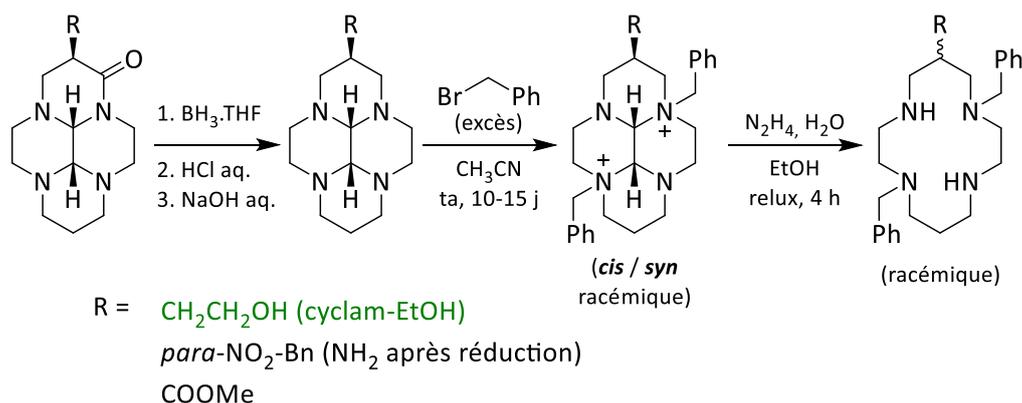


Schéma 32. Processus de dialkylation et déprotection des cyclams C-fonctionnalisés-bisaminals.

Par la suite, l'équipe a montré que l'oxocyclam-glyoxal utilisé précédemment avait également une réactivité singulière : une seule amine est suffisamment nucléophile pour permettre une fonctionnalisation. En effet, l'étude expérimentale appuyée par des calculs DFT (« Density Functional Theory ») ont montré que ces composés ne peuvent être alkylés que sur une seule position (Schéma 33).^[171]

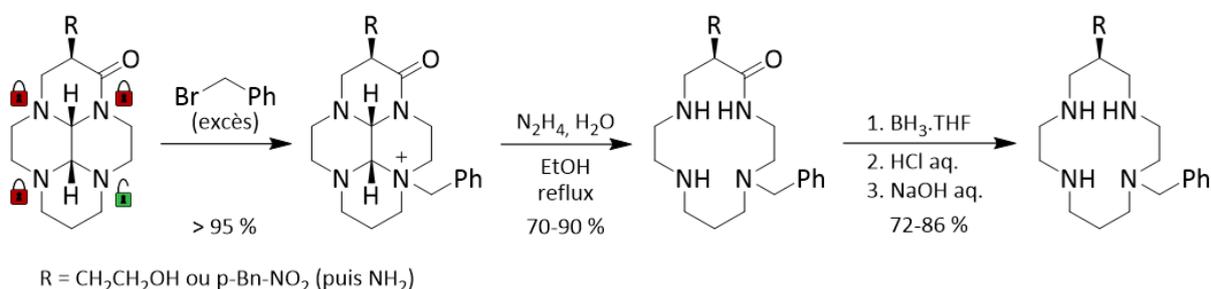


Schéma 33. Synthèse de cyclam-C-fonctionnalisés et mono-N-alkylés.

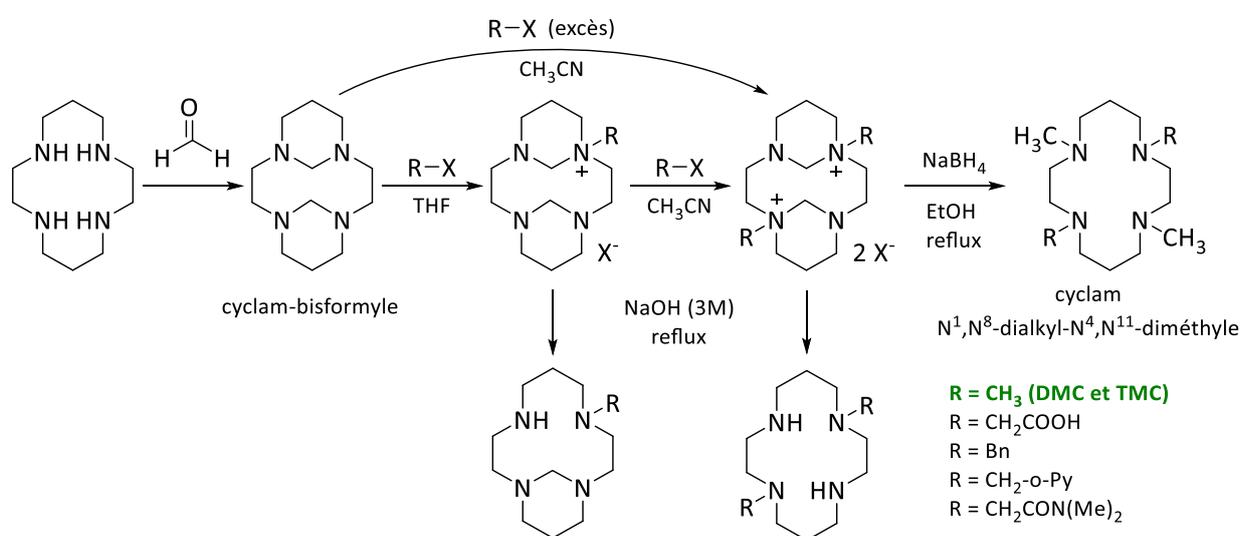
Cette propriété particulièrement intéressante a permis au laboratoire de développer une voie de synthèse univoque des cyclams C-fonctionnalisés monoalkylés, là où une réaction statistique conduit à la formation de deux isomères de position.^[16,171]

1.2.d Mono- et di-N-alkylation du cyclam via un intermédiaire bisformyle

Un autre composé impliquant deux fonctions aminal s'est révélé particulièrement utile pour les réactions d'alkylation spécifiques : le cyclam-bisformyle, obtenu en 1998 par R. Guilard, par condensation du cyclam et du formaldéhyde (Schéma 34).^[192] Ce composé ne présente pas de stéréoisomère (*cis* ou *trans*) et permet également de réaliser une N¹,N⁸-dialkylation (Schéma 34). Grâce à sa structure moins contrainte, des électrophiles moins

réactifs peuvent être utilisés et la double substitution est nettement plus rapide : 24 h suffisent avec du bromure de benzyle contre 21 jours pour le cyclam-glyoxal.

Une fois encore, il est possible d'isoler le mono-ammonium en réalisant la réaction dans du THF (ou Et₂O) ou directement le diammonium en opérant avec deux équivalents d'électrophile dans l'acétonitrile.^[193] La déprotection se fait à l'aide d'une solution de soude (3 M) à reflux pour obtenir le cyclam N¹,N⁸-disubstitué. Il est également possible d'engager le diammonium dans une réduction avec du borohydrure de sodium pour former le composé N¹,N⁸-dialkyl-N⁴,N¹¹-diméthyle.



Ce procédé a permis à Guilard et coll. de synthétiser, de manière très efficace et sans aucune purification complexe, le 1,8-diméthyl-cyclam (**DMC**) et le 1,4,8,11-tétraméthyl-cyclam (**TMC**) avec des rendements supérieurs à 70 %.^[192]

1.2.e Techniques de tétra-N-fonctionnalisation du cyclam

La tétra-fonctionnalisation reste la plus simple à conceptualiser. Que ce soit sur le cyclam ou sur un cyclam C-fonctionnalisé, il s'agit de faire réagir toutes les amines secondaires. Cependant, l'encombrement stérique, les effets électroniques des groupements ajoutés ou encore la suralkylation (formation d'ammonium quaternaire) peuvent rendre difficile l'obtention exclusive du composé tétralkylé (*Cf.* triprotection avec le groupement TFA : le TFA₄cyclam ne se forme pas).

A titre d'exemple de tétralkylation, en 1974, Buxtorf et Kaden^[194] ont synthétisé le **TMC** par une réaction d'Eschweiler-Clarke. C'est une méthode de choix pour la méthylation du cyclam car, comme vu précédemment (1.2.a Techniques de mono- et tri-*N*-fonctionnalisation du cyclam), elle évite la suralkylation des amines et ne conduit à terme qu'à la formation du **TMC**, il n'est pas possible d'isoler les intermédiaires mono-, di- et tri-méthylés.

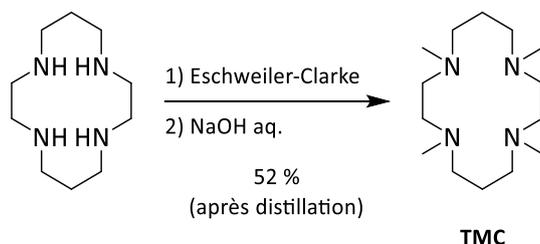


Schéma 35. Synthèse du **TMC** par Buxtorf et Kaden.

Ce procédé a permis d'obtenir le **TMC** en une seule étape de synthèse avec 52 % de rendement après distillation. La réaction de Eschweiler-Clarke est une technique de méthylation douce efficace, cependant, l'utilisation d'un intermédiaire cyclam-bisformyle a permis d'obtenir le **TMC** (et le **DMC**) avec un rendement supérieur malgré 3 étapes de synthèse.

1.3 Préparation de cyclams contraints

Les sels d'ammonium du cyclam-glyoxal peuvent être utilisés comme précurseurs pour la préparation de macrocycles dits renforcés "side-bridged"^[195] (SB) et "cross-bridged"^[196] (CB)^[196] (Figure 68). Ces composés sont dits renforcés car ils possèdent une géométrie contrainte, imposée par un pont éthylénique entre deux atomes d'azote adjacents (SB) ou opposés (CB).

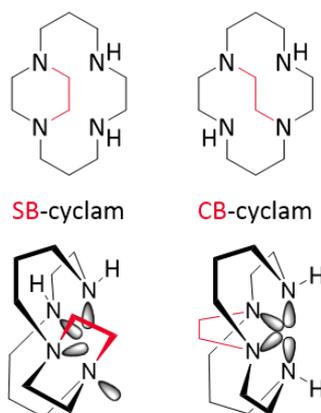


Figure 68. Structure des composés contraints "side-bridged" et "cross-bridged".

Cette contrainte conformationnelle impose une orientation particulière aux doublets non liants des atomes d'azote : trois à l'intérieur de la cavité et un à l'extérieur pour le SB-cyclam et les quatre vers l'intérieur pour le CB-cyclam.^[196,197] Cette propriété conduit à une basicité accrue, marquée par une constante de première protonation supérieure à 12, ayant justifié le surnom d'« éponge à proton » des cyclams renforcés.

1.3.a Cyclams renforcés "side-bridged"

Le cyclam "side-bridged" (SB-cyclam) a été synthétisé pour la première fois par Wainwright en 1980.^[198] Les composés mono-ponté et di-ponté sont obtenus par ajout de dibromoéthane sur le cyclam avec des rendements respectifs de 30 % et 5 % (Schéma 36). Par cette voie, la purification du SB-cyclam est laborieuse et nécessite plusieurs sublimations successives.

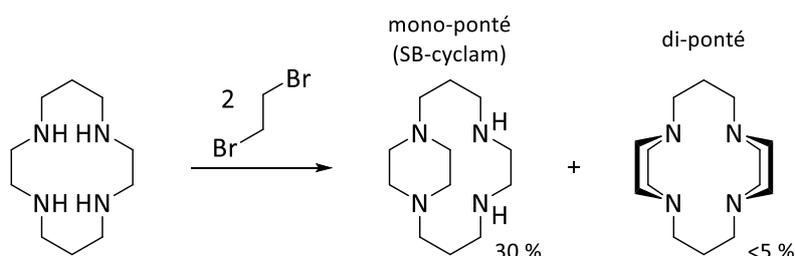


Schéma 36. Première synthèse du SB-cyclam par Wainwright.

En 1981, Yamamoto et coll. ont proposé la synthèse du SB-cyclam par une réaction de condensation du cyclam et du glyoxal suivie de la réduction du bisaminal à l'aide d'hydrure de diisobutylaluminium pour former un cycle pipérazine (Schéma 37).^[199] Ce réducteur est le seul à avoir permis la réduction du cyclam-glyoxal, inerte face à tous les autres réactifs.

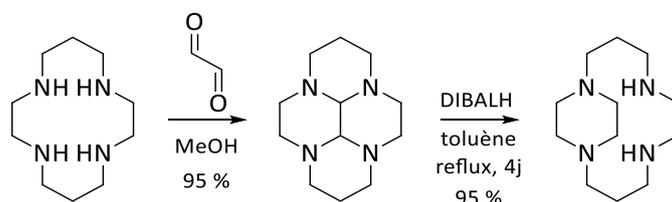


Schéma 37. Synthèse du "side-bridged" cyclam proposée par Yamamoto.

En 1995, Kolinski a proposé une nouvelle voie de synthèse,^[195] s'appuyant sur des travaux de Weisman^[200] et Stringfellow^[201], conduisant au SB-cyclam monobenzyle (Schéma 38). Le cyclam-glyoxal est monoalkylé à l'aide d'un équivalent de bromure de benzyle avec

62 % de rendement, puis, l'espèce mono-ammonium est réduite avec du borohydrure de sodium pour former un pont éthylène entre les atomes d'azotes adjacents avec 96 % de rendement. Le groupement benzyle peut éventuellement être éliminé par hydrogénolyse catalytique.

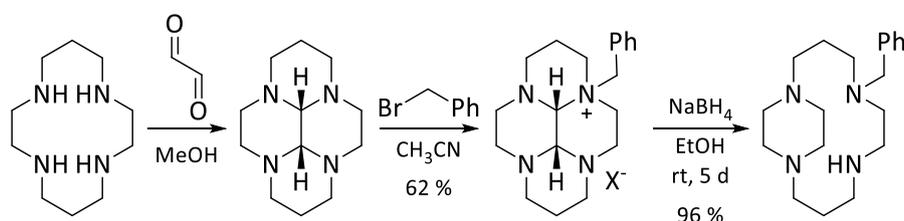


Schéma 38. Synthèse du "side-bridged" cyclam par Kolinski.

Le mécanisme proposé pour cette réaction fait tout d'abord intervenir l'équilibre ammonium / iminium possible sur le carbone aminor, ce qui permet de réaliser la première réduction par BH_4^- (Schéma 39). La seconde réduction fait intervenir l'hydrolyse du second aminor pour former un hémiaminal. Au cours de cette étape, la rupture de la liaison carbone-azote se fait en faveur de la formation d'un cycle à 6 chaînons pipérazine plutôt que du cycle à 10 atomes. Enfin l'hémiaminal est réduit pour donner le pont éthylène "side-bridged".

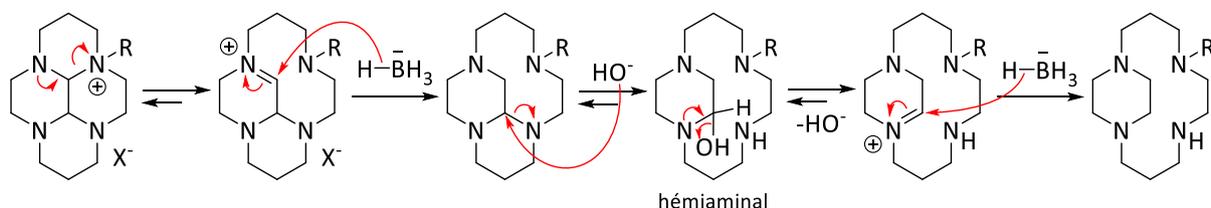


Schéma 39. Mécanisme réactionnel de la formation du pont "side-bridged" à partir d'un bisaminale monoalkylé.

Notre laboratoire a démontré que cette voie de synthèse peut être utilisée avec des cyclams C-fonctionnalisés pour conduire aux dérivés "side-bridged" monofonctionnalisés ou simplement "side-bridged" après hydrogénolyse du groupement benzyle.^[197]

1.3.b Cyclams renforcés "cross-bridged"

En 1990, Weisman et coll.^[200] ont rapporté la première synthèse d'un dérivé cyclam "cross-bridged" (Schéma 40). Le cyclam-glyoxal est dialkylé à l'aide d'iodométhane puis le sel de diammonium est réduit à l'aide de borohydrure de sodium pour conduire à la formation

d'un pont éthylène "cross-bridged" ; le cross-bridged diméthylcyclam (**CB-DMC**) est obtenu avec 61 % de rendement global.

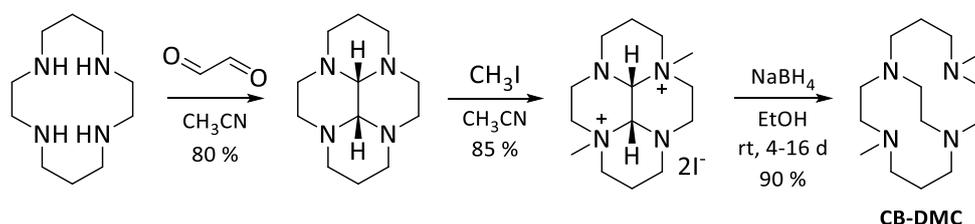


Schéma 40. Synthèse du "cross-bridged" diméthylcyclam (**CB-DMC**) par Weisman.

Plus tard, en 1996, Weisman et coll. ont proposé une voie de synthèse permettant d'obtenir le "cross-bridged" cyclam (**CB-cyclam**).^[202] L'alkylation du cyclam-glyoxal est réalisée à l'aide de deux équivalents de bromure de benzyle, le sel de diammonium obtenu est ensuite réduit par du borohydrure de sodium puis les groupements benzyle sont éliminés par hydrogénolyse catalysée au palladium pour conduire au **CB-cyclam** avec un rendement global de 66 %.

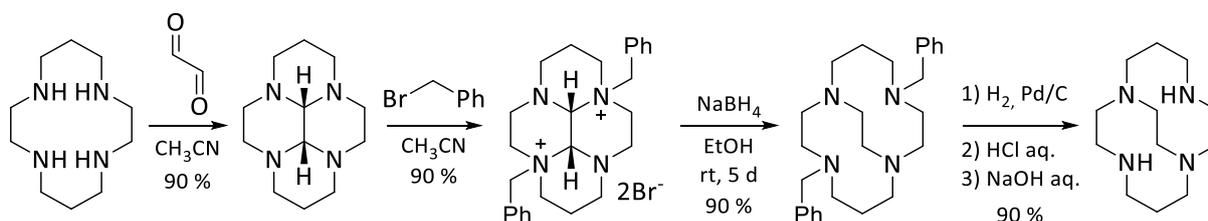


Schéma 41. Synthèse du **CB-cyclam** par Weisman.

Le mécanisme réactionnel proposé par les auteurs fait intervenir deux équilibres ammonium / iminium successifs sur les atomes de carbone aminaux qui sont réduits par le borohydrure de sodium pour former le pont éthylène "cross-bridged" (Schéma 42).^[189]

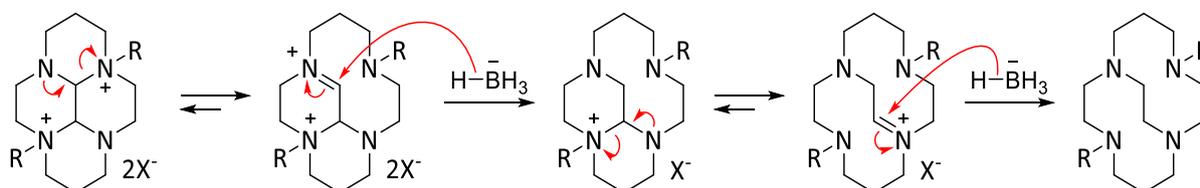


Schéma 42. Mécanisme réactionnel de formation du pont éthylène "cross-bridge".

En 2004, l'équipe d'Archibald a rapporté l'obtention de dérivés "cross-bridged" de cyclams C-fonctionnalisés en suivant le même procédé de synthèse.^[203]

Finalement, les dérivés de cyclam-glyoxal ammonium sont des intermédiaires particulièrement intéressants car ils peuvent être engagés dans une réaction de déprotection du pont bisaminal pour conduire à la mono- ou di-fonctionnalisation mais également dans une réduction pour mener à un composé renforcé "side-bridged" ou "cross-bridged".

1.4 Conclusion

Ces rappels bibliographiques relatent les principales techniques développées pour la préparation du cyclam ainsi que celles adaptées pour l'obtention de cyclams C-fonctionnalisés. La plus marquante est, selon nous, la cyclisation à l'aide d'une matrice organique bisaminal qui est celle utilisée aujourd'hui dans notre laboratoire. Ils rassemblent également une liste non-exhaustif des méthodes de N-fonctionnalisation permettant d'obtenir assez efficacement les dérivés mono-, di- et tri-fonctionnalisés. Enfin, ils regroupent les voies de synthèse conduisant aux dérivés contraints "side-bridged" et "cross-bridged". La deuxième partie de ce chapitre sera consacrée à la présentation et à la discussion des travaux de synthèse réalisées au cours de ces trois années de thèse et qui s'appuient pleinement sur les méthodes rappelées ici.

2. Résultats et Discussion

Le projet visait à étudier trois séries de ligands : des dérivés du cyclam, leurs analogues C-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy ainsi que des dérivés N-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy. Pour les besoins de l'étude, les dérivés méthylés et renforcés du cyclam (Figure 69) ont été synthétisés à l'échelle de plusieurs grammes en suivant les protocoles décrits dans la littérature et présentés précédemment.

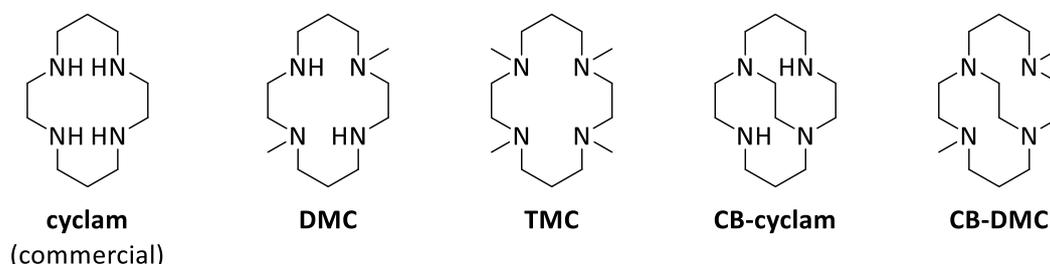


Figure 69. Structures des dérivés de cyclam non-C-fonctionnalisés étudiés.

La synthèse des autres composés a nécessité la mise au point de voies de synthèse que nous avons cherché à rendre le plus efficace possible afin de produire les ligands à l'échelle du gramme.

2.1 Synthèse des dérivés du cyclam C-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy

Au cours de ces travaux nous nous sommes intéressés à la préparation des dérivés méthylés et contraints du cyclam C-fonctionnalisé par un groupement éthylènehydroxy, le **cyclam-EtOH (3)**. L'objectif a été de préparer une série de composés analogues à ceux non-C-fonctionnalisés déjà décrits dans la littérature (Figure 70).

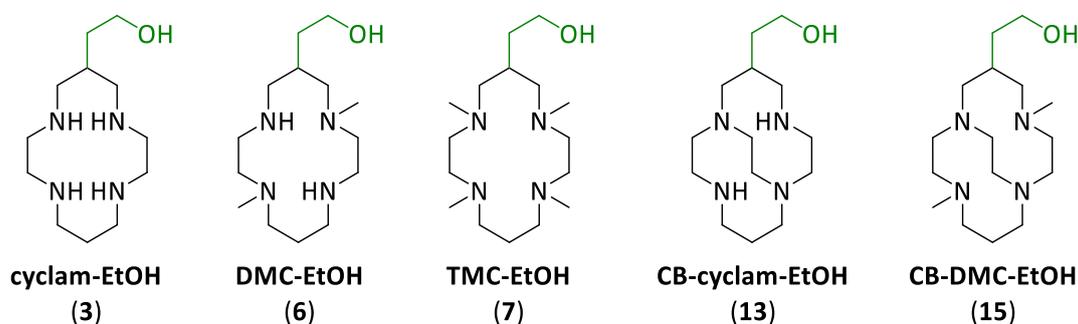


Figure 70. Structures des dérivés C-fonctionnalisés ciblés.

Parmi ces cinq composés, deux ont déjà été décrits par notre laboratoire : le **cyclam-EtOH (3)**^[171,204] ainsi que le **CB-cyclam-EtOH (13)**.^[171] Les voies de synthèse des dérivés **DMC-EtOH (6)** et **TMC-EtOH (7)** ont fait l'objet d'études lors de la thèse du Dr. N. Camus au laboratoire et le dérivé contraint **CB-DMC-EtOH (15)** n'a jamais été décrit. Néanmoins, tous les composés, y compris ceux déjà connus, ont dû être synthétisés, ou synthétisés de nouveaux, à l'échelle du gramme.

2.1.a Synthèse des dérivés méthylés DMC-EtOH et TMC-EtOH

La synthèse des deux dérivés méthylés **DMC-EtOH (6)** et **TMC-EtOH (7)** a nécessité la préparation préalable d'une importante quantité de réactif de départ **cyclam-EtOH (3)** selon la voie de synthèse mise au point au laboratoire (Schéma 43). La tétramine 232 est préorganisée à l'aide de butanedione induisant l'effet de matrice propice à la cyclisation puis l'intermédiaire bisaminal **1** est engagé dans une réaction avec l' α -méthylène- γ -butyrolactone. Le composé **2** obtenu est ensuite réduit à l'aide de borane dans le tétrahydrofurane et

déprotégé par hydrolyse dans une solution d'acide chlorhydrique (3 M). Le sel de chlorhydrate du **cyclam-EtOH** est isolé par précipitation dans l'éthanol puis passé sur résine échangeuse d'ions afin d'obtenir le **cyclam-EtOH (3)** sous forme de base libre avec un rendement global de 42 %. Ces réactions ont été réalisées avec une excellente reproductibilité à une échelle de plusieurs grammes.

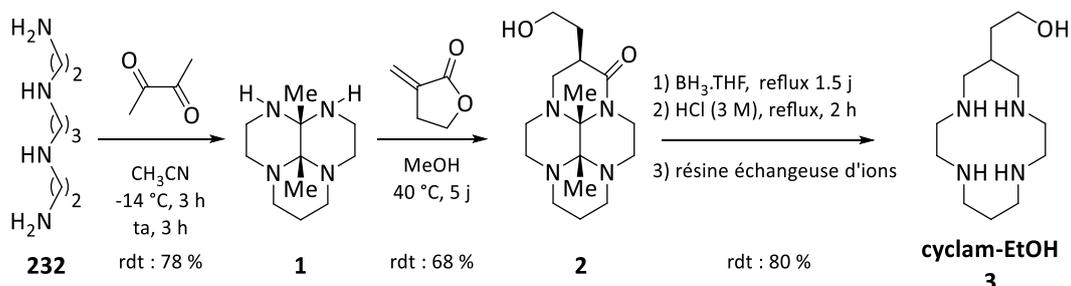


Schéma 43. Synthèse du **cyclam-EtOH (3)**.

La voie de synthèse utilisée pour la préparation des deux dérivés méthylés, **DMC-EtOH (6)** et **TMC-EtOH (7)**, nécessite un seul et même intermédiaire commun (**5**) pour l'obtention des deux ligands (Schéma 44). Elle est inspirée de la méthode que Guilard et coll.^[192] ont présenté pour la préparation du **DMC** et **TMC**, dérivés non-*C*-fonctionnalisés. Le procédé commence par la protection des fonctions amine du **cyclam-EtOH (3)** sous forme d'aminals à l'aide de formaldéhyde. Le milieu réactionnel est basifié (pH > 12) et le composé **4** est récupéré par extraction liquide-liquide avec un excellent rendement de 91 % sans autre purification. Le cyclam-bisformyle **4** est ensuite engagé dans une réaction de dialkylation avec du iodométhane. Cette réaction est habituellement réalisée dans l'acétonitrile afin de précipiter le sel de diammonium, cependant, le composé **4** a montré une mauvaise solubilité dans l'acétonitrile et un mélange acétonitrile / dichlorométhane (2 : 1) a été préféré comme solvant de réaction. Le composé **5**, intermédiaire clé, est simplement récupéré par filtration avec un rendement de 80 %.

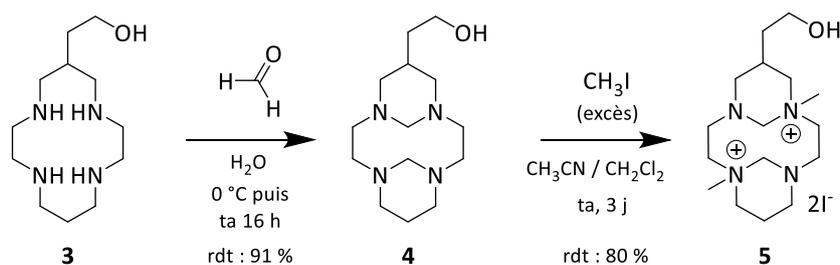


Schéma 44. Synthèse de l'intermédiaire **5** diméthyl-diammonium.

Des monocristaux du composé bisaminal **4** avaient été obtenus par recristallisation dans l'acétonitrile par le Dr. N. Camus lors de sa thèse et avaient conduit à une structure par diffraction des rayons-X. La superposition des structures du cyclam-bisformyle de la littérature et de celle de l'analogue C-fonctionnalisé **4** obtenue au laboratoire a permis de comparer leur géométrie : la similitude est très grande (Figure 71).

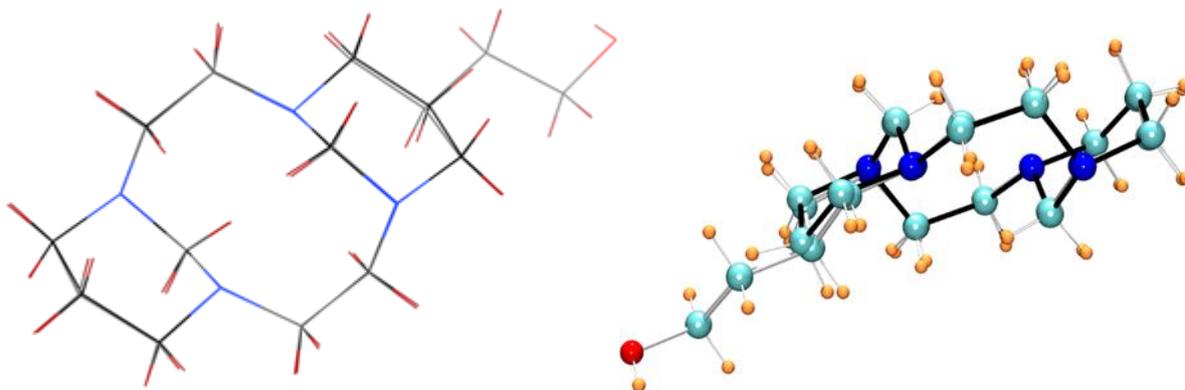


Figure 71. Structures superposées du cyclam-EtOH-bisformyle (**4**) (liaisons grises) et du cyclam-bisformyle^[192] (liaisons noires). Les molécules d'eau ont été omises pour plus de clarté.

Ces deux vues montrent à quel point la géométrie de ces deux composés est proche ; les cycles à 6 chaînons adoptent des conformations chaises et les atomes de carbone aminaux s'orientent en position *anti* pour limiter la gêne stérique. La superposition des atomes est quasiment parfaite pour la partie la plus éloignée du groupement éthylènehydroxy tandis qu'une très légère distorsion est visible autour de la C-fonctionnalisation qui s'explique par la contrainte plus importante générée par la chaîne éthylènehydroxy pour se placer en position équatoriale.

L'intermédiaire **5** a par la suite été engagé dans une réaction de déprotection des ponts aminaux par hydrolyse en milieu basique (NaOH 3 M) (Schéma 45). Le **DMC-EtOH (6)** est isolé par extraction de la phase aqueuse à l'aide de chloroforme avec un rendement de 84 %. Guilard et coll. ont décrit cette réaction comme quantitative au départ du cyclam ; le rendement plus faible obtenu ici peut s'expliquer par la présence de la fonction alcool qui augmente l'hydrophilie de la molécule rendant l'extraction plus difficile.

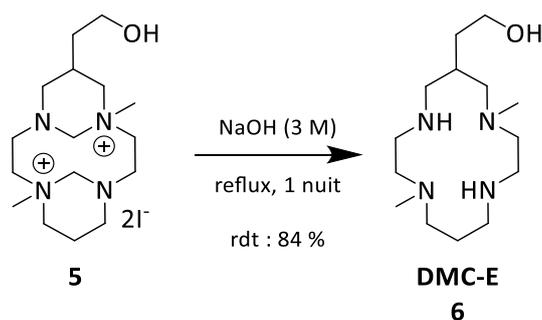


Schéma 45. Synthèse du DMC-EtOH (**6**).

L'intermédiaire **5** a également été engagé dans une réduction des ponts aminaux par du borohydrure de sodium (NaBH_4) dans l'éthanol (Schéma 46). Après la réaction, le milieu réactionnel est séché et le résidu est dissous dans une solution de soude (3 M). Le **TMC-EtOH** (**7**) est extrait à l'aide de chloroforme avec un rendement de 92 %.

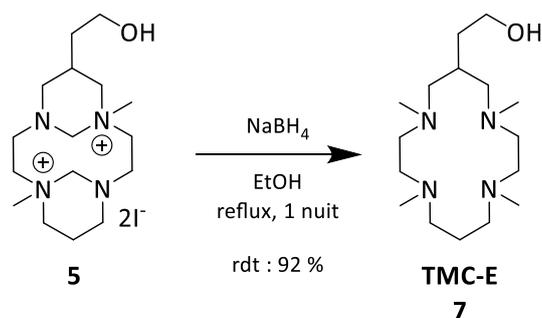


Schéma 46. Synthèse du TMC-EtOH (**7**).

En parallèle de la voie de synthèse présentée ci-dessus, le **cyclam-EtOH** (**3**) a été engagé dans une réaction de Eschweiler-Clarke, tétraméthylation douce en une seule étape, pour obtenir le **TMC-EtOH** (**7**). L'idée était de comparer la réactivité du composé C-fonctionnalisé à celle du cyclam, vis-à-vis de cette réaction qui permet la préparation rapide et en grande quantité du dérivé tétraméthylé. Le résultat n'a pas été celui escompté mais reste intéressant à analyser. Les réactions de Eschweiler-Clarke décrites dans la littérature sont habituellement rapides (< 20 h) mais dans notre cas l'avancement de la réaction après 24 heures était très mauvais. Les analyses RMN ^{13}C mod ont montré la présence de nombreuses espèces (mono-, di-, tri- et tétra-méthylés) mais aussi des carbinolamines (N-C-OH), espèces intermédiaires précurseurs de l'iminium et réduites en méthyle en fin de réaction (Schéma 47).

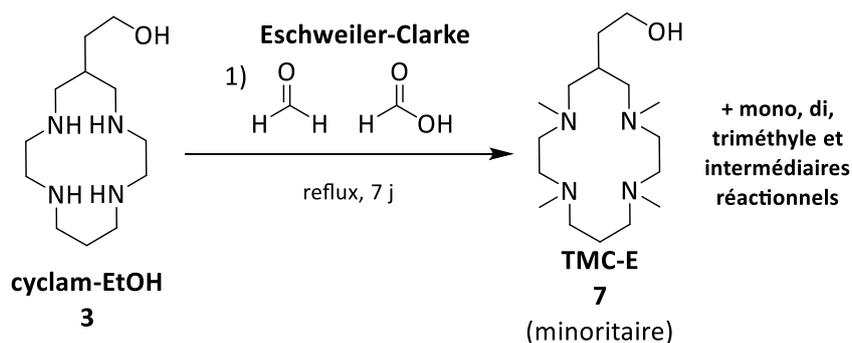


Schéma 47. Synthèse du **TMC-EtOH (7)** par la réaction de Eschweiler-Clarke.

La réaction a donc été poursuivie sur une plus grande durée, sans succès : le ratio de **TMC-EtOH (7)** a augmenté mais la réaction n'a jamais été complète. Le brut de réaction a ensuite été repris en présence de formaldéhyde et de borohydrure de sodium pour tenter de réduire plus rapidement les intermédiaires formés. Les analyses RMN ^{13}C faites après chacune des réactions montrent l'évolution du milieu réactionnel (Figure 72).

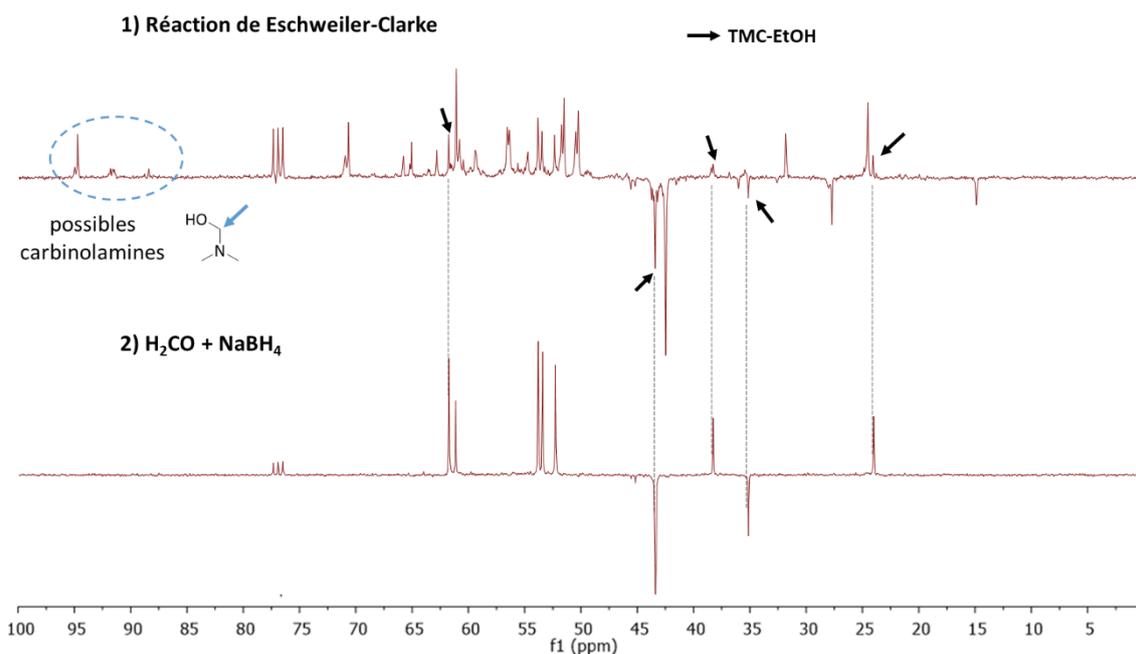


Figure 72. Spectres RMN ^{13}C Jmod (75 MHz, CDCl_3 , 298K) après **1)** réaction de E-C et **2)** $\text{H}_2\text{CO} + \text{NaBH}_4$.

Le composé **7** a été isolé avec un rendement non optimisé inférieur à 50 % après la méthylation à l'aide de formaldéhyde et de borohydrure de sodium. Aucune explication n'a été trouvée quant aux difficultés rencontrées avec la réaction de Eschweiler-Clarke mais deux hypothèses sont, logiquement, mises en avant : une interaction néfaste de la fonction alcool et/ou une contrainte géométrique défavorable apportée par la C-fonctionnalisation. Cette

méthode a été abandonnée en raison de l'adaptation avec succès de la voie de synthèse de Guillard et coll. au cyclam C-fonctionnalisé. L'intermédiaire cyclam-bisformyle (**5**) permet la préparation à l'échelle du gramme du **DMC-EtOH** (**6**) et du **TMC-EtOH** (**7**) avec d'excellents rendements globaux, respectivement 61 % et 67 % à partir du **cyclam-EtOH** (**3**), sans aucune purification sur colonne chromatographique.

2.1.b Synthèse du dérivé renforcé CB-cyclam-EtOH

La synthèse des deux dérivés renforcés, **CB-cyclam-EtOH** (**13**) et **CB-DMC-EtOH** (**15**), a nécessité la préparation d'une importante quantité du précurseur bisaminal cyclam-EtOH-glyoxal (**10**). Du fait que nous étions déjà en possession d'une bonne quantité de **cyclam-EtOH** (**3**), il a été décidé de préparer le bisaminal directement par ajout de glyoxal sur le macrocycle libre **3** (Schéma 48). Alors que l'addition de glyoxal sur le cyclam conduit de façon univoque à l'obtention du *cis*-cyclam-glyoxal, la présence de la C-fonctionnalisation peut, *a priori*, conduire à la formation de deux isomères : les atomes d'hydrogène du pont glyoxal sont toujours de configuration *cis* mais le groupement éthylènehydroxy peut se retrouver en position *syn* ou en position *anti* par rapport à ces atomes.

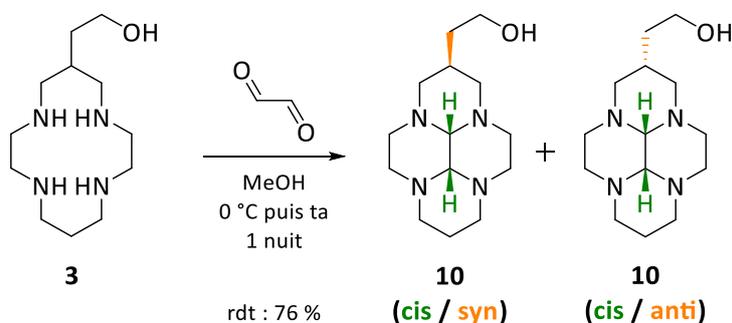


Schéma 48. Synthèse du cyclam-EtOH-glyoxal (**10**) à partir du **cyclam-EtOH** (**3**).

C'est en effet ce qui a été observé, l'ajout de glyoxal sur le composé **3** a conduit à l'obtention des deux diastéréoisomères dans des proportions équivalentes. Plusieurs solvants ont été essayés afin de précipiter l'un des deux isomères mais aucun n'a permis de les séparer. L'isomère *cis/syn* ayant déjà été décrit seul par le laboratoire, il a été possible d'attribuer les déplacements chimiques de chacun des isomères en RMN du carbone 13 (Figure 73).

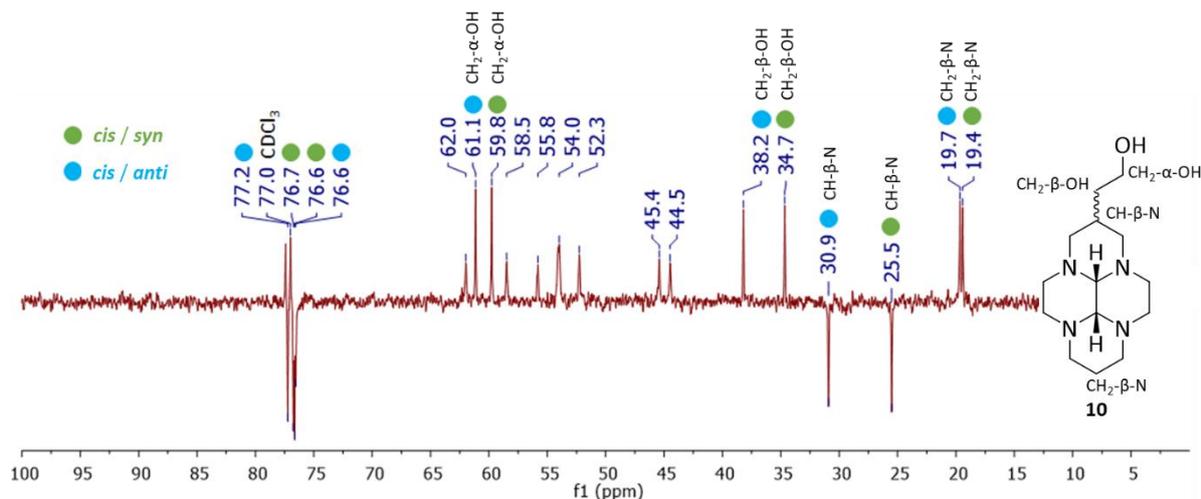


Figure 73. Spectre RMN ^{13}C Jmod (75 MHz, CDCl_3 , 298 K) du mélange d'isomères *cis/syn* et *cis/anti* du composé **10**.

La valeur des déplacements chimiques montre que les atomes de carbone secondaires en position α des atomes d'azote ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$) ainsi que celui en position β ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$) sont très proches pour les deux isomères. Les atomes de carbone les plus impactés sont le carbone tertiaire en position β des atomes d'azote ($\text{CH-}\beta\text{-N}$), portant la chaîne éthylènehydroxy, avec 5,4 ppm de différences mais également ceux de la chaîne elle-même, $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$ et $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$, avec respectivement 3,5 ppm et 1,4 ppm de différence.

Afin de simplifier la caractérisation des produits lors des étapes suivantes, il a été décidé de synthétiser de nouveau le précurseur cyclam-EtOH-glyoxal (**10**) selon la voie de synthèse mise au point au laboratoire, ne conduisant qu'à l'isomère *cis/anti* (Schéma 49). Pour ce faire, la tétramine 232 est préorganisée à l'aide de glyoxal, à froid, pour conduire au composé **8** de configuration *cis*. Ce dernier est engagé dans une réaction de cyclisation avec l' α -méthylène- γ -butyrolactone dans l'acétonitrile pour obtenir uniquement le composé **9** de configuration *cis/syn* qui précipite dans le milieu réactionnel. Enfin, le bisaminal **9** est réduit à l'aide de borohydrure de sodium pour obtenir le cyclam-EtOH-glyoxal (**10**) sous la forme *cis/syn* avec un rendement global de 59 %. Ces réactions ont été réalisées avec une excellente reproductibilité à l'échelle de plusieurs grammes.

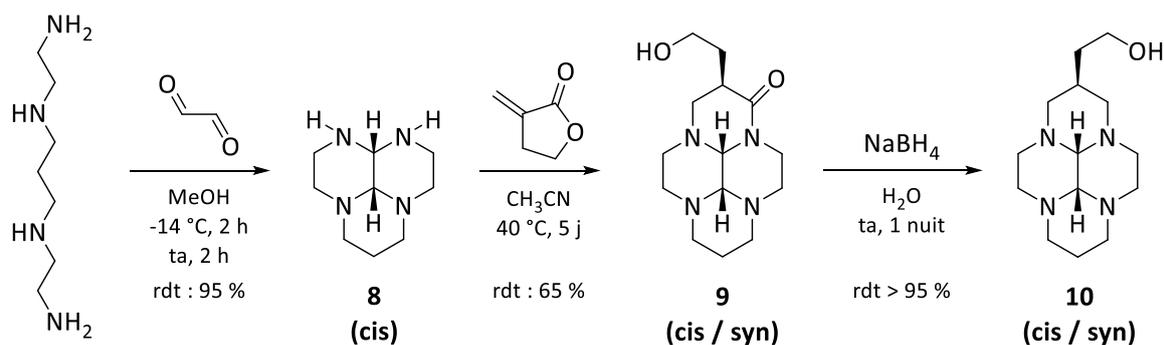


Schéma 49. Synthèse du cyclam-EtOH-glyoxal (**10**).

La suite de la synthèse consiste en la dialkylation du bisaminal-glyoxal **10** de configuration *cis/syn* à l'aide de bromure de benzyle, dans l'acétonitrile à température ambiante pendant quatorze jours (Schéma 50). Cette réaction, relativement lente, conduit à la précipitation du diammonium **11**, récupéré après filtration avec un rendement de 86 %.

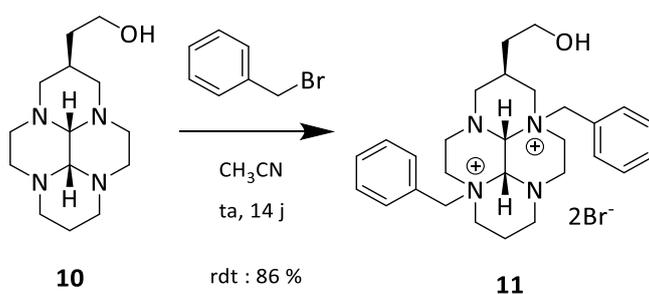


Schéma 50. Synthèse du sel de diammonium **11**.

Le pont bisaminal du sel de diammonium **11** est ensuite réduit en pont éthylène "cross-bridged" à l'aide de borohydrure de sodium dans l'éthanol à reflux (Schéma 51). Les analyses RMN ont montré la formation de plusieurs espèces au cours de cette réaction, cependant, un seul signal a été observé en spectrométrie de masse. Ainsi, la formation du pont "cross-bridged" conduit à plusieurs formes du composé **12** avec un rendement de 95 %.

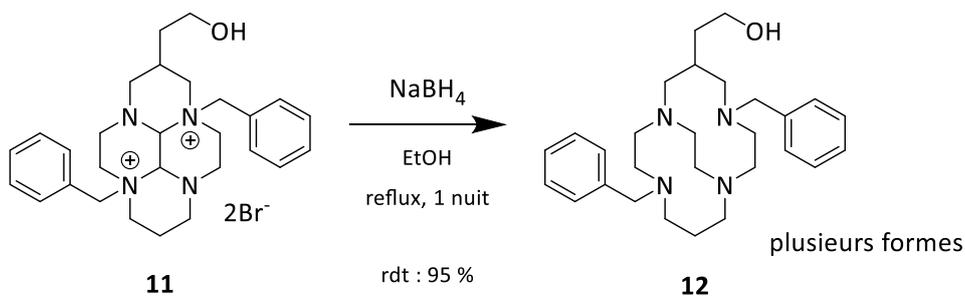


Schéma 51. Synthèse du dérivé cross-bridged dibenzyle **12**.

Lors de sa thèse au laboratoire, le Dr. N. Camus avait discuté la formation de trois espèces au cours de cette réaction et avait rapporté que le produit majoritaire pouvait être précipité dans l'acétonitrile, conduisant à un rendement de 70 % pour l'étape de réduction. L'obtention de 3 formes avait été interprétée de la façon suivante : la forme majoritaire est une forme non-protonée (vérifiée par analyse élémentaire) où le pont éthylène peut passer d'un côté à l'autre du macrocycle. Le composé "cross-bridged" **12** possédant un caractère basique très fort, les sous séries correspondent à des formes protonées, où le pont éthylène est bloqué en position *syn* ou *anti* de la C-fonctionnalisation (Figure 74).

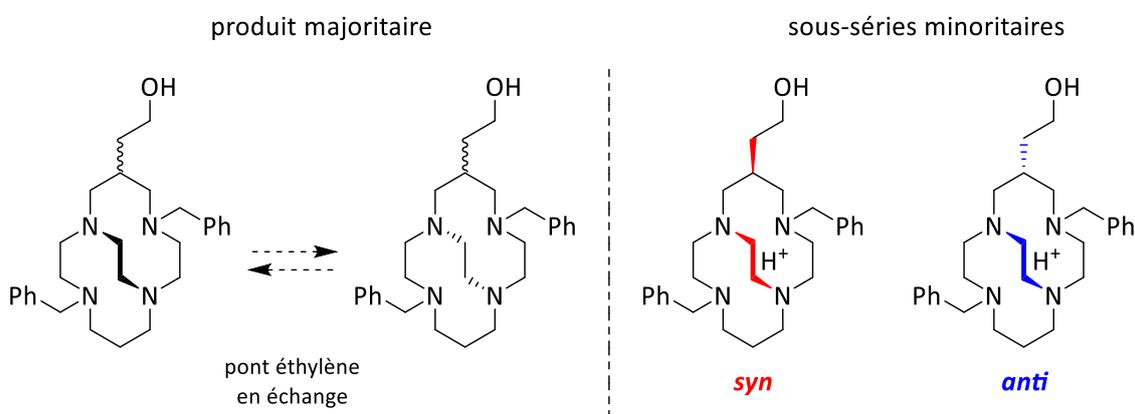


Figure 74. Hypothèses faites par N. Camus sur les espèces formées au cours de la réduction du pont éthylène "cross-bridged".

De nouveaux résultats, obtenus sur d'autres dérivés cross-bridged C-fonctionnalisés, nous ont poussé à réétudier les analyses faites pour le composé **12**. Il apparaît qu'une autre forme majoritaire est obtenue si la réaction est réalisée à température ambiante plutôt qu'à reflux, il existe donc un produit cinétique et un second thermodynamique. Par voie de conséquence, le pont éthylène "cross-bridged" ne peut pas être en échange et le produit non-protoné majoritaire est de configuration *syn* dans un cas et de configuration *anti* dans l'autre. Néanmoins, les formes minoritaires, systématiquement observées, correspondent très probablement aux formes protonées.

Une collaboration avec le Pr. C. Platas-Iglesias a permis au laboratoire d'identifier les deux isomères, *syn* et *anti*, d'un autre dérivé de cross-bridged cyclam C-fonctionnalisé.^[18] Des calculs DFT ont montré que l'isomère *anti* est plus stable que l'isomère *syn* en raison de sa géométrie plus proche du composé non C-fonctionnalisé. Ces résultats ont permis d'identifier les deux isomères à partir de leurs spectres RMN : l'isomère *anti* est celui dont les pics sont

les moins déplacés par rapport au cyclam non-C-fonctionnalisé. En considérant que les résultats de DFT obtenus ne dépendent pas du composé mais uniquement de la géométrie, *syn* ou *anti*, alors le composé **12** majoritairement obtenu au cours de la réduction dans l'éthanol à reflux est l'isomère *anti* (produit thermodynamique), et celui obtenu à température ambiante est l'isomère *syn* (produit cinétique) (Figure 75).

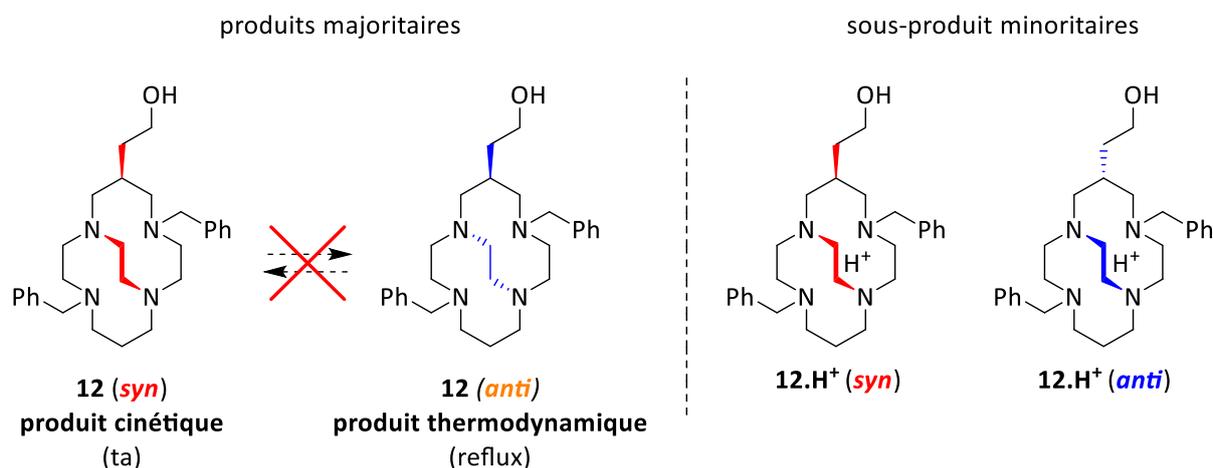


Figure 75. Produits formés lors de la réduction du pont bisaminal.

Finalement, jusqu'à quatre formes peuvent être obtenues lors de la réduction du pont bisaminal et leurs proportions varient selon les conditions expérimentales, principalement la température de réaction et les traces d'eau dans les réactifs/solvants utilisés.

Lors de l'étape suivante, l'hydrogénolyse catalytique des groupements benzyle, le Dr. N. Camus avait utilisé la forme pure du composé **12**, obtenu par précipitation dans l'acétonitrile. Après déprotection des amines, une seule forme du composé **CB-cyclam-EtOH (13)** avait été observée. Dans notre cas, il a été décidé d'utiliser le mélange de formes (*syn*, *anti* et protonées) afin d'optimiser le rendement globale d'obtention du ligand final **13**. De plus, cela a permis de savoir si plusieurs isomères de ce composé existent ou si le fait de retirer les groupements benzyle rend possible l'inversion du pont éthylène et aboli cette élément stéréogène. La réaction a été menée dans l'éthanol en présence de palladium sur charbon sous atmosphère de H₂ et a conduit à l'obtention des deux isomères du **CB-cyclam-EtOH (13)** avec un rendement de 92 % (Schéma 52).

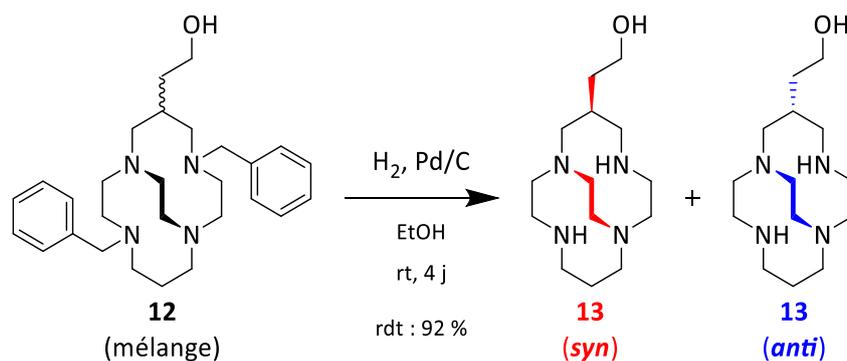


Schéma 52. Hydrogénolyse catalytique du composé **12** pour obtenir le **CB-cyclam-EtOH (13)** sous forme de deux diastéréoisomères.

Aucune purification n'a permis de séparer les deux isomères et aucune condition n'a permis de modifier leur proportion. En considérant que l'isomère *anti* du **CB-cyclam-EtOH (13)** a une géométrie plus proche de celle du **CB-cyclam**, nous avons identifiés les deux isomères sur la base des analyses RMN ^{13}C (Figure 76). L'intensité relative des pics suggère un ratio deux pour un des isomères *syn* et *anti*, cependant, l'analyse RMN ^1H n'a pas permis d'affirmer cette observation car la plupart des signaux sont superposés ce qui empêche une intégration précise.

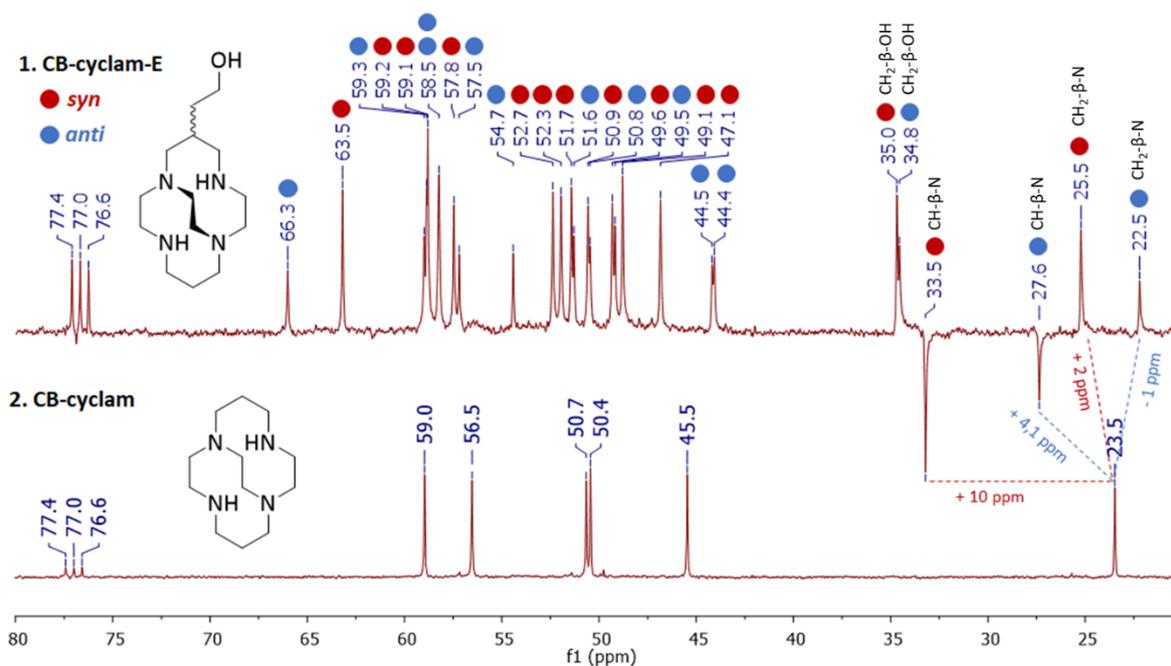


Figure 76. Spectres RMN ^{13}C Jmod (75 MHz, CDCl_3 , 298 K) : 1. mélange d'isomères *syn* et *anti* du **CB-cyclam-EtOH (13)** et 2. **CB-cyclam**.

L'attribution des configurations a été faite par comparaison entre le déplacement du pic du carbone secondaire CH₂-β-N du **CB-cyclam** et celui du carbone tertiaire portant la C-fonctionnalisation CH-β-N du **CB-cyclam-EtOH**. Ainsi, le signal à + 4,1 ppm correspond à l'isomère *anti*, dont la structure est plus proche du **CB-cyclam**, et le signal à + 10,0 ppm est celui de l'isomère *syn*. Cet atome de carbone (CH-β-N) est celui dont le déplacement est le plus impacté par la configuration avec un écart de 5,9 ppm entre les configurations *syn* et *anti*.

Finalement, une seule forme du **CB-cyclam-EtOH (13)** avait été décrite dans la littérature mais les travaux réalisés au cours de cette thèse ont permis de montrer qu'il existe deux isomères, *syn* et *anti*, qui diffèrent selon la position relative du pont éthylène et de la C-fonctionnalisation. L'isomère *anti* peut être obtenu seul selon les protocoles mis au point par le Dr. N. Camus au cours de sa thèse, cependant, l'isomère *syn* n'a jamais été isolé. Étant donné qu'il s'agit de diastéréoisomères, leur polarité devrait être différente et une séparation à l'aide d'une HPLC ("High Performance Liquide Chromatography") en phase inverse pourrait permettre de les séparer. L'existence de ces deux diastéréoisomères n'est pas anodine puisque, par la suite, il a été nécessaire d'étudier le comportement des deux isomères vis-à-vis de la complexation des cations métalliques.

2.1.c Synthèse du dérivé renforcé CB-DMC-EtOH

La synthèse du **CB-DMC-EtOH (15)** a, elle aussi, été réalisée à partir de l'isomère *cis/syn* du composé **10**. La première étape consiste en la dialkyltion du bisaminal **10** à l'aide d'iodométhane dans un mélange acétonitrile/dichlorométhane (2:1) pour former le sel de diammonium **14** qui précipite dans le milieu réactionnel et est récupéré par filtration avec un rendement de 90 % (Schéma 53).

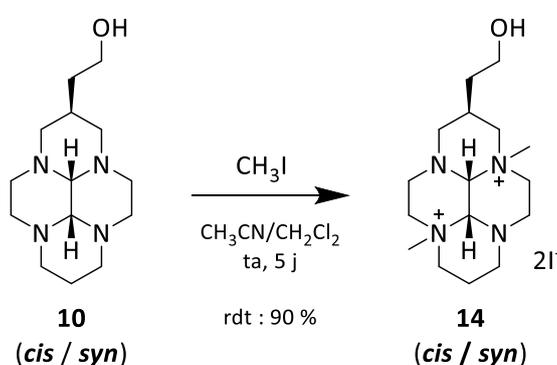


Schéma 53. Diméthylation du composé **10**.

Le pont bisaminal est ensuite réduit en pont éthylène “cross-bridged” à l’aide de borohydrure de sodium dans l’éthanol à reflux (Schéma 54). Une nouvelle fois, les analyses RMN ont montré que deux espèces se forment au cours de cette réaction. Une analyse de spectroscopie de masse haute résolution (HRMS), ne présentant qu’une seule masse, a permis d’affirmer qu’il s’agit bien de deux diastéréoisomères du **CB-DMC-EtOH (15)**.

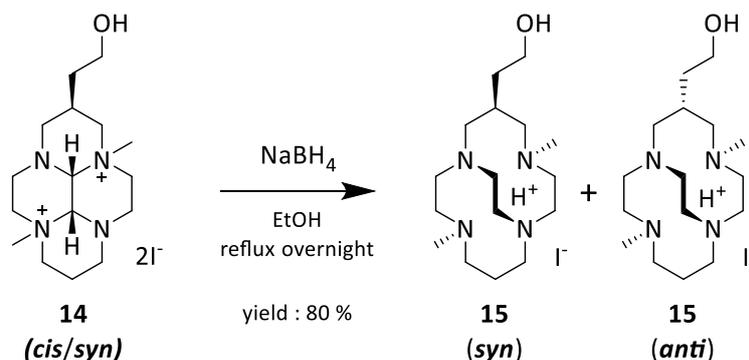


Schéma 54. Réduction du pont bisaminal menant au **CB-DMC-EtOH (15)** sous forme de deux diastéréoisomères *syn* et *anti*.

Des monocristaux ont été obtenus à partir d’un échantillon du mélange d’isomères par diffusion de vapeur acétonitrile / éther diéthylique et ont permis d’obtenir les structures par diffraction des rayons-X des deux diastéréoisomères *anti* et *syn*.

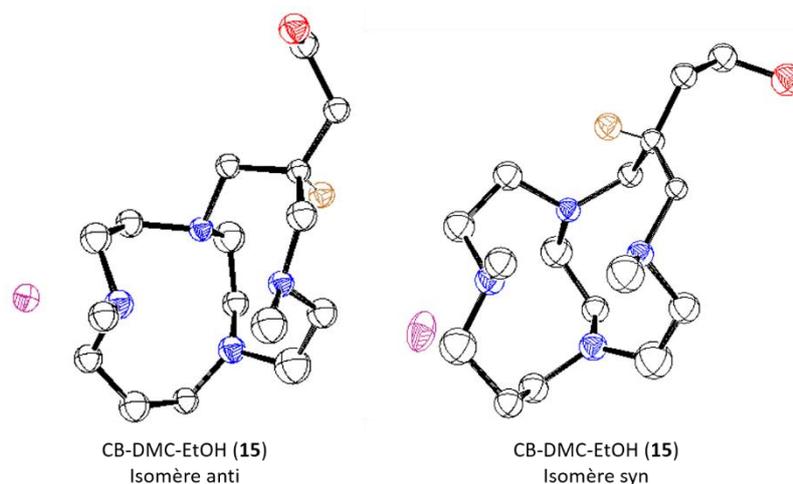


Figure 77. Structures cristallographiques des isomères *anti* et *syn* du **CB-DMC-EtOH (15)** obtenues par DRX. Les atomes d’hydrogène ont été omis pour plus de clarté, excepté celui porté par le carbone asymétrique et représenté en marron. Les ellipsoïdes sont tracés avec 30 % de probabilités.

La géométrie très contrainte du composé **15** ne permet pas aux atomes d'azote de s'inverser et ils sont par conséquent dédoublable. La configuration de l'isomère *anti* est (S, S, S, S, S) et celle de l'isomère *syn* est (S, S, S, S, R), la configuration soulignée correspond à celle de l'atome de carbone asymétrique qui porte la C-fonctionnalisation. Ces deux composés sont donc des diastéréoisomères. On note sur ces structures la présence d'un contre-ion iodure témoin de la présence d'un proton dans la cavité macrocyclique ; cette donnée a été vérifiée sur le spectre RMN ¹H du mélange d'isomère qui présente un pic à 11.5 ppm caractéristique de ce proton labile. Sa présence, alors que le composé a été extrait dans le chloroforme à partir d'une phase aqueuse basique (pH > 12) confirme son caractère extrêmement basique. La première constante de protonation de l'analogue non-C-fonctionnalisé, le **CB-DMC**, n'a jamais pu être mesurée dans l'eau mais a été estimée supérieure à 13,5 par Weisman et coll.^[196]

Le **CB-DMC-EtOH (15)** a pu être purifié sur colonne d'alumine (CH₂Cl₂ / MeOH, 98/2), les deux diastéréoisomères présentent une polarité différente et ont été presque entièrement séparés au cours de cette purification. Deux échantillons ont été obtenus contenant un isomère très largement majoritaire et des traces du second ; chacun d'eux a été caractérisé par RMN du proton et du carbone 13. La RMN du proton a confirmé la présence d'un proton dans la cavité macrocyclique pour chacun des isomères avec un pic à 11,5 ppm. La RMN ¹³C permet, quant à elle, de voir que la sous-série visible sur le spectre de l'isomère *anti* correspond bien à la série majoritaire sur le spectre de l'isomère *syn* et réciproquement (Figure 78).

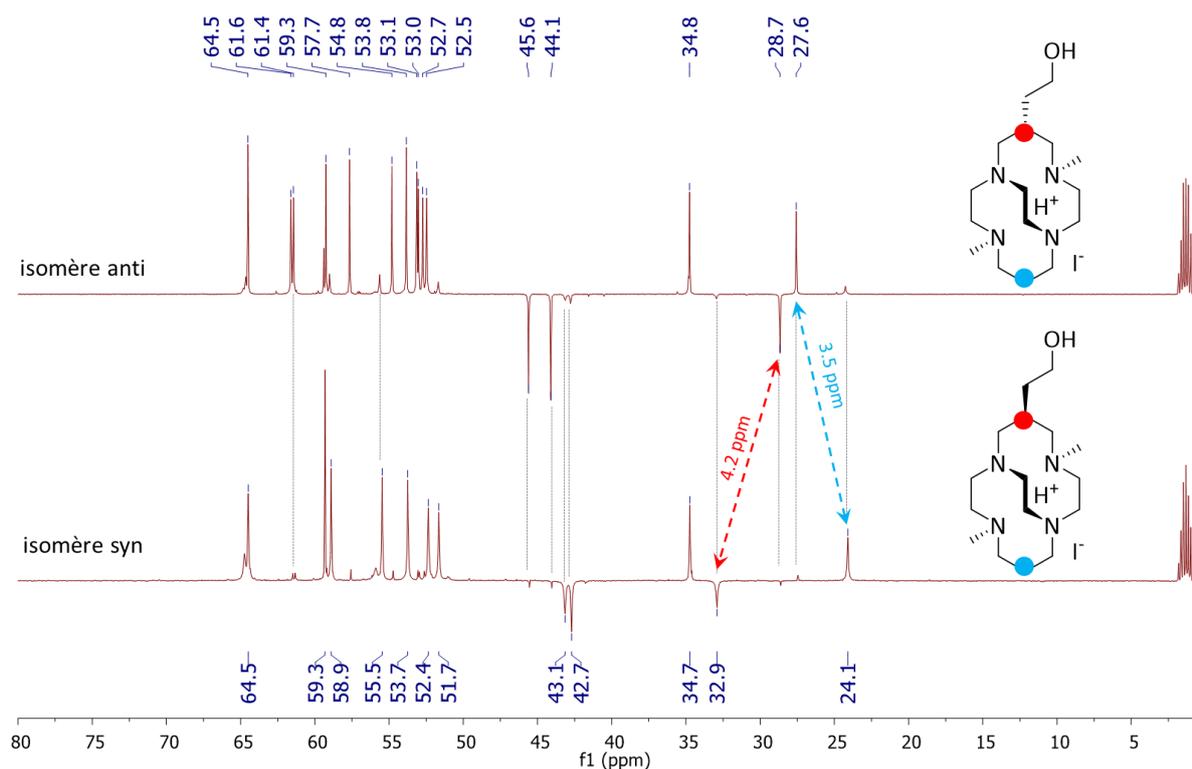


Figure 78. Spectres RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, CD_3CN , 298 K) des isomères *anti* et *syn* du CB-DMC-EtOH (**15**). La flèche rouge pointe les pics correspondant au CH portant la C-fonctionnalisation, la bleu ceux du CH₂ en position β des atomes d'azote.

Ces spectres montrent que les deux atomes de carbone en position β des amines sont très impactés par le changement de configuration *syn* ou *anti*. L'atome de carbone "CH- β -N" (en rouge - Figure 78) et l'atome de carbone "CH₂- β -N" (en bleu - Figure 78) sont respectivement décalés de 4,2 et 3,5 ppm. Il est important de préciser qu'aucune isomérisation de ces deux échantillons n'a été observée au cours du temps, ni à chaud, ni en milieu basique ou acide.

Les 16 pics attendus sur les spectres RMN ^{13}C de ces composés sont bien présents sur celui de l'isomère *anti* mais seulement 12 sont identifiés sur celui de l'isomère *syn*. Certains atomes de carbones en position α des amines (entre 65 et 50 ppm) ne sont pas visible à 25 °C. Un spectre à 70 °C a été enregistré et montre bien 11 pics correspondant aux 11 atomes de carbone en position α des fonctions amine et alcool.

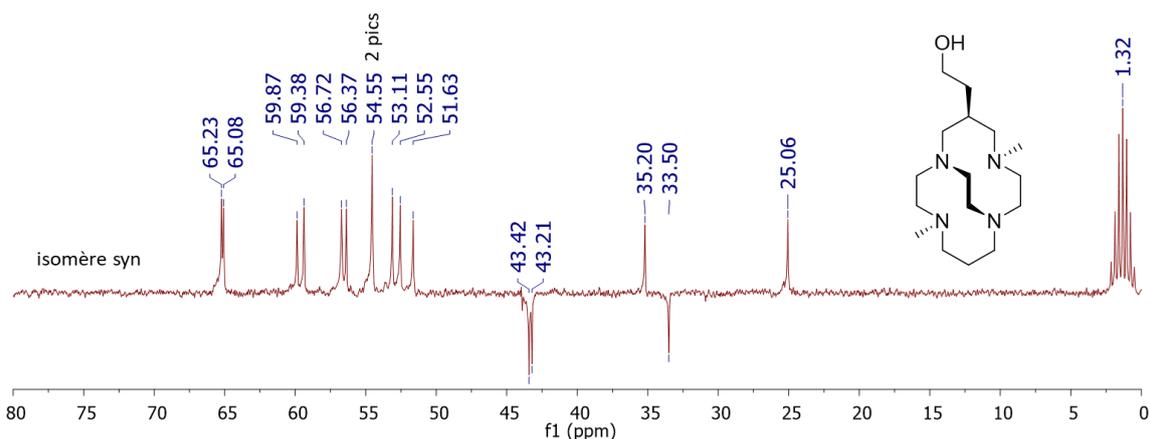


Figure 79. Spectre RMN ^{13}C Jmod (75 MHz, CD_3CN , 343 K) de l'isomère *syn* du **CB-DMC-EtOH (15)**.

Le **CB-DMC-EtOH (15)** a donc été synthétisé avec un rendement de 42 % en 5 étapes à partir de la tétramine linéaire 232. Les réactions présentées peuvent toutes être réalisées à l'échelle du gramme. Comme pour le **CB-cyclam-EtOH (13)**, deux diastéréoisomères ont été identifiés, *syn* et *anti*, puis séparés sur une colonne chromatographique d'alumine ce qui a permis de les caractériser séparément.

2.2 Synthèse des dérivés du cyclam *N*-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy

En plus des dérivés *C*-fonctionnalisation, le projet de thèse visait à étudier des dérivés *N*-fonctionnalisés par le groupement éthylènehydroxy. Quatre composés ont été ciblés et constituent la série n°3 : le **TE1EtOH (20)**, le **TE3MeEtOH (21)**, le **CB-TE1EtOH (26)** ainsi que le **CB-TEMeEtOH (32)** (Figure 80).

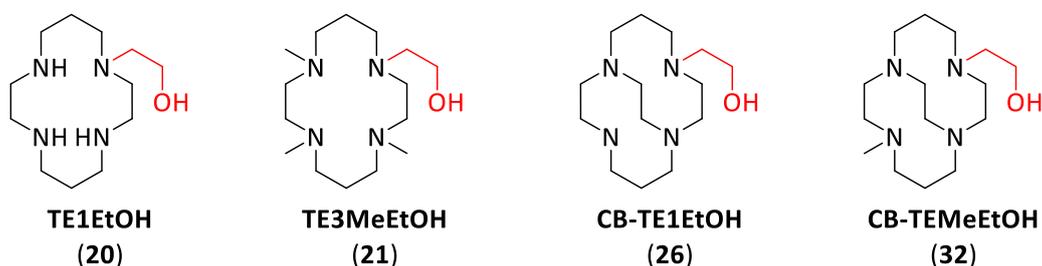


Figure 80. Structures des dérivés de cyclam *N*-fonctionnalisés ciblés.

Parmi ces composés, le **TE1EtOH** et le **TE3MeEtOH** ont été étudiés par Wainwright et coll. en 1997,^[175] cependant les synthèses rapportées présentent des rendements relativement faibles : le **TE1EtOH** a été obtenu avec un rendement de 10 % à partir du cyclam et le

TE3MeEtOH avec seulement 5 % de rendement pour la seule étape d'alkylation du triméthylcyclam avec le groupement éthylènehydroxy. Les auteurs ont d'ailleurs souligné la difficulté qu'ils avaient eu à obtenir des fractions pures de ce dernier. Les deux composés "cross-bridged" cyclam *N*-fonctionnalisés avec le groupement éthylènehydroxy (**26** et **32**) sont, quant à eux, nouveaux.

Initialement nous avons pour objectif d'utiliser un même intermédiaire pour l'obtention de ces quatre dérivés grâce à la chimie des bisaminals (Schéma 55). Nous envisagions donc de monofonctionnaliser le cyclam-glyoxal avec le groupement éthylènehydroxy et ainsi obtenir un intermédiaire commun à toutes les voies de synthèse menant aux composés ciblés.

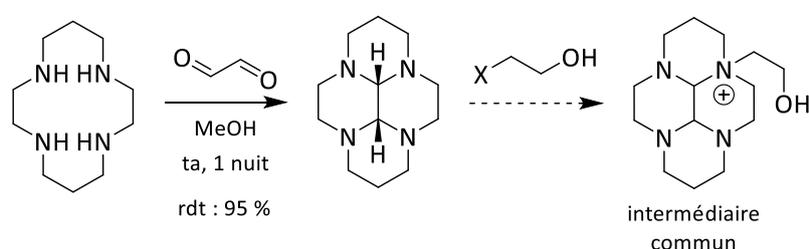


Schéma 55. Synthèse de l'intermédiaire commun aux quatre dérivés ciblés.

Le pont bisaminal de cet intermédiaire peut être déprotégé ou bien réduit, ce qui permet d'envisager l'obtention des quatre dérivés ciblés (Schéma 56). Il est important de préciser que pour obtenir un pont éthylène "cross-bridged" il est indispensable d'alkyler le second atome d'azote du bisaminal, dans le cas contraire, la réduction conduirait à la formation d'un pont éthylène "side-bridged".

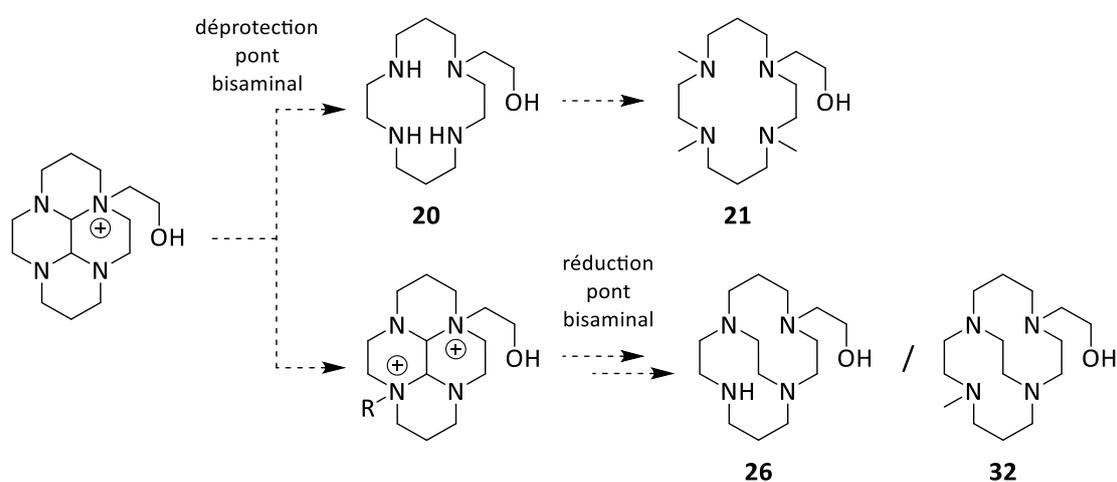


Schéma 56. Voies réactionnelles susceptibles de mener aux dérivés ciblés.

Cette stratégie reposait entièrement sur l'obtention du cyclam-glyoxal monofonctionnalisé avec le groupement éthylènehydroxy. Malheureusement, aucune des tentatives mises en œuvres n'a permis d'obtenir le composé (Schéma 57). Plusieurs groupements nucléofuges (bromure, tosylate) ont été essayés, mais également de l'iodure de sodium (NaI) en tant que catalyseur, divers solvants ainsi que différentes températures de réaction.

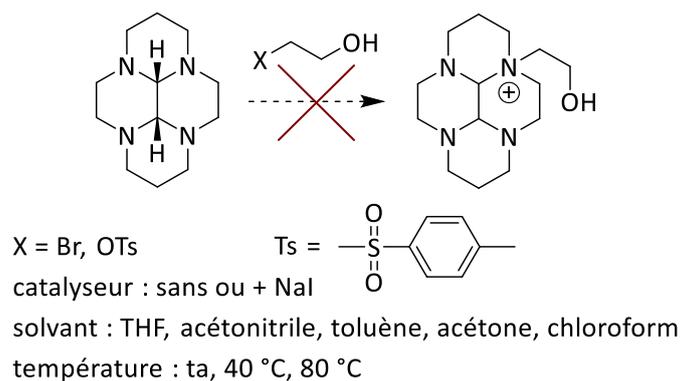


Schéma 57. Conditions réactionnelles infructueuses testées pour la monoalkylation à l'aide du groupement éthylènehydroxy.

Comme mentionné dans la partie bibliographique (1.2.c – page 106), il est nécessaire d'utiliser un électrophile suffisamment réactif pour alkyler le cyclam-glyoxal, ce qui n'était pas le cas du groupement éthylènehydroxy. Afin de contourner cette difficulté, l'alcool a été remplacé par un ester, le bromure d'acétate d'éthyle, l'alkylation du cyclam-glyoxal avec ce composé étant décrite dans la littérature.^[191] L'intermédiaire mono ester a bien été obtenu mais cette fonction s'est avérée problématique dans les voies de synthèse choisies : la déprotection de l'ammonium à l'aide d'hydrazine conduit à l'acide carboxylique et donc à une espèce ionique quel que soit le pH, ammonium à pH acide ou carboxylate à pH basique. De plus, l'introduction d'un second groupement, pour pouvoir réduire le pont glyoxal en pont éthylène "cross-bridged", n'a pas fonctionné.

Finalement, nous avons décidé de synthétiser les quatre dérivés *N*-fonctionnalisés à l'aide d'autres outils maîtrisés au laboratoire, notamment *via* l'utilisation de différents groupements protecteurs.

2.2.a Synthèse du TE1EtOH

La synthèse du **TE1EtOH (20)** consiste en une monoalkylation du cyclam. Pour ce faire, nous avons décidé d'utiliser une méthode développée au laboratoire avec l'intermédiaire triprotégé cyclam-phosphoramide (cyclam-PO, **16**) (Schéma 58).^[182] La préparation de ce composé doit être réalisée avec précaution sous atmosphère inerte et sans trace d'eau dans le milieu réactionnel à cause de la sensibilité à l'oxydation de l'aminophosphine utilisée. Le cyclam et le toluène sont d'abord séchés à l'aide d'un appareil de Dean-Stark puis le macrocycle est protégé à l'aide de tris(diméthylamino)phosphine par échange des amines lors d'une réaction de transamination.

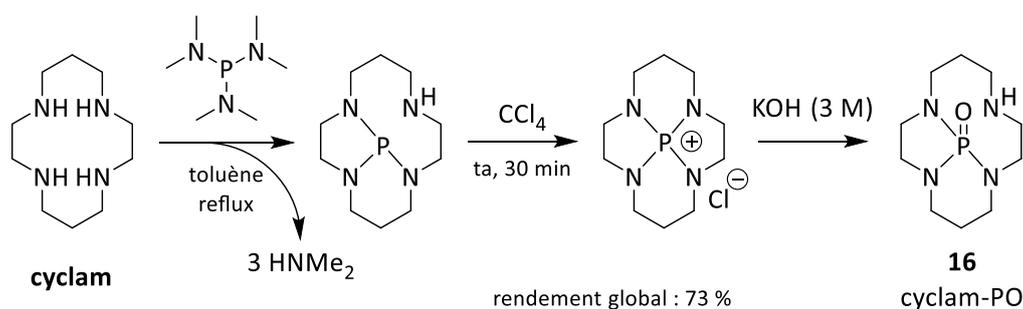


Schéma 58. Synthèse du cyclam-phosphoramide (**16**).

L'avancement de cette réaction est favorisé grâce au dégagement de diméthylamine (HNMe_2) gazeuse au cours de la réaction. Le gaz libéré est recueilli dans une solution d'acide chlorhydrique titrée afin de suivre l'avancement de la réaction tout en conservant une atmosphère inerte. Le cyclam sous forme d'aminophosphine obtenu est ensuite repris sous atmosphère normale dans le tétrachlorométhane (CCl_4) pour former le cyclam aminophosphonium puis dans la potasse pour former le cyclam-PO (**16**). Le composé **16** est récupéré par extraction de la phase aqueuse basique à l'aide de chloroforme avec un rendement de 73 %.

Le cyclam-PO (**16**) a ensuite été alkylé à l'aide de bromoéthanol dans l'acétonitrile à reflux (Schéma 59). Le bromoéthanol doit être utilisé en excès car une partie du réactif forme des polymères d'éthylène glycol ; une alternative consiste à ajouter le réactif en plusieurs fois dans le milieu réactionnel. Le résidu post-évaporation est repris dans une solution de soude (1 M) et le composé **17** est récupéré par extraction liquide-liquide dans la phase organique avec un rendement de 90 %, sans aucune purification complexe.

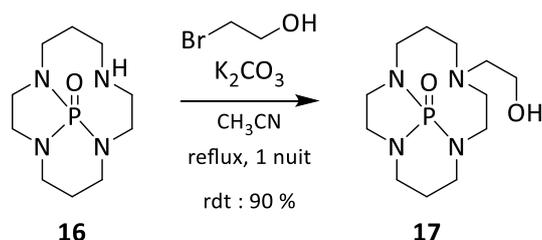


Schéma 59. Alkylation du cyclam-phosphoramide (**16**) à l'aide de bromoéthanol.

Des problèmes de reproductibilité ont été rencontrés lors de la synthèse du cyclam-PO (**16**) à l'échelle de plusieurs grammes. Par conséquent, la voie de synthèse du composé **TE1EtOH (20)** a dû être modifiée et le choix s'est porté sur l'utilisation d'un cyclam protégé par trois groupements tert-butyloxycarbonyle qui offre d'excellents rendements. Bien que moins économique en atomes, cet intermédiaire peut être facilement synthétisé à grande échelle.

Le triBoc-cyclam (**18**) a été synthétisé selon les protocoles décrit par Herrero et coll.^[178] puis l'alkylation a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment à l'aide de bromoéthanol (Schéma 60). Finalement, le composé **19** a été obtenu avec un rendement de 72 % à partir du cyclam, légèrement supérieur à celui du composé **17** (66 %).

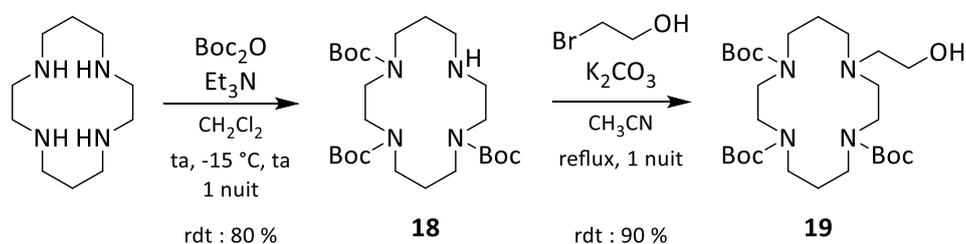


Schéma 60. Synthèse du triBoc-cyclam (**18**) puis du triBoc-cyclam-N-EtOH (**19**).

Les composés **17** et **19**, tous deux précurseurs du **TE1EtOH (20)**, sont déprotégés selon un protocole identique à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique (1 M) à reflux. La phase aqueuse est ensuite basifiée avec de l'hydroxyde de potassium (pH > 12) puis extraite à l'aide de chloroforme pour obtenir le **TE1EtOH (20)** avec un rendement de déprotection de 90 %.

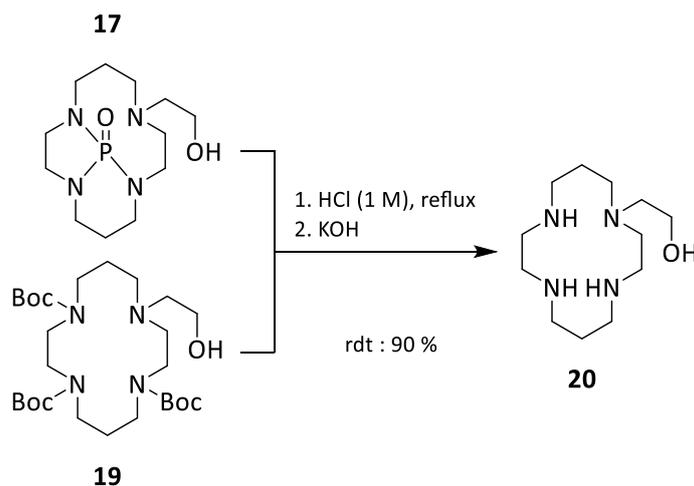


Schéma 61. Synthèse du **TE1EtOH (20)** par hydrolyse acide des composés **17** ou **19**.

Des monocristaux du composé **20** ont été obtenus par évaporation lente dans le chloroforme. L'analyse de ces cristaux par diffraction des rayons-X a permis d'obtenir la structure du dichlorhydrate de **TE1EtOH (20.2HCl)** (Figure 81).

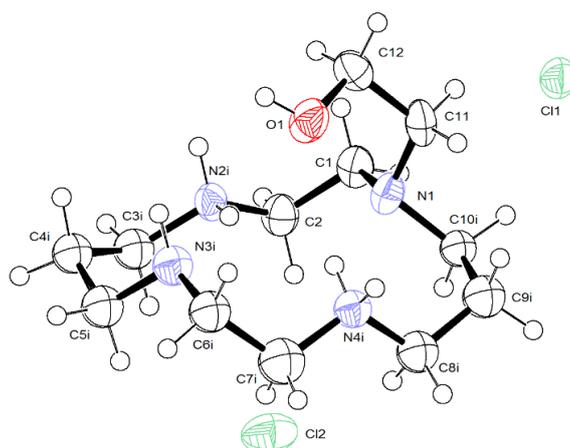


Figure 81. Structure cristallographique du dichlorhydrate de **TE1EtOH (20.2HCl)** obtenue par DRX. Les ellipsoïdes sont tracés à 30% de probabilité.

Cette structure montre clairement un retour du groupement éthylènehydroxy sur le macrocycle pour une/des liaisons hydrogène avec les amines protonées, comportement attendu lors de la complexation d'un cation métallique.

En définitif, une première voie de synthèse avait été mise au point en début de thèse à l'aide du cyclam-PO (**16**) mais a dû être remplacée par une seconde utilisant le triBoc-cyclam (**18**). Le **TE1EtOH (20)** a été obtenu à l'échelle du gramme avec un rendement global de 72 %

à partir du cyclam, largement supérieur à celui de 10 % rapporté dans la littérature par Wainwright et coll.^[175]

2.2.b Synthèse du TE3MeEtOH

La synthèse du composé **20** étant rapide et efficace, il a été décidé d'utiliser directement ce dernier pour la préparation du **TE3MeEtOH (21)** par une réaction de méthylation. Malgré les résultats mitigés obtenus lors de la tétraméthylation du dérivé C-fonctionnalisé, nous avons décidé d'expérimenter la réaction de Eschweiler-Clarke pour introduire trois méthyles sur le **TE1EtOH (20)** (Schéma 62). Pour rappels, la réduction des iminiums par l'acide formique avait été laborieuse et du borohydrure de sodium avait dû être rajouté, ce qui avait permis d'obtenir le TMC-EtOH (**7**).

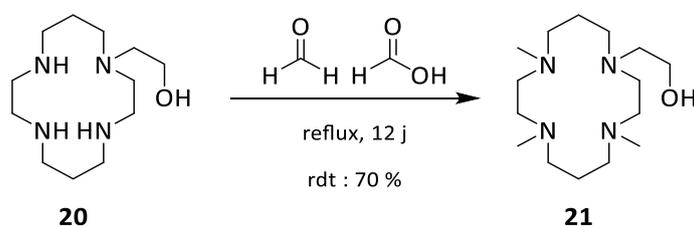


Schéma 62. Synthèse du **TE3MeEtOH (21)** par une réaction de Eschweiler-Clarke.

Cette fois encore, la réaction ne s'est pas déroulée comme espérée : après plusieurs jours de réaction à reflux, les analyses RMN ¹³C ont révélé la présence majoritaire du produit triméthylé souhaité mais également d'un dérivé diméthylé. De façon assez inattendu, un seul composé diméthyle a été observé sur les trois possibles ; cela laisse supposer qu'une position précise est plus difficile à méthyler que les autres. Dans l'impossibilité d'isoler ce dérivé, nous ne sommes pas parvenus à identifier l'amine en question. Toutefois, l'hypothèse la plus probable est la présence d'une liaison hydrogène entre une amine protonée (acide formique en excès dans le milieu) et la fonction alcool, ce qui stabilise cette espèce et ralentit de façon importante la réaction de méthylation (Figure 82).

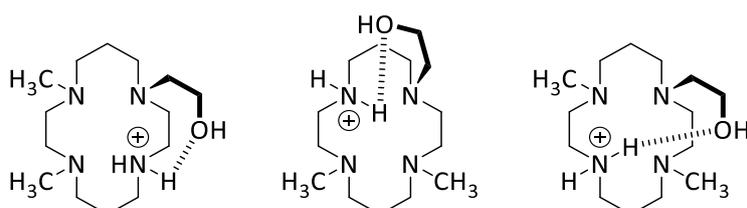


Figure 82. Structures des possibles espèces protonées et stabilisées par une liaison hydrogène.

La réaction a donc été poursuivie, après 12 jours à reflux, la quasi-totalité du **TE1EtOH (20)** a été transformée en **TE3MeEtOH (21)** qui a été purifié sur colonne chromatographique de silice. Malgré l'absence d'amine secondaire, le composé **21** avec ses quatre amines tertiaires et une fonction alcool est très polaire et a nécessité l'utilisation d'un éluant composé de dichlorométhane et d'isopropylamine (98/2 à 98/4) pour être isolé avec 70 % de rendement. La stratégie de synthèse mise en place a permis d'obtenir le **TE3MeEtOH (21)** à l'échelle du gramme avec un excellent rendement comparé à Wainwright et coll. qui mettaient en avant la difficulté à obtenir des fractions pures de ce composé et rapportaient un rendement de seulement 5 %.^[175]

2.2.c Synthèse du dérivé renforcé CB-TE1EtOH

Il a été décidé de synthétiser le **CB-TE1EtOH (26)** à partir du **CB-cyclam (25)** par une alkylation statistique d'une seule des deux amines primaires (Schéma 63). Toutefois, avec l'utilisation d'un seul équivalent d'électrophile et en l'absence de base, il est possible de favoriser la monofonctionnalisation au détriment de la dialkylation. Dans ces conditions, le produit monofonctionnalisé est obtenu sous la forme protonée et est, par voie de conséquence, moins réactif vis-à-vis d'une seconde substitution nucléophile. Le **CB-cyclam (25)** de départ, a été synthétisé selon les protocoles décrits par Weisman et coll.^[202] Pour réaliser la mono-fonctionnalisation, le **CB-cyclam (25)** est placé en solution dans l'acétonitrile à une concentration de $5 \cdot 10^{-3}$ M (ce qui correspond à 226 mg dans 200 mL) et un équivalent de dérivé tosylate-éthylènehydroxy (**33**) est ajouté à l'aide d'un pousse seringue sur vingt heures (Schéma 63). L'avancement de la réaction a été suivi par chromatographie sur couche mince, la totalité de l'électrophile a été consommée au bout de 96 h de réaction.

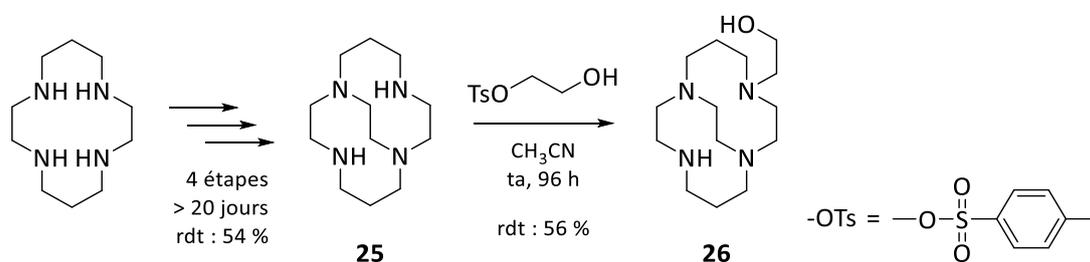


Schéma 63. Synthèse du **CB-TE1EtOH (26)**.

L'analyse RMN du brut réactionnel a montré la présence majoritaire du **CB-TE1EtOH (26)**, cependant, le milieu contenait également des traces de CB-cyclam (**25**) et de dérivé

difonctionnalisé. La purification sur une colonne chromatographique s'est avérée particulièrement difficile en raison du fort caractère basique des composés "cross-bridged". Le **CB-TE1EtOH (26)** a été purifié sur alumine ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1 à 95/5) car il ne migrait pas sur gel de silice et les rendements post-purification ont été assez faibles, environ 50 % dans le meilleur des cas. Un tel rendement est acceptable mais reste tout de même problématique pour une seule étape de synthèse car le produit de départ, le **CB-cyclam (25)**, est un composé à forte valeur ajoutée nécessitant plus de vingt jours de préparation avec un rendement de 54 % à partir du **cyclam**.

La voie de synthèse mise au point nécessite encore d'être optimisée mais a permis d'obtenir plusieurs centaines de milligrammes du **CB-TE1EtOH (26)**, quantité que nous avons jugé suffisante pour la suite du projet. Plusieurs propositions pour améliorer le rendement de synthèse et simplifier la purification du ligand seront faites en dernière partie de ce chapitre (2.2.e Améliorations envisagées pour la synthèse du CB-TE1EtOH).

2.2.d Synthèse du dérivé renforcé CB-TEMeEtOH

La synthèse du **CB-TEMeEtOH (32)** s'est avérée, elle aussi, relativement compliquée et a nécessité l'expérimentation de plusieurs voies réactionnelles.

(i) La première stratégie envisagée pour synthétiser le **CB-TEMeEtOH (32)** a été la méthylation directe de l'amine secondaire du composé **26** (Schéma 64).

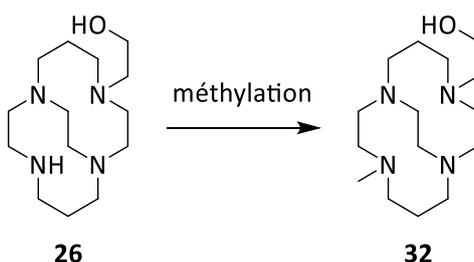


Schéma 64. Synthèse du **CB-TEMeEtOH (30)** par méthylation du composé **26**.

Dès le début, l'utilisation d'iodométhane a été exclue car elle risquait de conduire à la formation d'ammonium quaternaire (suralkylation) sans pouvoir contrôler la réaction. Nous avons, une nouvelle fois, expérimenté la méthylation par une réaction de Eschweiler-Clarke à partir du **CB-TE1EtOH (26)**. Cependant, la réaction a conduit à énormément de sous-produits sans que la formation du composé souhaité puisse être confirmée. Au cours des travaux de

thèse, d'autres tentatives de méthylation par une réaction de Eschweiler-Clarke ont été réalisées sur des dérivés cross-bridged et aucune n'a été fructueuse, ces composés pourraient se dégrader dans les conditions utilisées.

L'alternative à la réaction de Eschweiler-Clarke, qui consiste à former l'iminium à l'aide de formaldéhyde puis à le réduire avec du borohydrure de sodium a permis d'obtenir le composé **32** en mélange avec d'autres sous-produits. La réduction de l'iminium a également été tentée à l'aide de palladium sur charbon sous atmosphère de dihydrogène et a conduit à un mélange similaire en fin de réaction. Le **CB-TEMeEtOH (32)** a été purifié sur colonne chromatographique d'alumine mais cela n'a permis de récupérer qu'une très faible quantité de produit suffisamment pur.

Finalement, une dernière méthode de méthylation plutôt originale a été envisagée : Redko et coll.^[205] ont rapporté en 2012 la méthylation d'une amine aromatique par la fonctionnalisation avec un groupement tert-butyloxycarbonyle (Boc) puis la réduction de celui-ci à l'aide d'aluminohydrure de lithium (LiAlH_4) (Schéma 65).

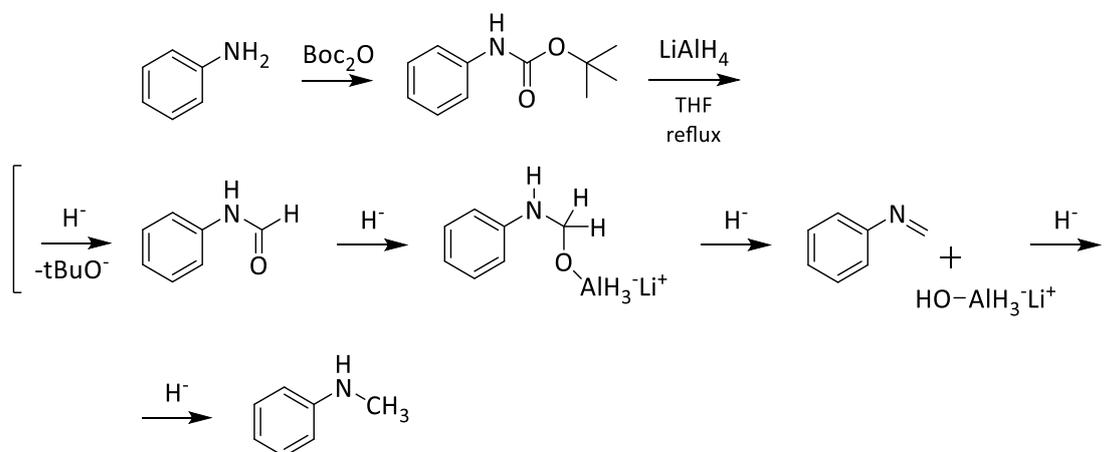


Schéma 65. Mécanisme de méthylation proposé par Redko et coll. par addition de Boc_2O et réduction à l'aide LiAlH_4 .^[205]

Ce procédé a été appliqué sur le **CB-TE1EtOH (26)** et l'analyse RMN en fin de réaction a montré la présence majoritaire du **CB-TEMeEtOH (32)**. Cependant une purification sur colonne chromatographique a été nécessaire et la forte basicité du composé a conduit à un rendement très faible.

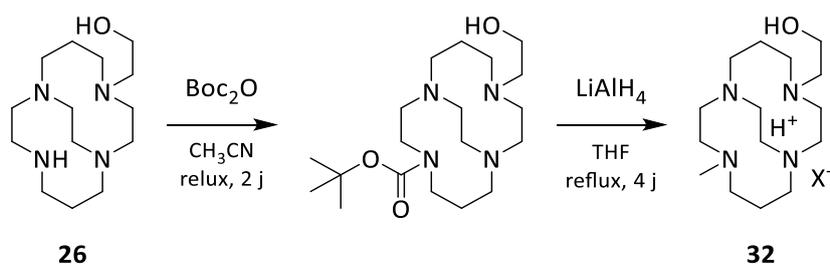


Schéma 66. Synthèse du composé **32** par addition et réduction d'un groupement Boc.

L'ensemble de ces essais de méthylation a permis d'obtenir environ 130 mg de composé pur mais cela ne représente qu'entre 10 et 20 % du CB-TE1EtOH (**26**) engagé. Le cumul des faibles rendements des deux étapes : introduction du groupement éthylènehydroxy et méthylation nous a incité à chercher une autre voie de synthèse, plus efficace et dont les purifications seraient plus simples.

(ii) La synthèse du **CB-TEMeEtOH (32)** a été repensée à partir du cyclam commercial. Pour s'affranchir des difficultés rencontrées lors de l'étape de méthylation, il a été envisagé d'introduire le groupement méthyle le plus tôt possible. Nous avons décidé de l'introduire sur le cyclam-glyoxal, directement à l'aide d'iodométhane. Afin de former un pont éthylène "cross-bridged" le cyclam-glyoxal doit être difonctionnalisé, cependant, le groupement éthylènehydroxy ne peut pas être introduit à ce stade. Par conséquent, il a été décidé d'utiliser un groupement benzyle, pouvant être éliminé pour introduire l'alcool ultérieurement. L'ordre d'introduction des groupements benzyle et méthyle a été fait à l'inverse de notre réflexion : la première alkylation étant plus rapide que la seconde, le groupement benzyle (**27**), plus volumineux et moins réactif, a été introduit en premier et le méthyle en second (**28**) (Schéma 67).

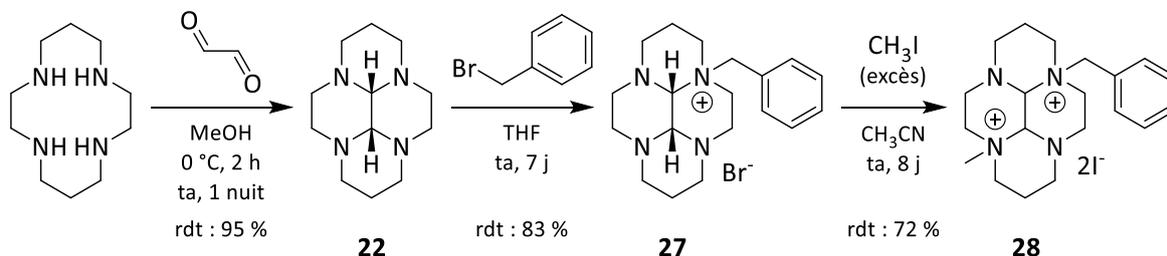


Schéma 67. Synthèse du Bn-Me-cyclam-glyoxal (**28**).

La première addition est réalisée dans le THF afin de précipité le mono-ammonium **27**, récupéré par filtration avec 83 % de rendement. Ensuite, un excès d'iodométhane est utilisé pour former le diammonium **28**, récupéré par filtration avec un rendement de 72 %.

Le pont bisaminal du composé **28** est réduit en pont éthylène "cross-bridged" à l'aide borohydrure de sodium puis l'intermédiaire **29** obtenu est déprotégé par hydrogénolyse catalytique pour conduire aux **CB-TE1Me (30)** (Schéma 68). Le composé **30** est synthétisé, sans aucune purification complexe, à l'échelle du gramme avec un rendement de 51 % à partir du cyclam, similaire au rendement de 54 % du **CB-cyclam (25)**.

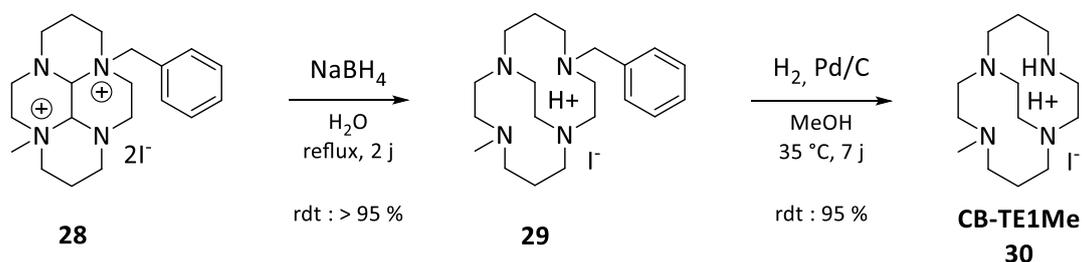


Schéma 68. Réduction du pont bisaminal et hydrogénolyse catalytique menant au **CB-TE1Me (30)**.

Une fois le composé **30** synthétisé, il a été nécessaire de le fonctionnaliser avec le groupement éthylènehydroxy. L'alkylation à l'aide de bromoéthanol ou de son dérivé tosylate (**33**) a été écartée puisque cette réaction nécessite une purification sur colonne chromatographique et l'expérience nous a montré la difficulté à récupérer le produit. Pour contourner le problème de purification d'un composé très polaire il a été envisagé d'utiliser un groupement protecteur des fonctions alcool pour rendre le composé plus hydrophobe et donc plus simple à purifier. Parmi les réactifs disponibles au laboratoire (Figure 83) il a été décidé d'utiliser le plus hydrophobe, le tert-butyldiméthylsilyle (TBDMS).

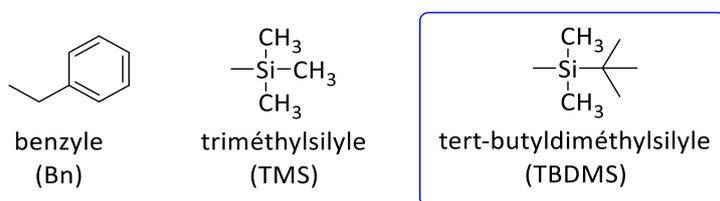


Figure 83. Groupements hydrophobes protecteurs des alcools disponibles au laboratoire.

Le 2-bromo-1-tert-butyldiméthylsilyloxy-éthane (**34**) a été préparé selon les protocoles de Vader et coll.^[206] puis a été additionné sur le composé **30** dans l'acétonitrile à reflux en

présence d'un excès de carbonate de potassium (Schéma 69). Le composé **31** a été purifié sur colonne chromatographique de gel de silice avec un éluant dichlorométhane/méthanol-ammoniac et récupéré avec un rendement de 73 %. Comme espéré, la purification a été beaucoup plus simple puisque le composé a été purifié sur gel de silice plutôt que sur alumine. L'analyse RMN proton de l'intermédiaire **31** *post*-colonne ne présente pas de pic autour de 10 ppm, caractéristique de la présence d'un proton labile dans la cavité macrocyclique. Ce dernier est déprotégé dans une solution d'acide chlorhydrique (3 M) à reflux puis la phase aqueuse est basifiée (pH > 12) et le **CB-TEMeEtOH (32)** est extrait à l'aide de chloroforme avec un rendement de 66 %.

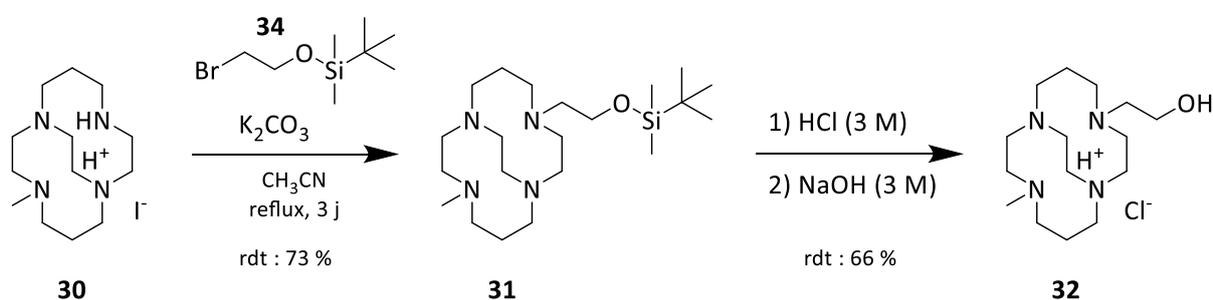


Schéma 69. Synthèse du **CB-TEMeEtOH (32)**.

L'étape de déprotection ne devrait pas offrir un rendement aussi faible, le problème vient probablement de l'extraction liquide-liquide, réalisée sur un composé qui reste protoné (**32**) et par conséquent difficile à extraire. Pour obtenir un meilleur rendement, la solution serait d'isoler le produit sous forme de chlorhydrate directement après la déprotection.

La nouvelle voie de synthèse mise au point a permis d'obtenir plusieurs centaines de milligrammes de composé **32**. De plus, ce chemin réactionnel permet la synthèse du CB-TE1Me (**30**), ce macrocycle renforcé et méthylé possède une amine secondaire qui peut être aisément fonctionnalisé et ainsi donner accès à de nouveaux composés.

2.2.e Améliorations envisagées pour la synthèse du CB-TE1EtOH

La stratégie mise au point pour la synthèse du **CB-TEMeEtOH (32)**, avec l'utilisation d'un électrophile éthylènehydroxy protégé par un groupement hydrophobe, s'est avérée efficace et pourrait être utilisée pour la préparation du ligand **CB-TE1EtOH (26)**. En effet, il est envisageable de réaliser la monoalkylation du **CB-cyclam (25)** à l'aide du 2-bromo-1-tert-

butyldimethylsilyloxy-ethane (**34**) (Schéma 70). Ce dérivé hydrophobe devrait permettre de simplifier la purification et ainsi améliorer le rendement de synthèse du ligand **26**.

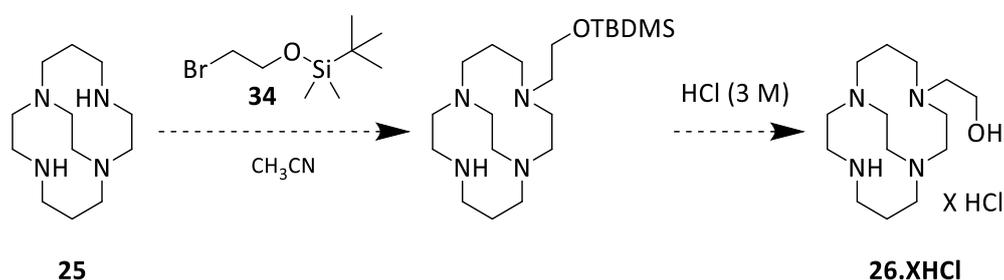


Schéma 70. Synthèse du **CB-TE1EtOH (26)** à l'aide du bromoéthanol protégé.

Cette réaction a été testée une fois sur une très faible quantité de CB-cyclam (**25**) et fonctionne correctement ; le composé majoritaire est bien celui souhaité mais une faible quantité de dérivé dialkylé a été observée. Une tentative de purification a été réalisée sur gel de silice grâce au groupement hydrophobe mais elle n'a pas permis de séparer les composés mono et difonctionnalisés. La recherche d'un éluant adéquat devrait permettre d'obtenir le composé ciblé selon cette voie de synthèse.

Une seconde possibilité pourrait permettre d'obtenir le **CB-TE1EtOH (26)** en s'affranchissant de l'étape de monoalkylation du **CB-cyclam (25)** : Archibald et coll. ont synthétisé un cyclam-glyoxal porteur d'un groupement benzyle et d'un groupement acétate de tert-butyle (Schéma 71).^[191] Une fois le sel de diammonium obtenu, sa réduction à l'aide de borohydrure de sodium a conduit au composé "cross-bridged".

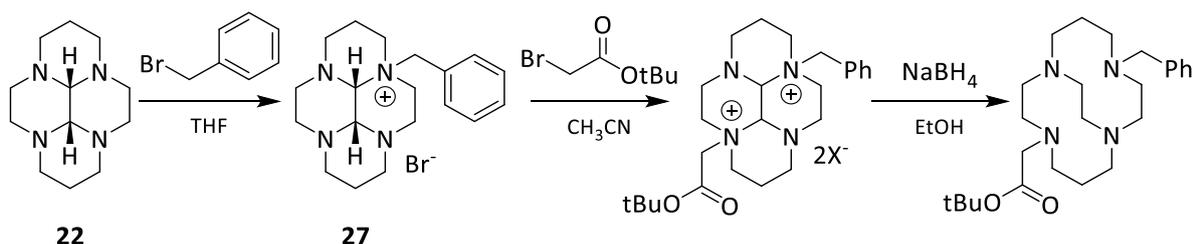


Schéma 71. Synthèse du CB-cyclam fonctionnalisé par un groupement benzyle et un ester d'acétate.

Dans notre cas, il serait nécessaire de réduire la fonction ester en fonction alcool pour obtenir le groupement éthylènehydroxy. Le borohydrure de sodium ne permet pas la réduction des esters, toutefois, la réduction du groupement acétate d'éthyle en alcool sur un dérivé de cyclam a déjà été observée au laboratoire. Dans le cas d'une réduction incomplète,

il est possible d'utiliser du borane dans le THF pour réduire simultanément le pont bisaminal ainsi que l'ester. Enfin, une déprotection par hydrogénolyse catalytique du composé obtenu devrait conduire au composé **CB-TE1EtOH (26)**.

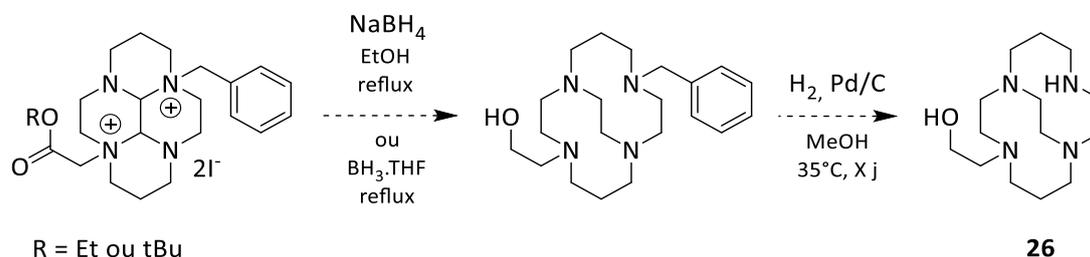


Schéma 72. Voie de synthèse hypothétique du **CB-TE1EtOH (26)**.

Dans cette voie de synthèse hypothétique, seule l'étape de réduction simultanée du pont bisaminal et de l'ester nécessite la recherche de conditions expérimentales. Cette voie de synthèse pourrait permettre la synthèse du composé **26** sans aucune étape de purification sur colonne chromatographique mais également d'atteindre facilement l'échelle du gramme.

Conclusion du chapitre II

La totalité des ligands initialement ciblés a pu être obtenue au terme des travaux de synthèse effectués. Les ligands **DMC-E (6)** et **TMC-E (7)** ont été obtenus avec d'excellents rendements par l'adaptation des protocoles utilisés sur le cyclam. La voie de synthèse mettant en jeu un intermédiaire commun jusqu'à la dernière étape de déprotection menant au **DMC-E (6)** ou de réduction menant au **TMC-E (7)**, permet la préparation facile de plusieurs grammes de ces deux ligands.

Bien que le **CB-cyclam-EtOH (13)** ait déjà été rapporté dans la littérature par notre laboratoire, les analyses réalisées au cours de ces travaux ont permis de démontrer la formation de deux diastéréoisomères et de les identifier. Il en a été de même avec le **CB-DMC-EtOH (15)** obtenu, lui aussi, sous la forme de deux diastéréoisomères qui ont pu être isolés et caractérisés. Les deux isomères identifiés pour les composés **13** et **15** diffèrent selon la position relative de la C-fonctionnalisation et du pont éthylène "cross-bridged", *syn* ou *anti* (Figure 84).

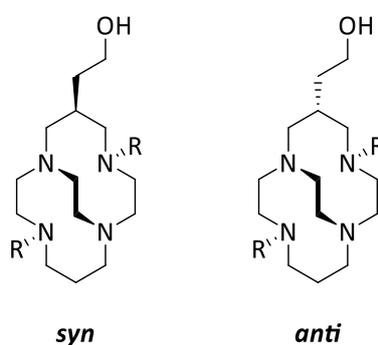


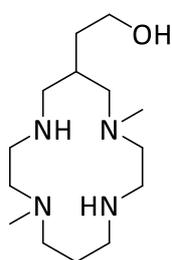
Figure 84. Structures des diastéréoisomères *syn* et *anti* des dérivés cross-bridged C-fonctionnalisés.

Le **TE1EtOH (20)** a été obtenu par deux voies de synthèse mettant en jeu un cyclam triprotégé (cyclam-PO - **16**) ou protégé par trois groupements tert-butoxycarbone (triBoc-cyclam - **18**). La monoalkylation de ces deux dérivés à l'aide de bromoéthanol suivie de leur déprotection en milieu acide a été réalisée avec succès, sans nécessité de purification complexe. La méthylation du ligand **20** pour conduire au **TE3MeEtOH (21)** a été faite selon une réaction de Eschweiler-Clarke et a mis en évidence un comportement particulier du dérivés *N*-EtOH qui a nécessité d'augmenter le temps de réaction. Contrairement aux protocoles décrits dans la littérature, la voie de synthèse mise au point au cours de ces travaux

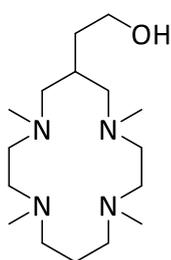
a permis d'obtenir les composés **20** et **21** avec de très bons rendements et à l'échelle du gramme.

La synthèse du **CB-TE1EtOH (26)** et celle du **CB-TEMeEtOH (32)** ont été plus compliquées à mettre au point. La principale difficulté rencontrée vient du fait que ces deux ligands ont dû être purifiés sur colonne chromatographique, cependant leur fort caractère basique rend difficile leur migration sur gel de silice comme sur alumine. Pour pallier ces problèmes lors de la purification, la synthèse du ligand **32** a été totalement repensée. Une nouvelle voie de synthèse a été mise au point en s'appuyant sur la possibilité d'alkyler le cyclam-glyoxal avec deux groupements différents, dont un groupement protecteur. L'utilisation d'un électrophile éthylènehydroxy dont la fonction alcool est protégée par un groupement hydrophobe a permis de largement simplifier l'étape de purification sur colonne chromatographique. Finalement, cette stratégie a conduit à l'obtention du ligand final **CB-TEMeEtOH (32)** avec un rendement global nettement amélioré. Ces deux stratégies pourraient être adaptées à la synthèse du **CB-TEMeEtOH (26)**.

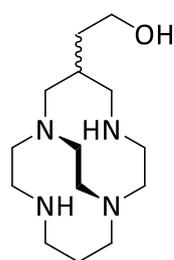
Le nombre d'étapes et le rendement globale à partir des réactifs commerciaux (tétramine 232 et cyclam) de chacun des 8 ligands synthétisés au cours de cette thèse sont regroupés dans la Figure 85.



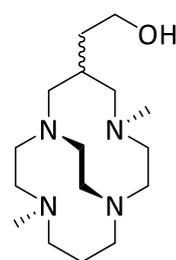
6
6 étapes
26 %



7
6 étapes
28 %

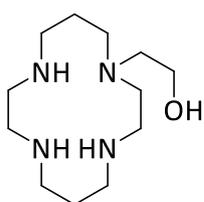


13
6 étapes
44 %

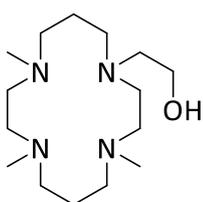


15
5 étapes
42 %

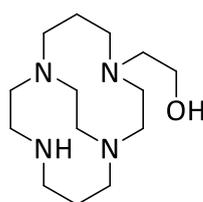
rendement à partir de la tétramine linéaire 232 :



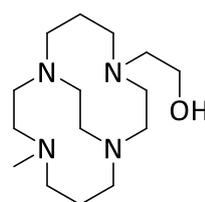
20
3 étapes
65 %



21
4 étapes
45 %



26
5 étapes
30 %



32
7 étapes
25 %

rendement à partir du cyclam :

Figure 85. Bilan du nombre d'étapes et des rendements globaux des quatre dérivés C-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy à partir de la tétramine linéaire 232 et des quatre dérivés N-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy à parti du cyclam.

Chapitre III : Etude de chimie de coordination des complexes de cuivre, de zinc et de cobalt avec les macrocycles azotés

Les macrocycles azotés possèdent des propriétés de coordination des métaux remarquables en comparaison de leurs analogues linéaires. Au cours de ce projet, nous nous sommes intéressés aux complexes de cuivre, zinc et cobalt, éléments chimiques d'intérêt pour le développement d'agents thérapeutiques pour la maladie d'Alzheimer. Nous verrons dans la première partie de ce chapitre en quoi les propriétés des complexes de ces métaux avec des ligands azamacrocycliques sont intéressantes. L'état de l'art permettra également d'expliquer le choix du cyclam comme "plateforme" de départ et de présenter les données déjà rapportées sur les complexes avec les ligands ciblés.

La seconde partie de ce chapitre sera dédiée à la présentation des résultats obtenus lors des études de chimie de coordination des complexes de cuivre, zinc et cobalt formés avec les ligands dérivés de cyclam synthétisés dans le Chapitre 2. Nous verrons l'ensemble des analyses réalisées dans le but de démontrer l'effet de chacune des modifications structurales choisies : groupements méthyle, pont éthylène "cross-bridged", C-fonctionnalisation éthylènehydroxy et N-fonctionnalisation éthylènehydroxy. Ces travaux ont permis de construire une base de donnée complète des propriétés physicochimiques des complexes de Cu^{2+} et Zn^{2+} issus des trois séries de ligands ciblés.

1. Rappels bibliographiques

Le cuivre et le cobalt, font partie de la famille des métaux de transition, caractérisés par une sous-couche d incomplète ou dont les cations présentent une sous-couche d incomplète.^[207] Le zinc et ses cations, dont la sous-couche d est complète, sont fréquemment associés aux métaux de transition avec lesquels ils partagent de nombreuses propriétés. Le numéro atomique, la configuration électronique ainsi que les degrés d'oxydation accessibles de ces trois métaux sont regroupés dans Tableau 4. Le degré d'oxydation le plus stable pour des complexes en solution, tels que ceux étudiés, sont notés en rouge.

Tableau 4. Propriétés électroniques du cuivre, du zinc et du cobalt.

métal	numéro atomique (Z)	configuration électronique	degrés d'oxydation
Cuivre	29	[Ar]3d ¹⁰ 4s ¹	+I, +II , +III
Zinc	30	[Ar]3d ¹⁰ 4s ²	+I, +II
Cobalt	27	[Ar]3d ⁷ 4s ¹	-I, +I, +II , +III , +IV, +V

Les rappels bibliographiques qui suivent seront dédiés aux propriétés de coordination de ces trois métaux, aux propriétés chélatantes des azamacrocycles, principalement le cyclam, ainsi qu'aux différentes techniques d'analyse permettant de caractériser les complexes métalliques formés avec ces ligands.

1.1 Généralités sur les complexes

1.1.a Propriétés de coordination du cuivre, du zinc et du cobalt

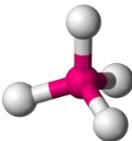
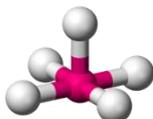
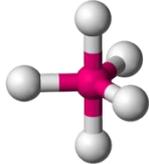
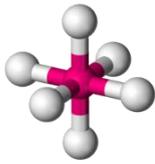
Selon la classification de Pearson^[208], les cations Cu²⁺, Zn²⁺, Co²⁺ sont des cations de dureté intermédiaire, ils sont donc susceptibles de former des complexes stables avec des bases de Lewis intermédiaires (N, O, S). En revanche, l'ion Co³⁺ est considéré comme un acide dur et formera des complexes stables de préférence avec des bases de Lewis dures (F⁻/Cl⁻, RO⁻, RCOO⁻, NH₃).^[208] Les configurations électroniques de ces cations ainsi que leurs rayons ioniques sont regroupés dans le Tableau 5. Les rayons ioniques à l'état d'oxydation +II sont relativement proches, cependant, le Co³⁺ possède un rayon plus faible.

Tableau 5. Propriétés des cations Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} et Co^{3+} .

cation	dureté	configuration électronique	rayon ionique (pm)
cuivre(II)	intermédiaire	$[\text{Ar}]3d^9$	62 - 73
Zinc(II)	intermédiaire	$[\text{Ar}]3d^{10}$	60 - 74
cobalt(II)	intermédiaire	$[\text{Ar}]3d^6$	65 - 73
cobalt(III)	dur	$[\text{Ar}]3d^5$	52 - 61

Ces quatre cations ont un nombre de coordination de 4, 5 ou 6 et forment des complexes de type ML_4 , ML_5 ou ML_6 (M étant le métal et L un ligand). Le nombre et la nature des ligands L qui entourent le centre métallique déterminent la géométrie du complexe (Tableau 6).^[209]

Tableau 6. Géométrie des complexes de coordination en fonction de leur nombre de coordination.

nombre de coordination	4	4	5	5	6
géométrie					
	plan carré	tétraédrique	pyramide à base carrée	bipyramide à base triangulaire	bipyramide à base carrée (octaédrique)

Ces géométries « parfaites » sont susceptibles d'être déformées lorsque le ou les ligands présentent une certaine rigidité ou lorsque le centre métallique présente une levée de dégénérescence orbitale particulière (effet Jahn-Teller, *vide infra*).

1.1.b Théorie du champ cristallin

La théorie du champ cristallin décrit la structure électronique des complexes de métaux de transition, elle permet d'expliquer les propriétés magnétiques, l'état de spin ou encore les propriétés d'absorption (donc la couleur dans le visible) voire celles d'émission. Le centre métallique y est représenté par les niveaux d'énergie de ses orbitales d et les électrons qu'elles contiennent. Pour un métal libre, les orbitales d, notées d_{xy} , d_{xz} , d_{yz} , $d_{x^2-y^2}$ et d_{z^2} , sont dégénérés (= même énergie). En revanche, lors de la formation d'un complexe, l'interaction

entre les orbitales du métal et les ligands entraîne une levée de dégénérescence. Pour un complexe octaédrique, les orbitales se séparent en deux niveaux d'énergie : le niveau t_{2g} avec les orbitales d_{xy} , d_{yz} et d_{zx} et le niveau e_g avec les orbitales $d_{x^2-y^2}$ et d_{z^2} (Figure 86). Le niveau e_g est plus haut en énergie, ses orbitales sont portées par les axes x , y , z qui donnent des interactions répulsives avec les ligands, tandis que le niveau t_{2g} est plus bas en énergie, ses orbitales se trouvent dans les plans 'xy', 'xz' et 'yz'.

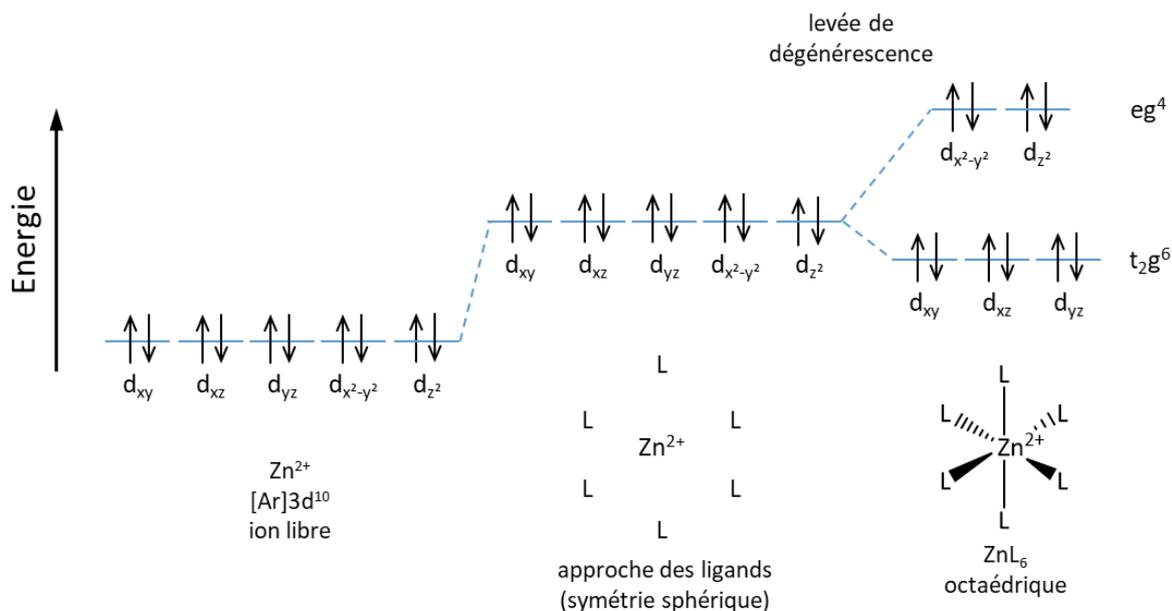


Figure 86. Théorie du champ cristallin appliquée à un complexe de type ZnL_6 octaédrique.

La levée de dégénérescence d'un complexe de zinc(II) octaédrique conduit à un système de configuration notée $t_{2g}^6 e_g^4$ où toutes les orbitales sont remplies (10 électrons). Dans le cas des cations métalliques avec moins de 10 électrons dans la sous-couche d , des phénomènes d'état de spin ou de distorsion (Jahn-Teller) peuvent être observés.

(i) Etat de spin

Dans le cas d'un complexe ZnL_6 , la répartition des électrons est assez simple puisque le zinc possède une configuration externe en $3d^{10}$ permettant de remplir chacune des orbitales. Dans le cas général, les orbitales doivent être remplies selon le principe d'exclusion de Pauli (spins antiparallèles) et la règle de Hund (maximisation du spin total). Cependant, après la levée de dégénérescence, les orbitales sont réparties selon deux niveaux d'énergie et la règle de Hund n'est pas systématiquement respectée. Les trois orbitales t_{2g} sont d'abord remplies avec un électron chacune et les électrons suivant doivent être placés selon le principe

de minimisation de l'énergie. Ils peuvent ainsi être placés dans une orbitale e_g (règle de Hund) ou bien appariés aux électrons présents dans les orbitales t_{2g} lorsque le paramètre de champ cristallin (Δ_o) est supérieur à l'énergie d'appariement. Ce phénomène rend possible la formation de deux répartitions appelées bas spin et haut spin, définies par l'écart entre les niveaux d'énergie Δ_o (Figure 87). Dans le cas d'un complexe de cobalt(II), la levée de dégénérescence octaédrique peut donner deux configurations : $t_{2g}^6 e_g^1$, dite bas spin (grand Δ_o , $S = \pm 1/2$) ou $t_{2g}^5 e_g^2$, dite haut spin (petit Δ_o , $S = -3/2, -1/2, 1/2, 3/2$).

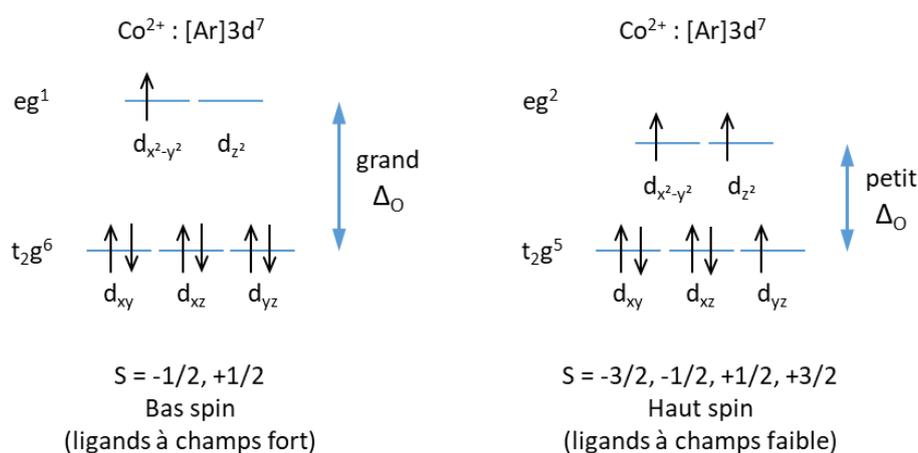


Figure 87. Répartitions orbitales bas spin et haut spin des électrons dans les orbitales d d'un complexe de cobalt(II) octaédrique.

Le paramètre Δ_o dépend du métal de transition considéré et du ligand. Il tend à augmenter en descendant dans le tableau périodique. Ainsi, les périodes 5 et 6 présentent généralement un Δ_o suffisamment grand pour ne former que les complexes bas spin et seuls les métaux de transition de la période 4 sont susceptibles d'accéder aux deux états de spin. Pour une levée de dégénérescence octaédrique, les états haut spin et bas spin sont accessibles pour les cations dont les orbitales comptent de 4 à 7 électrons. La charge du cation influence la valeur de Δ_o : le cobalt(III) de configuration électronique $3d^6$, qui crée un champ de ligand plus fort que le cobalt(II), aura plus de chance de se retrouver dans un état bas spin que haut spin. Enfin, le Δ_o repose sur la nature des ligands : les halogènes (F^- , Cl^- , Br^- , I^-) sont des ligands à champ faible (petit Δ_o), H_2O est considéré comme intermédiaire et NH_3 , CN^- , CO sont des ligands à champ fort (grand Δ_o). Les complexes de cobalt(II) avec des ligands azotés, tels que ceux étudiés au cours de cette thèse, se trouvent généralement dans un état bas spin.

(ii) Effet Jahn-Teller

Dans certaines situations, l'existence d'un niveau électronique fondamentalement dégénéré engendre une distorsion géométrique, appelée distorsion de Jahn-Teller.^[210] Cet effet est principalement observé dans le cas où les orbitales e_g sont occupées par un nombre impair d'électron. Il est retrouvé dans les complexes avec des cations de configuration $3d^9$ ainsi que de configuration $3d^7$ bas spin et $3d^4$ haut spin. La complexation du cuivre(II), de configuration $3d^9$, est donc soumise à ce phénomène. Cela engendre une distorsion le long de l'axe "z", se traduisant par une élévation des liaisons le long de cet axe (Figure 88).^[211]

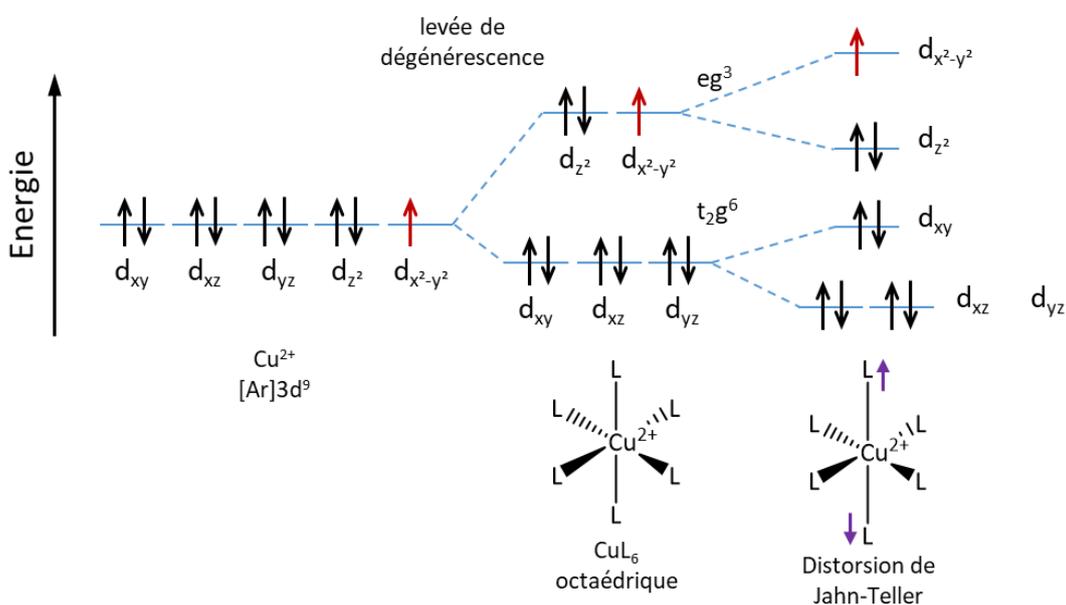


Figure 88. Diagramme d'énergie des orbitales d d'un complexe de type CuL_6 selon la théorie du champ cristallin.

La répartition des orbitales se retrouve modifiée par cette distorsion, celles ayant une composante selon l'axe 'z' sont stabilisées et les autres voient leur énergie augmenter.

1.1.c Propriétés spectroscopiques du cuivre

En spectroscopie UV-Visible, les complexes de cuivre(II) présentent une bande d'absorption large et de faible intensité située entre 500 et 1000 nm. Cette bande d'absorption est due à des transitions électroniques entre les orbitales d, dites transitions d-d. L'énergie nécessaire à l'excitation des électrons dépend de l'écart entre les orbitales, issu de la levée de dégénérescence, est elle-même liée à la géométrie du complexe (Figure 89).^[212]

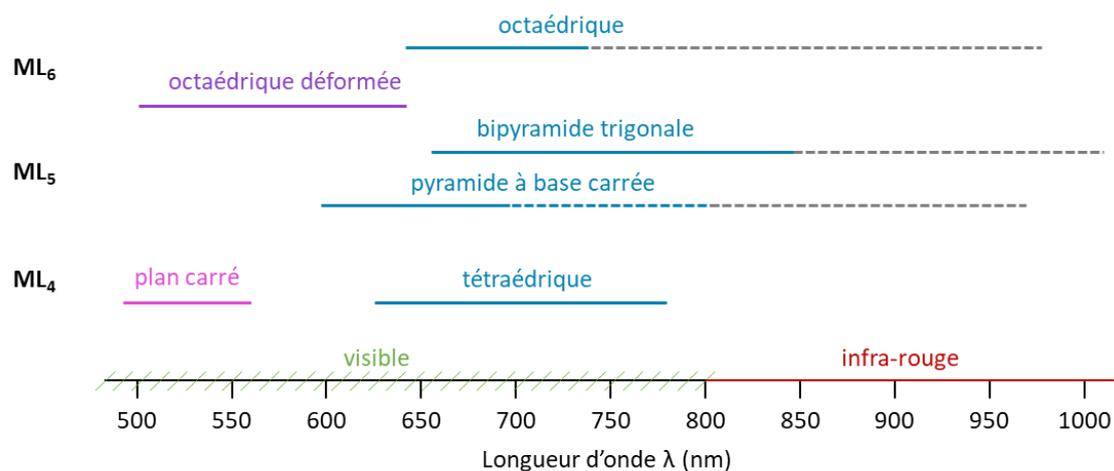


Figure 89. Corrélation entre la longueur d'onde d'absorption des transitions d-d et la géométrie des complexes de cuivre(II).^[213]

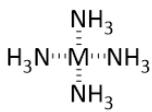
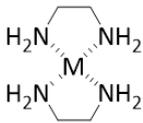
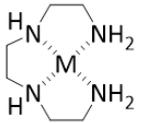
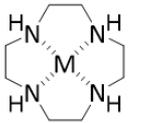
Les complexes CuL₄, de géométrie plan carré ou tétraédrique, ont une absorbance comprise respectivement entre 500 et 555 nm ou entre 625 et 800 nm. Les complexes CuL₅ absorbent entre 600 et 1000 nm pour une géométrie pyramidale à base carrée ou entre 700 et 850 nm pour une bipyramide à base triangulaire. Enfin, les complexes CuL₆ présentent une absorbance entre 500 et 650 nm pour une géométrie octaédrique déformée (distorsion de Jahn-Teller) ou entre 650 et 1000 nm pour un octaèdre classique.^[213]

Les complexes de cuivre(II) ayant une absorption dans le domaine du visible (400-800 nm), ils sont colorés, leur couleur correspond à la longueur d'onde complémentaire du photon absorbé.

1.1.d « Effet chélate » et « effet macrocyclique »

De manière générale, les ligands polydentates forment des complexes de coordination plus stables que les ligands monodentates (H₂O, NH₃...). Dans le cas d'un complexe de cuivre(II) avec des ligands azotés, la constante thermodynamique de formation du complexe (log K_{CuL}) augmente lors du passage de quatre ligands monodentates à deux ligands bidentates puis à un seul ligand tétradentate (Tableau 7).^[214] Ce phénomène a été appelé « effet chélate » dès les années 1920 puis a été décrit de façon entropique par Hancock et Martell en 1988.

Tableau 7. Constantes thermodynamiques de formation des complexes ($\log K_{CuL}$) en fonction de la denticité des ligands.^[214]

				
ligand	- NH3	Ethylenediamine	222	cyclen
nature	linéaire	linéaire	linéaire	cyclique
denticité	monodentate	bidentate	tétradentate	tétradentate
$\log K_{CuL}$	13,0	19,6	20,1	23,3

Les auteurs définissent également le terme d'« effet macrocyclique », illustré par le passage d'un ligand tétradentate linéaire à un ligand cyclique de même denticité lors duquel la constante de formation du complexe augmente encore. L'effet macrocyclique trouve son origine dans la structure plus rigide et donc préorganisée du ligand.

Pour expliquer l'effet chélate et macrocyclique, Hancock et Martell ont mis en avant la formation de métallocycles qui favorisent la formation du complexe. Parmi tous les cycles possibles, ceux à 5 et à 6 chaînons formés avec des ligands azotés sont les plus stables pour les cations métalliques, dont ceux des métaux de transitions (Figure 90).

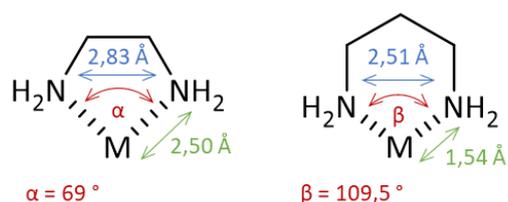


Figure 90. Caractéristiques géométriques des métallocycles à 5 et 6 chaînons.^[215]

Les distances plus longues dans le métallocycle à 5 chaînons ont pour effet de resserrer l'angle \widehat{NMN} . Hancock et Martell ont étudié l'influence de l'augmentation de la taille du métallocycle sur les constantes de stabilité des complexes de plusieurs métaux de transition, lors du passage de métallocycles de cinq à six chaînons (Figure 91).^[215] Ils ont ainsi représenté sur un graphique la différence des constantes de formation des complexes ($\Delta \log K$) en fonction du rayon ionique du métal.

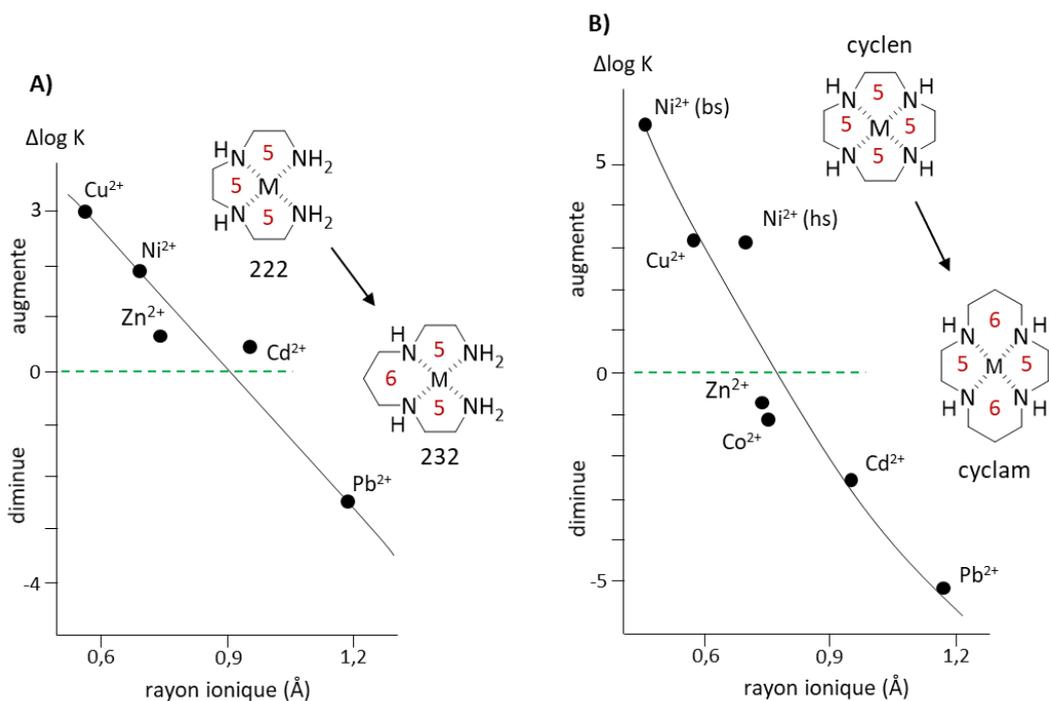


Figure 91. Effet de l'augmentation de la taille des métallocycles sur la constante de complexation K : **A)** en passant de la tétramine 222 à la 232 ; $\Delta \log K = \log K_{M(232)} - \log K_{M(222)}$ **B)** en passant du cyclen au cyclam ; $\Delta \log K = \log K_{M(\text{cyclam})} - \log K_{M(\text{cyclen})}$. La variation de constante de complexation $\Delta \log K$ est donnée en fonction du rayon ionique du centre métallique. bs = bas spin et hs = haut spin.^[215]

Lors du passage de la tétramine linéaire 222 à la 232 (**A** - Figure 91), les constantes de complexation augmentent fortement pour les cations avec un petit rayon ionique ($\Delta \log K_{\text{CuL}} = +3$) puis diminuent de façon linéaire avec l'augmentation du rayon ionique. En ce qui concerne le passage du cyclen au cyclam (**B** - Figure 91), la même tendance est observée ($\Delta \log K_{\text{CuL}} = +3,2$), cependant, le $\Delta \log K$ diminue plus rapidement avec l'augmentation du rayon ionique. Ainsi, le complexe de zinc se retrouve légèrement déstabilisé, ce qui n'était pas le cas avec les ligands linéaires. Il s'agit ici de la limite de l'effet macrocyclique, la taille du macrocycle est un facteur important dans le choix du métal à coordiner : les cations de grande taille (Cd^{2+} , Pb^{2+}) préfèrent se trouver au-dessus du plan formé par les atomes d'azote d'un petit macrocycle (cyclen > cyclam), tandis que les cations de petite taille (Cu^{2+} , Ni^{2+}) entrent dans la cavité macrocyclique si la taille de celui-ci le permet (cyclam > cyclen). Les cations tels que ceux du zinc et du cobalt sont de tailles intermédiaires, la déstabilisation des complexes lors du passage du cyclen au cyclam est relativement faible. Par conséquent, le choix du cyclam comme plateforme de coordination est un excellent compromis dans l'objectif de former des complexes stables de cuivre, de zinc et de cobalt.

1.2 Etude structurale des complexes du cyclam

1.2.a Géométrie et isomérisation des complexes de cyclam

Les complexes métalliques formés à partir du cyclam peuvent adopter plusieurs géométries. En 1965, Bosnich et coll. en ont rapporté jusqu'à six susceptibles de se former (Figure 92).^[216] Elles sont dénommées en fonction de l'orientation des deux atomes coordinants manquants pour former un octaèdre : *trans* lorsqu'ils se situent de part et d'autre du cation métallique et *cis* dans le cas contraire. Leur géométrie dépend de la configuration absolue des atomes d'azote lorsque le doublet non-liant est engagé dans une liaison de coordination (type I à V).

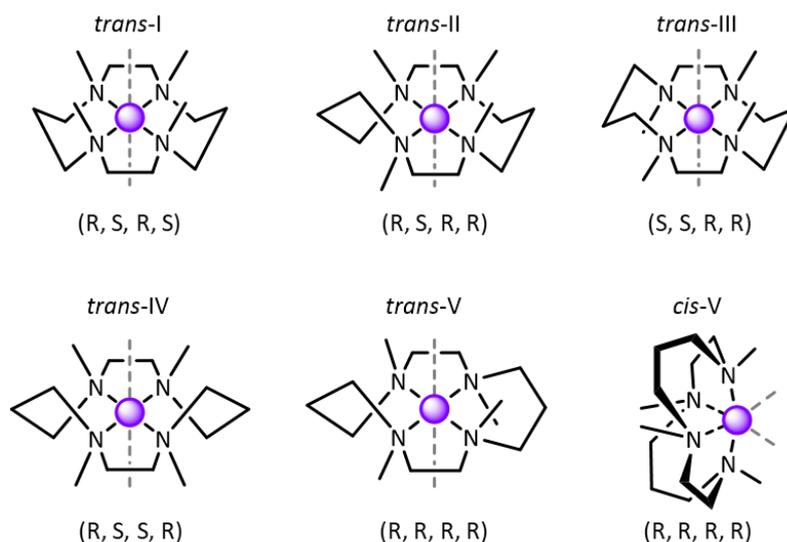


Figure 92. Configurations possibles pour un complexe métallique de cyclam.

Bosnich et coll.^[216] et plus tard Whimp et coll.^[217] ont indiqué que les isomères qui présentent le moins de contraintes et de répulsions électroniques sont le *trans-I*, le *trans-III* et le *cis-V*. La configuration *trans-III* est plus stable pour une géométrie octaédrique (ML₆) tandis que la *trans-I* est adaptée à une géométrie de type pyramide à base carrée (ML₅). Les composés cross-bridged, contraints par un pont éthylène joignant les atomes d'azote diagonalement opposés, ne peuvent former que des complexes de configuration *cis-V*.

1.2.b Etude des configurations du complexe [Zn(cyclam)]²⁺

Les complexes de zinc, diamagnétiques, sont particulièrement adaptés à l'étude de ces configurations par RMN ¹H et ¹³C. En 2003, Sadler et coll. ont présenté une étude sur l'équilibre en solution entre les différentes configurations du complexe [Zn(**cyclam**)]²⁺ avec divers contre-ions. Trois isomères, *trans*-I, *trans*-III et *cis*-V, ont été identifiés et le ratio de chacun d'eux a été évalué par intégration des signaux en RMN ¹H ; les résultats sont regroupés dans le Tableau 8.

Tableau 8. Distribution des configurations des complexes de [Zn(**cyclam**)]²⁺ (40 mM) à l'équilibre dans 10 % D₂O/90 % H₂O.

	configurations [%]		
	<i>trans</i> -I	<i>trans</i> -III	<i>cis</i> -V
[Zn(cyclam)](CH ₃ COO) ₂	11,9	45,3	42,8
[Zn(cyclam)](phtalate)	22,7	31,9	45,4
[Zn(cyclam)](ClO ₄) ₂	8,2	83,2	8,6
[Zn(cyclam)]Cl ₂	11,2	79,6	9,2

Les valeurs rapportées montrent que le contre-ion a une influence importante sur le ratio de chacune des configurations en solution. L'isomère *trans*-I est le moins présent quel que soit le contre-ion en raison de sa géométrie pyramide à base carrée. Les perchlorates et les chlorures favorisent l'isomère *trans*-III tandis que les carboxylates (CH₃COO⁻ et phtalate) augmentent la proportion d'isomère *cis*-V. Les ratios particuliers observés avec le contre-ion phtalate s'expliquent par le fait que ce ligand est bidentate et ne peut coordiner le centre métallique que sur une seule face, par conséquent il conduit à une augmentation des configurations *cis*-V (octaédrique) et *trans*-I (pyramide à base carrée).

1.2.c Structures cristallographiques connues des complexes de cuivre, de zinc et de cobalt avec les dérivés du cyclam étudiés

La cristallographie par diffraction des rayons-X est un excellent moyen pour obtenir les données structurales à l'état solide des composés. Plusieurs structures cristallographiques des complexes de cuivre, de zinc et de cobalt avec les ligands étudiés au cours de ce projet (principalement de la série n°1) ont déjà été rapportées dans la littérature. Le Tableau 9

regroupe les données d'une partie des complexes du **cyclam** et du **TMC**, celles des quelques structures disponibles avec les dérivés **CB-cyclam** et **CB-DMC**, ainsi que celles de la structure du $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$ obtenue au sein de notre laboratoire. Bien que les ligands **DMC**, **TE1EtOH** ou **TE3MeEtOH** soient connus, aucune structure de complexe métallique n'a, jusqu'ici, été rapportée dans la littérature.

Tableau 9. Récapitulatif des structures R-X des complexes connus.

complexes	configuration	NC	géométrie	ref
$[\text{Cu}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique	[218]
$[\text{Cu}(\text{cyclam})(\text{ClO}_4)_2]$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique	[219]
$[\text{Zn}(\text{cyclam})(\text{ClO}_4)_2]$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique	[220]
$[\text{Zn}(\text{cyclam})(\text{H}_2\text{O})_2](\text{OAc})_2$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique	[221]
$[\text{Co}(\text{III})(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique	[222]
$[\text{Cu}(\text{TMC})(\text{NO}_3)_2]$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique	[223]
$[\text{Cu}(\text{TMC})\text{H}_2\text{O}](\text{ClO}_4)_2$	<i>trans</i> -I	5	Pyramide à base carrée	[224]
$[\text{Cu}(\text{TMC})\text{NCS}](\text{ClO}_4)_2$	<i>trans</i> -I	5	Pyramide à base carrée	[225]
$[\text{Zn}(\text{TMC})\text{Cl}]\text{ClO}_4$	<i>trans</i> -I	5	Pyramide à base carrée	[226]
$[\text{Zn}(\text{TMC})\text{H}_2\text{O}](\text{ClO}_4)_2$	<i>trans</i> -I	5	Pyramide à base carrée	[227]
$[\text{Co}(\text{II})(\text{TMC})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$	<i>trans</i> -I	5	Pyramide à base carrée	[4]
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})\text{Cl}]\text{Cl}$	<i>cis</i> -V	5	Pyramide à base carrée	[189]
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})\text{ClO}_4]\text{ClO}_4$	<i>cis</i> -V	5	Pyramide à base carrée	[189]
$[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})\text{H}_2\text{O}(\text{ZnCl}_4)]$	<i>cis</i> -V	6	octaédrique	[228]
$\{[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})]_2\text{Cl}_2\}\text{Cl}_2$	<i>cis</i> -V	6	octaédrique	[228]
$[\text{Cu}(\text{CB-DMC})\text{Cl}]\text{Cl}$	<i>cis</i> -V	5	Pyramide à base carrée	[188]
$[\text{Cu}(\text{cyclam-E})(\text{ClO}_4)_2]$	<i>trans</i> -III	6	Octaédrique déformée	[171]

NC = nombre de coordinence

Les structures cristallographiques des complexes métalliques du **cyclam** rapportées dans la littérature sont toutes de configuration *trans*-I. Les complexes du **TMC** adoptent, quant à eux, majoritairement la configuration *trans*-I. Cependant, une structure de l'isomère *trans*-III a été obtenue, par l'équipe de M. H. Lim, pour le complexe $[\text{Cu}(\text{TMC})\text{NO}_3]_2$, mettant en évidence l'influence des contre-ions sur la structure à l'état solide. Les complexes métalliques des dérivés "cross-bridged", **CB-cyclam** et **CB-DMC**, ne se trouvent que dans la configuration *cis*-V en raison de la contrainte apportée par le pont éthylène, cependant, deux géométries

ont été rapportées selon le métal, pyramide à base carrée avec un cuivre pentacoordiné ou octaédrique avec un zinc hexacoordiné. Le complexe $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})\text{Cl}_2]$, rapporté par notre laboratoire, présente la même géométrie octaédrique déformée que son analogue « non C-fonctionnalisé », le $[\text{Cu}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]$.

Les structures connues des complexes de cuivre du cyclam et de ses dérivés (série n°1) sont regroupées Figure 93. Elles sont représentatives des trois configurations les plus stables, des différentes géométries et des déformations qui peuvent être observées.

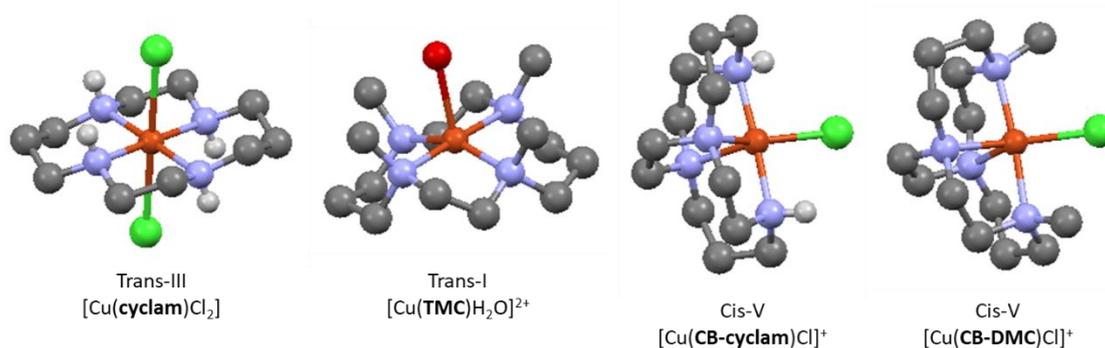


Figure 93. Structures cristallographiques des complexes de cuivre du **cyclam**, du **TMC**, du **CB-cyclam** et du **CB-DMC** dans la configuration la plus rapportée à l'état solide.

Le complexe $[\text{Cu}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]$ adopte une géométrie octaédrique déformée (effet Jahn-Teller), le cuivre se situe sur le même plan que les quatre atomes d'azote et les deux atomes de chlore occupent les positions apicales éloignées. Le $[\text{Cu}(\text{TMC})\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ forme une pyramide à base carrée déformée, le cuivre se situe légèrement au-dessus du plan moyen formé par les quatre atomes d'azote (0,22 Å). Pour les complexes de configuration *cis-V*, la géométrie qui semble être, à première vue, une bipyramide à base triangulaire est en fait une pyramide à base carrée déformée. En effet, trois atomes d'azote et l'ion chlorure se situent quasiment sur le même plan et le sommet de la pyramide (position apicale) est occupé par le quatrième atome d'azote. Les deux équipes ayant rapportées les structures des complexes "cross-bridged" ont souligné cette particularité sans pour autant être en mesure d'expliquer pourquoi la bipyramide trigonale logiquement attendue n'est pas observée.

1.3 Etude des propriétés thermodynamiques

1.3.a Propriétés acido-basiques

(i) Généralités

Les polyazacycloalcanes sont, comme leur nom l'indique, constitués de fonctions amine, qui leur confèrent des propriétés acido-basiques. Les protonations successives d'un ligand peuvent être décrites par les constantes des réactions de protonation partielles K_n (Tableau 10). Lors de l'étude de la stabilité thermodynamique, la basicité d'un ligand est plus généralement décrite par les constantes globales β_n .

Tableau 10. Equilibres de protonation et constantes de réaction associées.

équilibres		constantes
$L + H$	$\xrightleftharpoons{K_1} LH$	$K_1 = \frac{[LH]}{[L][H]}$
$LH + H$	$\xrightleftharpoons{K_2} LH_2$	$K_2 = \frac{[LH_2]}{[LH][H]}$
$LH_{(n-1)} + H$	$\xrightleftharpoons{K_n} LH_n$	$K_n = \frac{[LH_n]}{[LH_{(n-1)}][H]}$
$L + nH$	$\xrightleftharpoons{\beta_n} LH_n$	$\beta_n = K_1 \times K_2 \times \dots \times K_n$

Les logarithmes des constantes K_n ($\log K_n$) correspondent aux potentiels d'acidité de chaque fonction (pK_{a_n}). En effet les constantes K_{a_n} sont définies par les réactions inverses de celles considérées ici. Par conséquent :

$$K_{a_n} = (K_n)^{-1} \quad \text{et} \quad pK_{a_n} = -\log (K_n^{-1}) = \log K_n.$$

Cette égalité conduit à décrire la basicité globale d'un ligand par le logarithme de sa constante de protonation globale β_n ($\log \beta_n$), équivalent à la somme des pK_a .

Une constante $\log K_n$ basse signifie que la protonation est difficile, autrement dit, plus la valeur est basse moins l'amine est basique. Les constantes de protonation varient selon la taille du macrocycle et selon la nature des amines (*vide infra*). La mesure des constantes de protonation du ligand est indispensable pour déterminer les constantes de stabilité thermodynamique des complexes métalliques de ce ligand.

Plusieurs méthodes expérimentales existent pour mesurer les constantes de protonation : la potentiométrie, la pH-métrie, la spectroscopie UV-Visible ou encore la RMN. Au sein de notre laboratoire, la potentiométrie a été choisie pour sa précision et sa sensibilité. Les valeurs sont généralement données à 25 °C, dans l'eau pure avec une force ionique $\mu = 0,1 \text{ M}$ (KCl, NaNO_3 ou KNO_3 selon le ligand étudié).

(ii) Propriétés acido-basiques du pyclen, du cyclen et du cyclam

Afin de montrer l'influence de la taille du macrocycle et de la nature des fonctions amine sur la basicité de quelques tétraazamacrocycles, les constantes de protonation du pyclen, du cyclen et du cyclam, ont été regroupées dans le Tableau 11. Bien que différentes, elles suivent la même évolution : deux amines présentent des pK_a supérieurs à 7 (basiques) tandis que les deux autres sont difficilement protonables et présentent des pK_a très bas.

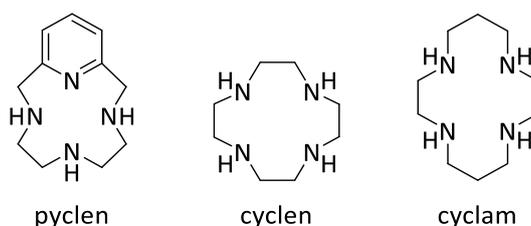


Figure 94. Structures du pyclen, du cyclen et du cyclam rapportés dans le Tableau 11.

Tableau 11. Constantes de protonation $\log K_n$ et $\log \beta_2$ ($\log K_1 + \log K_2$) du pyclen, du cyclen et du cyclam.

L =	pyclen ^[229]	cyclen ^[230]	cyclam ^[231]
$\log K_1$	10,33	11,05	11,29
$\log K_2$	7,83	9,78	10,19
$\log K_3$	1,27	-	1,61
$\log K_4$	< 1	-	1,91
$\log \beta_2$	18,16	20,83	21,48

Ce tableau montre que chaque constante de protonation partielle évolue selon le même ordre : pour $\log K_1$ pyclen (10,33) < cyclen (11,05) < cyclam (11,29) et pour $\log K_2$ pyclen (7,83) < cyclen (9,78) < cyclam (10,19). Les valeurs de pK_3 et pK_4 n'étant pas systématiquement déterminées (pH trop acide), la basicité des ligands est fréquemment

comparée en utilisant seulement la somme ($\log K_1 + \log k_2$) qui équivaut à la constante globale $\log \beta_2$. Ainsi, les trois ligands considérés peuvent être classés par ordre de basicité croissante : pyclyen (18,16) < cyclen (20,83) < cyclam (21,48). Lorsque la taille du macrocycle diminue (cyclam > cyclen > pyclyen), la basicité globale du ligand diminue en raison de l'augmentation de la répulsion électronique entre les charges positives.

(iii) Processus de protonation du cyclam

Une certaine amplitude existe dans les valeurs rapportées pour chaque ligand selon les conditions expérimentales et les appareils de mesure, notamment pour le **cyclam**, avec des variations allant jusqu'à $\pm 0,5$ sur chacune des constantes.^[231,232] Toutefois, bien que les valeurs soient légèrement différentes, le processus de protonation rapporté reste le même. Sous forme base libre, les doublets non liants de deux atomes d'azote diagonalement opposés sont orientés vers l'extérieur de la cavité et ceux des deux autres vers l'intérieur de celle-ci (Schéma 73).

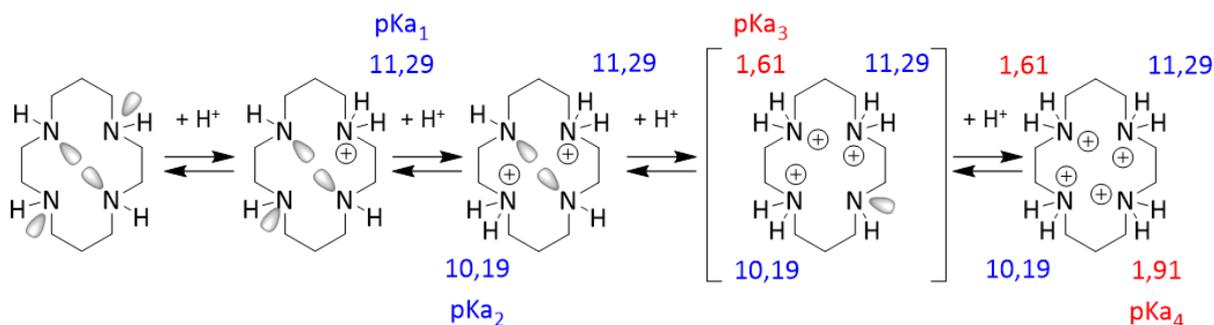


Schéma 73. Mécanisme des protonations successives du cyclam.

Les deux amines dont les doublets sont accessibles sont les premières à être protonées ($\log K_1 = 11,29$ et $\log K_2 = 10,19$). La troisième protonation est ensuite particulièrement difficile ($\log K_3 = 1,61$) car les doublets non liants des atomes d'azote sont dirigés vers l'intérieur de la cavité macrocyclique. Pour que la troisième protonation ait lieu, il faut que les atomes d'azote s'inversent, ce qui a pour effet de faciliter la quatrième protonation ($\log K_4 = 1,91$). Un phénomène d'inversion des deux dernières constantes de protonation ($\log K_3 < \log K_4$) a ainsi été observé pour le **cyclam**.

(iv) Propriétés acido-basiques des dérivés méthylés et renforcés (par un pont éthylène “cross-bridged”) du cyclam

Parmi les ligands ciblés au cours de ces travaux de thèse, les propriétés acido-basiques des dérivés de cyclam de la série n°1 (Figure 95) ont déjà été étudiées dans la littérature ; les constantes de protonation de ces cinq ligands ont été regroupées dans le Tableau 12. Les valeurs données pour le **DMC** ont cependant été mesurées dans un mélange eau/méthanol, par conséquent, les comparaisons faites avec ces valeurs sont à considérer avec prudence. Puisqu’elles ne reflètent pas exactement un comportement en milieu aqueux.

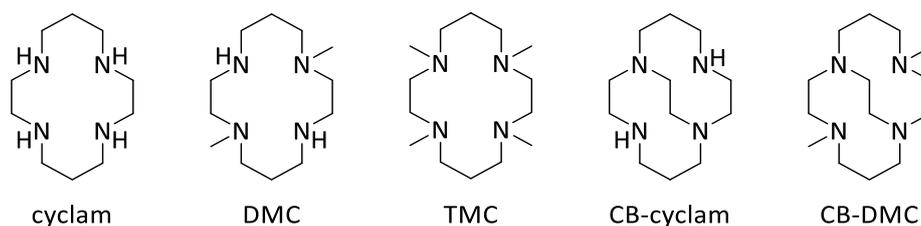


Figure 95. Structures des macrocycles de la série n°1, discutés dans le Tableau 12.

Tableau 12. Constantes de protonation des dérivés de cyclam méthylés et éthylène cross-bridged.

L =	cyclam ^[231]	DMC ^[233]	TMC ^[140]	CB-cyclam ^[234]	CB-DMC ^[196]
log K ₁	11,29	10,41*	9,34	12,42	> 13,5
log K ₂	10,19	8,53*	8,99	10,20	≈ 10,45
log K ₃	1,61	< 2*	2,58	-	-
log K ₄	1,91	< 2*	2,25	-	-
log β ₂	21,48	18,94*	18,33	22,62	> 23,95

*Conditions : CH₃OH/H₂O (1 :1 v/v), μ = 0,1 M KCl, 25 °C.

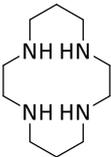
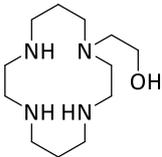
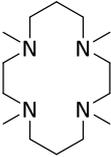
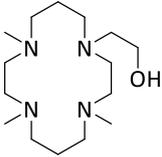
Lors de l’ajout de groupements méthyle sur le **cyclam** la première constante de protonation log K₁ diminue : **cyclam** (11,29) > **DMC** (10,41*) > **TMC** (9,34). Cet effet est également observé pour la seconde constante de protonation log K₂ : **cyclam** (10,19) > **TMC** (8,99) mais n’est pas vérifié pour le **DMC** (potentiellement dû aux conditions expérimentales différentes). Cette évolution est identique à l’ordre de basicité des amines substituées par des groupements inductifs donneurs (tel que CH₃) dans l’eau : N(CH₃)₃ (9,8) < NH(CH₃)₂ (10,8).^[235] Ainsi, plus le nombre de groupements méthyle augmente, moins le ligand est basique, le log β₂ évoluant selon l’ordre : **cyclam** (21,48) > **DMC** (18,94*) > **TMC** (18,33).

Lors de l'ajout d'un pont éthylène cross-bridged (**CB-cyclam** et **CB-DMC**) la première constante de protonation est significativement augmentée, $\log K_1 = 12,42$ pour le **CB-cyclam** et $\log K_1 > 13,5$ pour le **CB-DMC**. La première constante de protonation du ligand **CB-DMC** est tellement élevée qu'elle n'a pas pu être mesurée dans l'eau mais a été estimée à partir de mesures réalisées dans l'acétonitrile ($\log K_1 = 24,9$ dans CH_3CN). Ce phénomène de basicité accrue s'explique par l'orientation des 4 doublets non-liants des atomes d'azote vers l'intérieur de la cavité macrocyclique. La deuxième constante de protonation ($\log K_2$) des composés renforcés est, quant à elle, similaire à celle du **cyclam**. La basicité des ligands peut être classée dans l'ordre suivant : **CB-DMC** ($\log \beta_2 > 23,95$) > **CB-cyclam** ($\log \beta_2 = 22,62$) > **cyclam** ($\log \beta_2 = 21,48$).

(v) Propriétés acido-basiques du cyclam-EtOH C-fonctionnalisé et des dérivés N-fonctionnalisés

Les propriétés acido-basiques de certains des composés fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy étudiés au cours de ces travaux de thèse ont également été mesurées et rapportées par le passé. En 1997, Rahardjo et Wainwright^[175] ont publié les constantes de protonation des ligands N-fonctionnalisés, **TE1EtOH** et **TE3MeEtOH** (Tableau 13).

Tableau 13. Constantes de protonation du **cyclam**, du **TE1EtOH**, du **TMC** et du **TE3MeEtOH**.

	log	K_1	K_2	K_3	K_4	β_2		
cyclam ^[231]		11,29	10,19	1,61	1,96	21,48		
TE1EtOH ^[175]		10,93	9,75	1,66	2,6	20,68	cyclam	TE1EtOH (20)
TMC ^[140]		9,34	8,99	2,58	2,25	18,33		
TE3MeEtOH ^[175]		9,55	7,88	2,5	2,5	17,43	TMC	TE3MeEtOH (21)

- Les valeurs rapportées dans ce tableau pour le **TE1EtOH (20)** montrent une baisse des constantes $\log K_1$ (10,93) et $\log K_2$ (9,75) par rapport à celles du **cyclam**. Un phénomène d'interversion des deux dernières constantes de protonation a également été observé avec $\log K_3$ (1,66) inférieur à $\log K_4$ (2,6).

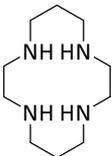
- La première constante de protonation du **TE3MeEtOH (21)** ($\log K_1 = 9,55$) est légèrement plus élevée que celle du **TMC** ($\log K_1 = 9,34$), cependant sa deuxième constante de protonation $\log K_2$ est beaucoup plus faible : **TE3MeEtOH (7,88) < TMC (8,99)**.

Globalement, la *N*-fonctionnalisation avec un groupement éthylènehydroxy fait diminuer la basicité du ligand ($\log \beta_2$). Cette diminution pourrait trouver son origine dans l'engagement du doublet non-liant d'un atome d'azote dans une liaison hydrogène avec le proton de la fonction alcool, ce qui rendrait la protonation de l'atome d'azote en question plus difficile.

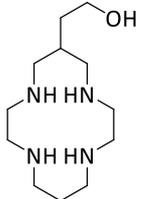
En 2015, notre laboratoire a rapporté les constantes de protonation du dérivé *C*-fonctionnalisé **cyclam-EtOH** (Tableau 14).^[204]

Tableau 14. Constantes de protonation $\log K_n$ du **cyclam** et du **cyclam-EtOH**.

	log	K_1	K_2	K_3	K_4	β_2
cyclam ^[231]		11,29	10,19	1,61	1,96	21,48
cyclam-EtOH (3) ^[204]		11,16	10,14	-	-	21,30



cyclam



cyclam-EtOH (**3**)

Les deux premières constantes de protonation du **cyclam-EtOH** sont presque identiques à celles du **cyclam** ($\Delta \log K_1 = 0,13$ et $\Delta \log K_2 = 0,05$) ; l'équipe en a conclu que la *C*-fonctionnalisation avec un groupement éthylènehydroxy n'influence pas significativement la basicité de ce ligand. Ce phénomène sera étudié plus en détails au cours de la seconde partie de ce chapitre en incluant les autres dérivés *C*-fonctionnalisés (Résultats et Discussion).

1.3.b Stabilité thermodynamique des complexes métalliques

(i) Généralités

L'évaluation de la stabilité thermodynamique d'un complexe consiste à déterminer sa constante de formation K_{ML} . Lors de la formation d'un complexe il est possible que plusieurs espèces coexistent en fonction du pH, telles que MLH, complexe où le ligand est protoné ou encore ML(OH), complexe où un ion hydroxyde coordine le centre métallique. Lorsque ces espèces se forment, leurs constantes de stabilité thermodynamique, K_{MLH} et $K_{ML(OH)}$, peuvent également être déterminées (Tableau 15). Comme pour la protonation, la constante globale de formation des espèces (β_{mlh}) est généralement préférée aux constantes partielles.

Tableau 15. Equilibres de formation des complexes et constantes associées.

équilibres		constantes
$M + L$	$\xrightleftharpoons{K_{ML}} ML$	$K_{ML} = \frac{[ML]}{[M][L]}$
$ML + H$	$\xrightleftharpoons{K_{MLH}} MLH$	$K_{MLH} = \frac{[MLH]}{[ML][H]}$
$ML(OH) + H$	$\xrightleftharpoons{K_{ML(OH)}} ML + H_2O$	$K_{ML(OH)} = \frac{[ML]}{[ML(OH)][H]}$
$IL + hH + mM$	$\xrightleftharpoons{\beta_{mlh}} M_mL_lH_h$	$\beta_{mlh} = \frac{[M_mL_lH_h]}{[M]^m[L]^l[H]^h}$

Le logarithme de la constante globale, $\log \beta_{mlh}$, rend compte de l'interaction entre un ligand et un métal donnés ; plus cette valeur est grande plus la stabilité thermodynamique est importante. Les constantes de réactions partielles sont liées aux constantes globales par les relations suivantes : $\log K_{MLH} = \log \beta_{MLH} - \log \beta_{ML}$ et $\log K_{ML(OH)} = \log \beta_{ML} - \log \beta_{ML(OH)}$.

La valeur $\log K_{ML(OH)}$ représente le pKa du couple $M(L)(H_2O) / M(L)(OH)$, autrement dit le pKa de formation du complexe métal-hydroxo ; comme nous l'avons vu, cette valeur nous intéresse particulièrement pour l'application biologique ciblée au cours de nos travaux.

La valeur de $\log \beta_{mlh}$ tient compte de la constante de protonation globale du ligand ($\log \beta_n$). Par conséquent, il est impossible d'utiliser directement ces valeurs pour comparer la stabilité de deux complexes issus de deux ligands aux basicités différentes. C'est pour cette raison que Raymond et coll. ont introduit dès 1981 le terme de potentiel métal (pM).^[236] Cette valeur est définie par $pM = -\log ([M_{libre}^{n+}])$ où $[M_{libre}^{n+}]$ correspond à la concentration en métal libre dans le milieu. Elle est généralement calculée à $pH = 7,4$ pour des concentrations $C_L = 10 \times C_M = 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ et tient compte du diagramme de répartition de toutes les espèces en solution LH_n et $M_nL_lH_h$. La constante pM s'impose comme la valeur à utiliser pour comparer la stabilité des complexes issus de ligands avec des basicités différentes. Plus la concentration en métal libre est faible, plus la valeur pM est grande et donc plus l'affinité métal-ligand est importante.

(ii) Stabilité thermodynamique des complexes de cuivre, zinc et cobalt des ligands **pyclen**, **cyclen** et **cyclam**

Les constantes de stabilité thermodynamique des complexes de cuivre(II), zinc(II) et cobalt(II) du **pyclen**, du **cyclen** et du **cyclam**, extraites de la littérature, sont regroupées dans le Tableau 16. Aucun complexe MLH n'a été observé pour ces composés et seules les constantes des complexes $[\text{Cu}(\text{pyclen})(\text{OH})]^+$ et $[\text{Zn}(\text{pyclen})(\text{OH})]^+$ ont été mesurées.

Tableau 16. Constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{\text{mlh}}$) des complexes de cuivre(II), de zinc(II) et de cobalt(II) des ligands **pyclen**, **cyclen** et **cyclam**.

$\log \beta_{\text{mlh}}$	L =	pyclen ^[237]	cyclen	cyclam
$\log \beta_{\text{CuL}}$		20,14	23,3 ^[238]	26,5 ^[239]
$\log \beta_{\text{CuL}(\text{OH})}$		12,66	-	-
pCu**		17,9	18,2	20,4
$\log \beta_{\text{ZnL}}$		14,4	16,2 ^[238]	15,3 ^[240]
$\log \beta_{\text{ZnL}(\text{OH})}$		5,9	-	-
pZn**		11,9	11,1	9,2
$\log \beta_{\text{CoL}}$		15,7	13,8* ^[241]	12,7* ^[241]
pCo**		13,2	8,7	7,0

* mesurée à 35 °C.

** $\text{pM} = -\log ([M_{\text{libre}}^{n+}])$ à $\text{pH} = 7,4$ et $C_L = 10 \times C_M = 10^{-5}$, $M^{n+} = \text{Cu}^{2+}$ ou Zn^{2+} .

Les valeurs de ce tableau montrent que l'affinité métal-ligand des complexes CuL , comparée à l'aide de la valeur pCu, augmente selon l'ordre : **pyclen** (pCu = 17,9) < **cyclen** (pCu = 18,2) < **cyclam** (pCu = 20,4). En revanche, l'affinité métal-ligand des complexes de zinc ZnL et de cobalt CoL augmente selon l'ordre inverse : **cyclam** (pZn = 9,2 et pCo = 7,0) < **cyclen** (pZn = 11,1 et pCo = 8,7) < **pyclen** (pZn = 11,9 et pCo = 13,2). Ce phénomène est dû aux spécificités de l'effet macrocyclique, chaque cation métallique possédant un rayon ionique plus ou moins adapté selon la taille du macrocycle. Il est intéressant de noter que la constante $\log \beta_{\text{ZnL}}$ du **cyclen** (16,6) est supérieure à celle du **pyclen** (14,4) cependant, le pZn du **pyclen** est supérieur. Cette observation illustre bien la raison de l'instauration du potentiel métal (pM) par Raymond et coll. Cette particularité s'explique par la plus grande basicité du **cyclen** ($\log \beta_n$) qui conduit à une valeur plus grande de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{\text{mlh}}$) mais un pM plus faible.

(iii) Stabilité thermodynamique des complexes de cuivre, zinc et cobalt des dérivés méthylés du cyclam

Parmi les ligands dérivés du cyclam étudiés au cours de ces travaux de thèse, seule la stabilité thermodynamique des complexes métalliques du **cyclam** et du **TMC** ont déjà été rapportées (Tableau 17). A notre connaissance, les complexes métalliques du **DMC** n'ont jamais fait l'objet d'études thermodynamiques. Concernant les dérivés renforcés par un pont éthylène "cross-bridged", l'absence de donnée s'explique par l'impossibilité de mesurer les constantes thermodynamiques de formation des complexes lorsque les ligands présentent une cinétique de complexation trop lente. Par exemple, la complexation du cuivre par le **CB-cyclam** nécessite environ 9 h à 73 °C à pH = 9, le temps nécessaire dans ces conditions rend inenvisageable des mesures à 25 °C et à pH acide.^[234]

Tableau 17. Constantes de stabilité thermodynamique des complexes de cuivre(II), de zinc(II) et de cobalt(II) du **cyclam** et du **TMC**.

log β_{ML}	L =	cyclam ^[239–241]	DMC	TMC ^[140]
log β_{CuL}		26,5	-	18,3
pCu*		20,4	-	15,7
log β_{ZnL}		15,3	-	10,4
log $\beta_{ZnL(OH)}$		-	-	1,8
pZn*		9,2	-	7,8
log β_{CoL}		12,7	-	7,6
log $\beta_{CoL(OH)}$		-	-	-0,6
pCo*		7,0	-	6,1

* pM = $-\log([M_{libre}^{n+}])$ à pH = 7,4 et $C_L = 10 \times C_M = 10^{-5}$, $M^{n+} = Cu^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}$.

Les constantes de stabilité thermodynamique rapportées dans ce tableau montrent que les complexes métalliques du **TMC** suivent la même tendance que celles du **cyclam** : $\log \beta_{CuL} > \log \beta_{ZnL} > \log \beta_{CoL}$. Les potentiels métal (pM) des complexes du **TMC** sont tous inférieurs à ceux du **cyclam**, l'ajout de groupement méthyle fait donc diminuer l'affinité métal-ligand. Les espèces $[M(\mathbf{TMC})(OH)]^+$ ont été observées pour M = Zn et Co et présentent des constantes de formation des complexes métal-hydroxo $\log K_{Zn(\mathbf{TMC})(OH)} = 8,6$ et $\log K_{Co(\mathbf{TMC})(OH)} = 8,2$. Ces valeurs sont celles considérées par l'équipe du Pr. M.H. Lim dans l'étude de l'activité des complexes $[M(\mathbf{TMC})]^{2+}$ pour l'hydrolyse de l'amyloïde- β .

(iv) Stabilité thermodynamique des complexes de cuivre, zinc et cobalt du cyclam-EtOH et des dérivés *N*-éthylènehydroxy

Rahardjo et Wainwright^[175] ont rapporté les constantes de stabilité thermodynamique des complexes de cuivre, zinc et cobalt du **TE1EtOH** et de cuivre et zinc du **TE3MeEtOH**. Ces valeurs de $\log \beta_{mlh}$ sont regroupés dans le Tableau 18 avec celles des complexes issus du **cyclam** et du **TMC** afin d'analyser l'influence de la *N*-fonctionnalisation par un groupement éthylènehydroxy. Il est important de rappeler que ce groupement, introduit sur un atome d'azote, apporte un atome coordinant supplémentaire *via* la fonction alcool et conduit à des complexes pentacoordinés.

Tableau 18. Constantes de stabilité thermodynamique des complexes de cuivre(II), de zinc(II) et de cobalt(II) du **cyclam**, du **TE1EtOH**, du **TMC** et du **TE3MeEtOH**.

$\log \beta_{mlh}$	L =	cyclam ^[239–241]	TE1EtOH ^[175]	TMC ^[140]	TE3MeEtOH ^[175]
$\log \beta_{CuLH}$		-	19,4	-	19,8
$\log \beta_{CuL}$		26,5	16,1	18,3	17,3
pCu*		20,4	11,2	15,7	15,5
$\log \beta_{ZnL}$		15,3	10,3	10,4	9,2
$\log \beta_{Zn(L-H)}$		-	2,0	1,8	2,2
pZn*		9,2	6,1	7,8	8,0
$\log \beta_{CoL}$		12,7	7,6	7,6	x
$\log \beta_{Co(L-H)}$		-	0,4	-0,6	x
pCo*		7,0	6,0	6,1	x

* $pM = -\log ([M_{libre}^{n+}])$ à pH = 7,4 et $C_L = 10 \times C_M = 10^{-5}$, $M^{n+} = Cu^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}$.

La comparaison entre le **TE1EtOH** et le **cyclam** met en évidence une importante diminution des constantes de complexation ($\log \beta_{mlh}$) ainsi que des valeurs de pM : $\Delta pCu = -9,2$, $\Delta pZn = -3,1$ et $\Delta pCo = -1,0$. L'ajout d'une fonction éthylènehydroxy sur un atome d'azote du **cyclam** conduit à la formation de complexe métallique avec une stabilité thermodynamique et un pM plus faible.

La comparaison entre le **TE3MeEtOH** et le **TMC** montre des valeurs de pM relativement similaires : $\Delta pCu = -0,2$ et $\Delta pZn = +0,2$. La substitution d'un des groupements méthyle du **TMC** par un groupement éthylènehydroxy conduit à la formation de complexes avec une affinité métal-ligand équivalente.

La comparaison des ligands **TE1EtOH** et **TE3MeEtOH** met en évidence une augmentation des valeurs de pM lors de l'ajout de groupements méthyle : $\Delta pCu = +4,3$ et $\Delta pZn = +1,9$. Contrairement aux observations faites sur le **cyclam**, la méthylation du composé **TE1EtOH** conduit à la formation de complexes métalliques thermodynamiquement plus stables.

Au cours des analyses, les deux ligands, **TE1EtOH** et **TE3MeEtOH**, ont conduit à la formation des espèces $[Cu(LH)]^{3+}$ avec des constantes respectives $\log K_{Cu(TE1EtOH)H} = 3,3$ et $\log K_{Cu(TE3MeEtOH)H} = 2,5$. Les espèces $[M(L-H)]^+$ ont également été observées pour $M = Zn$ et Co , elles correspondent aux complexes lorsque la fonction alcool est déprotonée. Ces complexes métal-**alcoolate** présentent des constantes de formation $\log K_{Zn(TE1EtO^-)} = 8,3$, $\log K_{Co(TE1EtO^-)} = 7,2$ et $\log K_{Zn(TE3MeEtO^-)} = 7,0$. Ils se forment à un pH proche du pH physiologique et pourraient avoir un effet similaire aux complexes métal-**hydroxo**, $[M(L)(OH)]$, pour l'application biologique ciblée au cours de cette thèse.

Notre laboratoire a rapporté les constantes de stabilité thermodynamique des complexes de cuivre et de zinc du **cyclam-EtOH**. Ces valeurs sont regroupées dans le Tableau 19 avec celles des complexes métalliques du **cyclam** afin de montrer l'influence de la C-fonctionnalisation avec un groupement éthylènehydroxy. Contrairement aux dérivés N-fonctionnalisés, la fonction alcool introduite n'est pas en mesure de coordiner le cation métallique ; le **cyclam-EtOH** est donc un ligand tétradendate, tout comme le **cyclam**.

Tableau 19. Constantes de stabilité thermodynamique des complexes de cuivre(II) et de zinc(II) du **cyclam** et du **cyclam-E**.

$\log \beta_{mlh}$	L =	cyclam ^[239–241]	Cyclam-EtOH ^[204]
$\log \beta_{CuLH}$		-	26,6
$\log \beta_{CuL}$		26,5	23,6
$\log \beta_{CuL(OH)}$		-	12,8
pCu*		20,4	19,5
$\log \beta_{ZnL}$		15,3	14,7
$\log \beta_{ZnL(OH)}$		-	6
$\log \beta_{ZnL(OH)2}$		-	-3,9
pZn*		9,2	9,2

* pM = $-\log ([M_{libre}^{n+}])$ à pH = 7,4 et $C_L = 10 \times C_M = 10^{-5}$, $M^{n+} = Cu^{2+}$ et Zn^{2+} .

L'ajout de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy montre une diminution des constantes de complexation : $\log \beta_{\text{Cu}(\text{cyclam})} (26,5) > \log \beta_{\text{Cu}(\text{cyclam-E})} (23,6)$ et $\log \beta_{\text{Zn}(\text{cyclam})} (15,3) > \log \beta_{\text{Zn}(\text{cyclam-E})} (14,7)$. Néanmoins, le **cyclam-E** présente des valeurs pM relativement proche de celles du cyclam : $\Delta p\text{Cu} = -0,9$ et $\Delta p\text{Zn} = 0,0$. L'équipe a conclu que l'ajout de la C-fonctionnalisation n'a pas un impact important sur la stabilité thermodynamique des complexes métalliques. Lors de l'étude de ces complexes, les espèces $[\text{Cu}(\text{Hcyclam-E})]^{3+}$, $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})(\text{OH})]^+$ et $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})(\text{OH})_2]$ ont été observées et présentent des constantes de formation $\log K_{\text{Cu}(\text{cyclam-E})\text{H}} = 3,0$, $\log K_{\text{Zn}(\text{cyclam-E})(\text{OH})} = 8,7$ et $K_{\text{Zn}(\text{cyclam-E})(\text{OH})_2} = 9,9$. La constante de formation du premier complexe métal-hydroxo, $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})(\text{OH})]^+$, est proche du pH physiologique et similaire à celle du $[\text{Zn}(\text{TMC})(\text{OH})]^+$ ($\log K_{\text{Zn}(\text{TMC})(\text{OH})} = 8,6$).

1.4 Etude de l'inertie cinétique

1.4.a Principe

Les constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{\text{mlh}}$) et les valeurs de pM sont indispensables pour caractériser et comparer l'affinité thermodynamique métal-ligand. Cependant, une autre propriété est également importante à considérer, la cinétique de dissociation du complexe. Celle-ci est associée à la labilité du cation métallique lorsqu'il est complexé par un ligand et est appelée inertie cinétique.

En milieu biologique, la dissociation d'un complexe métallique est possible en raison de la présence de protéines, de petites molécules coordinantes ou d'autres cations métalliques qui entrent en compétition avec le ligand ou avec le métal. Ces deux processus sont appelés transchélation, lorsque le ligand est échangé et transmétallation lorsque c'est le cation qui est échangé. Un complexe ayant une importante inertie cinétique est indispensable afin de s'assurer de l'absence de relargage d'un cation métallique libre, potentiellement toxique pour l'organisme. Dans l'optique de développer un agent séquestrant pour la thérapie par chélation, l'étude de l'inertie cinétique est également importante puisqu'il ne faut pas que le métal piégé *in vivo* soit libéré avant d'être éliminé par l'organisme. Il est difficile de quantifier la dissociation d'un complexe en présence d'un large excès de ligand ou de cation compétiteur. Pour pallier ces difficultés expérimentales, la dissociation en milieu acide est couramment utilisée pour caractériser l'inertie cinétique. Les mécanismes mis en jeu sont assez éloignés d'un phénomène biologique, toutefois, les protons (H^+) sont d'excellents

compétiteurs aux cations métalliques. En effet, la protonation des fonctions coordinantes telles que les amines (ou les acides carboxyliques) induit une perte de coordination du métal et, par voie de conséquence, conduit à la dissociation du complexe. Le principal atout de ces expériences est qu'elles sont relativement simples à mettre en œuvre. Par exemple, la dissociation en milieu acide d'un complexe de cuivre peut être suivie en spectroscopie UV-Visible en observant la diminution de sa bande d'absorption d-d caractéristique. La dissociation en milieu acide peut être considérée comme une réaction de pseudo ordre 1 (H^+ en large excès), définie par l'équation :

$$[C]_t = [C]_0 \cdot e^{-k_d t}$$

Avec : $[C]_t$ est la concentration en complexe à l'instant t ,

$[C]_0$ la concentration initiale en complexe

k_d la constante de dissociation ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)

La loi de Beer-Lambert, qui lie la concentration et l'absorbance, permet de transposer cette équation à l'absorbance pour obtenir la relation :

$$A_t = A_0 \cdot e^{-k_d t}$$

Avec : A_t l'absorbance du complexe à l'instant t ,

A_0 l'absorbance initiale du complexe

k_d la constante de dissociation ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)

De façon analogue à la décroissance radioactive, souvent citée comme exemple de réaction d'ordre 1, cette équation donne accès à un temps de demi-vie $t_{1/2}$. Dans ce cas, la demi-vie représente le temps pour que l'absorbance soit divisée par deux, autrement dit le temps pour que la moitié des complexes en solution soient dissociés. Dans une réaction d'ordre 1, la constante de dissociation k_d et le temps de demi-vie sont liés par la relation :

$$t_{1/2} = \ln(2)/k_d$$

Un complexe est considéré comme inerte lorsqu'il présente un temps de demi-vie ($t_{1/2}$) très élevé ou une constante de dissociation k_d très faible. La mesure du temps de demi-vie est impérative afin de comparer l'inertie cinétique des différents complexes et de juger de leur future « stabilité » *in vivo*.

Il est particulièrement difficile de trouver dans la littérature des études ayant été réalisées dans des conditions strictement identiques. En effet, l'acide utilisé (HCl, HNO₃, HClO₄), sa concentration, les sels de fond (NaCl, NaNO₃, NaClO₄) ainsi que la température sont des paramètres à considérer si l'on souhaite comparer les valeurs obtenues pour plusieurs complexes. Néanmoins, au cours de la dernière décennie, les conditions expérimentales se sont rationalisées afin de simplifier les comparaisons entre les différentes équipes de recherche à travers le monde.

1.4.b Inertie cinétique des complexes de Cu²⁺ des tétramines linéaires et du cyclam

Chung et coll. ont étudié, en 1992, les mécanismes et la cinétique de dissociation des complexes de cuivre du **cyclam** et de plusieurs tétramines linéaires dans un mélange d'acide nitrique (HNO₃) et de nitrate de sodium (NaNO₃) à 25 °C (Tableau 20).^[242]

Tableau 20. Constante de dissociation (k_d s⁻¹) des complexes de cuivre(II) de tétramines linaires et du **cyclam** dans un milieu à $\mu = 5$ M (HNO₃ + NaNO₃) à 25 °C. Les valeurs de $t_{1/2}$ ont été calculées à partir de la relation $t_{1/2} = \ln(2)/k_d$.

Complexe CuL	k_d (s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (s)
[Cu(2,2,2 tet)] ²⁺	160,3	0,004
[Cu(3,3,3 tet)] ²⁺	49,60	0,01
[Cu(3,2,3 tet)] ²⁺	6,06	0,1
[Cu(2,3,2 tet)] ²⁺	0,148	4,7
[Cu(cyclam)] ²⁺	5,10 x 10 ⁻⁴	1359

Ces valeurs montrent des constantes de dissociation très différentes pour les quatre tétramines linéaires étudiées ; l'inertie cinétique augmente selon l'ordre suivant : [Cu(**2,2,2 tet**)]²⁺ < [Cu(**3,3,3 tet**)]²⁺ < [Cu(**3,2,3 tet**)]²⁺ < [Cu(**2,3,2 tet**)]²⁺. Le [Cu(**cyclam**)]²⁺ présente, quant à lui, une constante de dissociation dix mille fois inférieure à la meilleure tétramine. Ainsi, en plus d'améliorer la stabilité thermodynamique, l'effet macrocyclique permet de former des complexes avec une meilleure inertie cinétique en milieu acide ; un ligand plus rigide et préorganisé rend plus difficile la décooordination des amines.

1.4.c Inertie cinétique des complexes de Cu²⁺ avec des dérivés de cyclam

Parmi les ligands considérés au cours de ces travaux de thèse, très peu ont fait l'objet d'études d'inertie cinétique, la plupart des complexes de cuivre étudiés sont issus de ligands *N*-fonctionnalisés à l'aide de groupements coordinants acétates, phosphonates, picolines, etc... Seuls les temps de demi-vie des complexes [Cu(**cyclam**)]²⁺ et [Cu(**CB-cyclam**)]²⁺ ont été rapportés par Weisman et coll.^[243] en 2005 et celui du [Cu(**TMC**)]²⁺ par Kotek et coll.^[244] en 2018 (Tableau 21). A notre connaissance, il n'existe aucune donnée pour les complexes de cuivre des ligands *C*- et *N*-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy.

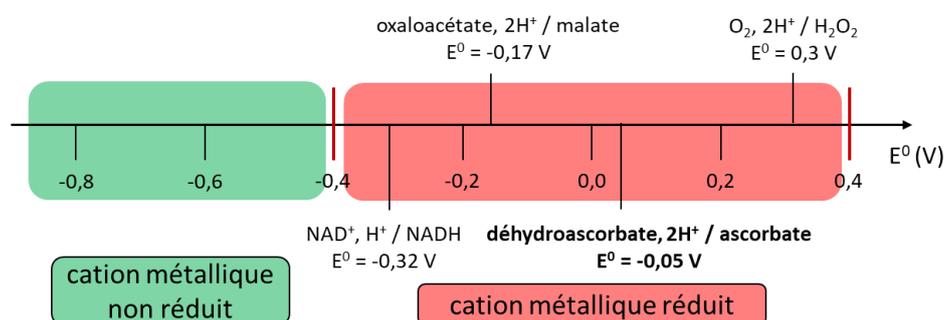
Tableau 21. Temps de demi-vie des complexes de cuivre du **TMC**, du **cyclam** et du **CB-cyclam**.

acide	Température (°C)	complexe	t _{1/2}
HClO ₄ 1 M,	25	[Cu(TMC)] ²⁺	22 s
HCl 5 M	30	[Cu(cyclam)] ²⁺	2,7 j
HCl 5 M	30	[Cu(CB-cyclam)] ²⁺	18,5 j
HCl 5 M	90	[Cu(CB-cyclam)] ²⁺	11,8 min

Dans un milieu HClO₄ 1 M à 25 °C, le [Cu(**TMC**)]²⁺ a montré un temps de demi vie de 22 secondes, relativement bas par rapport aux autres dérivés. En effet, dans HCl 5 M à 30°C, le [Cu(**cyclam**)]²⁺ et le [Cu(**CB-cyclam**)]²⁺ présentent des temps de demi-vie respectifs de 2,7 jours et 18,5 jours. La tétraméthylation conduit donc à une diminution de l'inertie cinétique tandis que l'augmentation de la rigidité avec un pont éthylène "cross-bridged" permet de l'améliorer considérablement. Le Cu(**CB-cyclam**) a également été étudié dans des conditions plus drastiques (acide chlorhydrique à 5 M à 90 °C) et montre un temps de demi-vie de 11,8 minutes. Bien que les temps de demi-vie présentés dans ce tableau soient très différents, ces données permettent simplement de comparer les complexes entre eux ; cela ne signifie pas forcément que le [Cu(**TMC**)]²⁺ se dissociera en milieu biologique. Il a d'ailleurs été utilisé par l'équipe du Pr. M. H. Lim *in vitro* sans que ce phénomène ait été constaté.

1.5 Etude des propriétés électrochimiques

En milieu biologique, les complexes métalliques peuvent être réduits par des réducteurs endogène, en général des petites molécules (tel que l'ascorbate dans le cerveau) ou par des enzymes^[245], principalement s'ils ont un potentiel de réduction compris entre -0,4 V et 0,4 V (Figure 96). Dans le cadre de nos travaux, que les complexes soient formés *in vivo* (thérapie par chélation) ou en amont (Co(L)), il est important qu'ils restent stables en milieu biologique.



Dans le cas des complexes de cuivre(II), l'étude électrochimique est essentielle car la réduction en cuivre(I) peut conduire à sa dissociation. Les complexes Cu(L) seront considérés comme adéquats pour une application biologique s'ils sont électrochimiquement stables ou si leur potentiel de réduction se situe en dehors de la fenêtre des réducteurs endogènes.

1.5.a Principe de la voltamétrie cyclique

La voltamétrie cyclique, aussi appelée voltampérométrie cyclique, est une technique d'analyse électrochimique permettant d'étudier les propriétés d'oxydo-réduction d'une molécule. En principe, on porte une électrode (électrode de travail) à un potentiel donné par rapport à une électrode de référence. Cette électrode de travail, chimiquement inerte, ne réagit pas avec la solution, cependant, les espèces présentes dans la solution peuvent être oxydées ou réduites à sa surface. Si une réaction a lieu, alors un courant circule entre l'électrode et la solution. Le courant est compté comme négatif si un électron passe de l'électrode à la solution (réduction) et comme positif si un électron passe de la solution à l'électrode (oxydation).

Un enregistreur trace ensuite la courbe $I = f(E)$, intensité du courant en fonction du potentiel appliqué par rapport à l'électrode de référence, appelée cyclovoltammogramme. En l'absence de réaction chimique seul un courant capacitif est observé et le courant varie lorsqu'une réaction se produit. Le cyclovoltammogramme obtenu permet de classer la réactivité des complexes selon trois catégories : réversible, quasi-réversible ou irréversible (Figure 97).

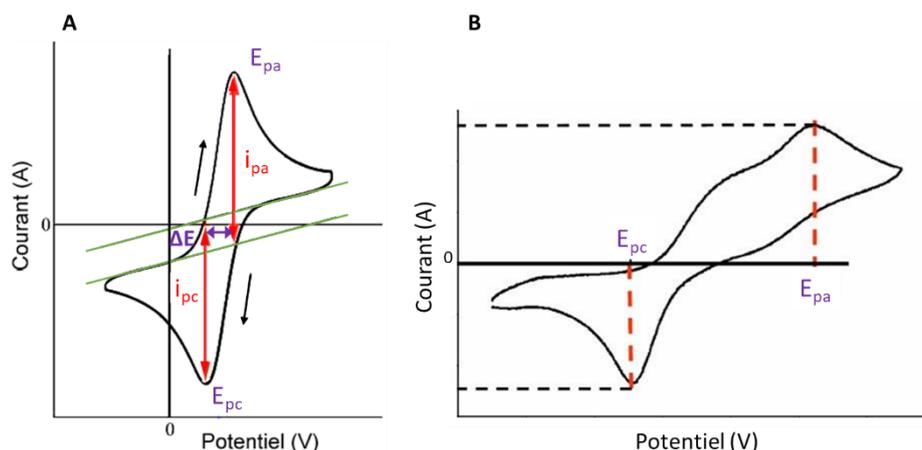


Figure 97. Exemples de cyclovoltammogrammes : (A) système réversible, (B) système irréversible.

Un système est considéré comme réversible lorsque la relation $\Delta E = E_{pc} - E_{pa} = 60 \text{ mV}$ est vérifiée pour un échange mono-électronique et que le rapport i_{pc}/i_{pa} est égal à 1 (A - Figure 97). Lorsque ces paramètres sont relativement proches des valeurs attendues, le système est dit quasi-réversible. Si le système présente un décalage de potentiel plus important ou l'absence d'une vague de réduction ou d'oxydation, le système est irréversible (B - Figure 97).

1.5.b Electrochimie des complexes de cuivre dérivés de cyclam

Les études électrochimiques des complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ ont été rapportées dans la littérature. Les potentiels de réduction de ces complexes sont compris entre -0,17 mV et -1,10 V (vs. ENH).

Tableau 22. Potentiels de réduction électrochimique des complexes de cuivre d'intérêt.

	$\text{Cu}(\text{Cyclam})^{2+}$ [246]	$\text{Cu}(\text{TMC})^{2+}$ [247]	$\text{Cu}(\text{CB-cyclam})^{2+}$ [248]	$\text{Cu}(\text{CB-DMC})^{2+}$ [249]
E_{pc} (V) vs ENH	-1,10	-0,17	-0,32	-0,27
réversibilité	irréversible	irréversible	quasi-réversible	quasi-réversible

Le $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ présente un potentiel de réduction du Cu(II) en Cu(I) à -1,10 V, cependant, ce processus est directement suivi par la réduction du Cu(I) en Cu(0) à un potentiel de -1,34 V. La formation de Cu(0) est visible par un dépôt de cuivre sur l'électrode, par conséquent, le complexe $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ se dissocie et conduit à un système irréversible. Le $\text{Cu}(\text{TMC})^{2+}$ rapporté par Guillard et coll.^[247] a un potentiel de réduction plus élevé, $E_{pc} = -0,17$ V. Le système obtenu est irréversible en raison d'un changement de configuration du complexe $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{+}$ conduisant à la formation d'un nouveau système. Les auteurs ont tout de même conclu que la méthylation des amines a pour effet de faciliter la réduction du cuivre(II) mais que le complexe $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ ne se dissocie pas au cours de l'analyse.

Les complexes $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ forment des systèmes quasi-réversibles avec des potentiels de réduction E_{pc} plus élevés que celui du $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$, respectivement -0,32 V et -0,27 V ; la méthylation des amines conduit, à nouveau, à un potentiel de réduction plus élevé. Les complexes de cuivre des dérivés "cross-bridged" du cyclam ne se dissolvent pas et ne changent pas de configuration.

Bien que le $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ se dissocie au cours de la réduction du cuivre(II), son potentiel E_{pc} se trouve beaucoup plus bas que la gamme de réduction biologique, ce qui n'est pas le cas des trois autres composés, d'où l'intérêt de leur réversibilité ou quasi-réversibilité.

1.6 Etude structurale par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE)

1.6.a Principe

La Résonance Paramagnétique Electronique est une technique permettant de caractériser les espèces possédant au moins un électron non apparié : radicaux ou métaux paramagnétiques. Selon la théorie du champ cristallin, le cuivre(II) et le cobalt(II) font partie des métaux paramagnétiques qui peuvent être étudiés par RPE. Cette technique s'appuie sur la propriété des électrons non appariés à absorber puis réémettre l'énergie d'un rayonnement électromagnétique lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique. L'effet d'un champ magnétique externe sur un électron célibataire de spin $S = 1/2$, induit une levée de dégénérescence de l'état doublet de spin, appelé effet Zeeman, donnant accès à deux niveaux d'énergie et à une seule transition ($m_s = -1/2 \rightarrow m_s = +1/2$, avec m_s le nombre quantique de

spin). A la résonance, l'énergie de l'onde électromagnétique, correspondant à l'écart entre ces deux niveaux d'énergie, est donnée par l'expression :

$$\Delta E = h\nu = g\beta H$$

Avec g : facteur de Landé (2,0023 pour l'électron libre)
 β : magnéton de Bohr ($9,274 \times 10^{-12} \text{ J.T}^{-1}$ ou $4,66863 \times 10^{-5} \text{ G}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)
 H : valeur du champ Zeeman (champ résonant) exprimé en Gauss (G)
 h : constante de Planck ($6,6261 \times 10^{-34} \text{ J.s}$)
 ν : fréquence du champ électromagnétique en Hertz (Hz)

Si le noyau considéré possède plusieurs électrons libres, alors la levée de dégénérescence donne lieu à $2S + 1$ niveaux d'énergie, avec S le nombre total de spin, où les transitions permises doivent satisfaire les règles de sélection $\Delta S = 0$ et $\Delta m_s = \pm 1$.

La technique expérimentale la plus fréquemment employée utilise une valeur fixe de l'onde électromagnétique (par exemple la bande X, $\nu = 9388,2 \text{ MHz}$) tout en faisant varier le champ magnétique dans lequel l'échantillon est placé. Le spectre qui en résulte montre les valeurs de champ magnétique (H) auxquelles l'échantillon absorbe. Il est donc possible d'en déduire le facteur de Landé g , caractéristique du système étudié. Il est exprimé par l'intermédiaire d'un tenseur avec trois valeurs principales g_x , g_y et g_z orthogonales les unes aux autres. La déviation de ces trois valeurs par rapport à celle de l'électron libre ($g = 2,0023$) apporte des informations sur la structure électronique du complexe étudié.

Lorsqu'un ou plusieurs électrons célibataires se trouvent au voisinage d'un noyau de spin nucléaire non nul, il y a interaction entre le spin électronique (S) et le spin nucléaire (I). Cela donne lieu à un couplage hyperfin se traduisant par une multiplication des raies du signal égale à $2I + 1$, avec I le spin nucléaire. La constante de couplage hyperfin est également exprimée par un tenseur (A) caractérisé par trois valeurs principales (A_x , A_y , A_z). Des relations existent entre les différentes valeurs de g et de A selon la géométrie de l'espèce étudiée (Tableau 23).

Tableau 23. Relations entre les tenseurs g et A selon la symétrie du système.

Système	Tenseur g	Tenseur A
Isotrope	$g_x = g_y = g_z$	$A_x = A_y = A_z$
Axiale	$g_x = g_y \neq g_z$	$A_x = A_y \neq A_z$
Rhombique	$g_x \neq g_y \neq g_z$	$A_x \neq A_y \neq A_z$

Expérimentalement, les courbes d'absorbance en fonction du champ H enregistrées sont dérivées une première fois ($dAbs/dH$) pour obtenir les spectres RPE (Figure 98). Les valeurs de g_x , g_y , g_z peuvent facilement être extraites à partir de ces spectres dont l'allure dépend de la géométrie du système étudié.

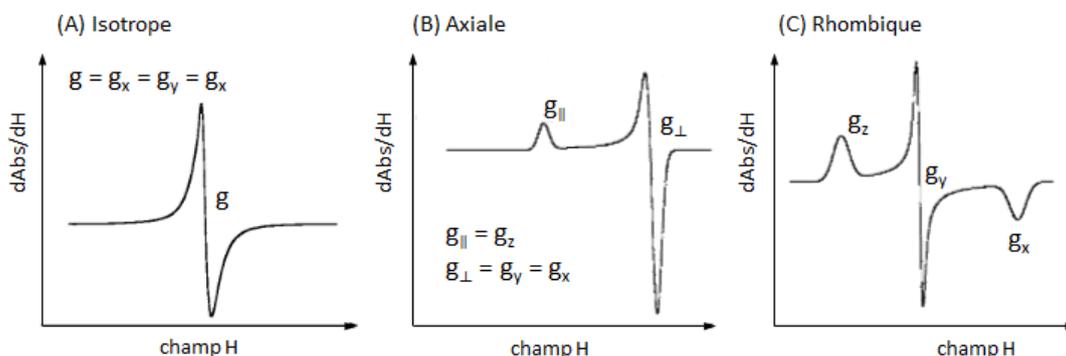


Figure 98. Allures des spectres RPE selon la géométrie du système : (A) Isotrope, (B) Axiale, (C) Rhombique. Le spin nucléaire a été considéré comme nul pour plus de clarté.^[250]

Dans le cas d'un noyau de spin nucléaire non nul, chacune des raies du spectre possèdent une multiplicité $2I + 1$ avec un écart proportionnel à A_x , A_y et A_z .

1.6.b Application aux complexes de cuivre(II)

Le cuivre(II) convient parfaitement aux études de Résonance Paramagnétique Electronique car il ne possède qu'un seul électron célibataire, donc un spin électronique $S = 1/2$. De plus, il présente deux isotopes stables, le ^{63}Cu (69,15 % d'abondance naturelle) et le ^{65}Cu (30,85 % d'abondance naturelle), possédant tous les deux un spin nucléaire $I = 3/2$. Il conduit à un spectre caractéristique avec des raies de multiplicité 4 dues aux interactions hyperfines entre les spins électronique et nucléaire (Figure 99).

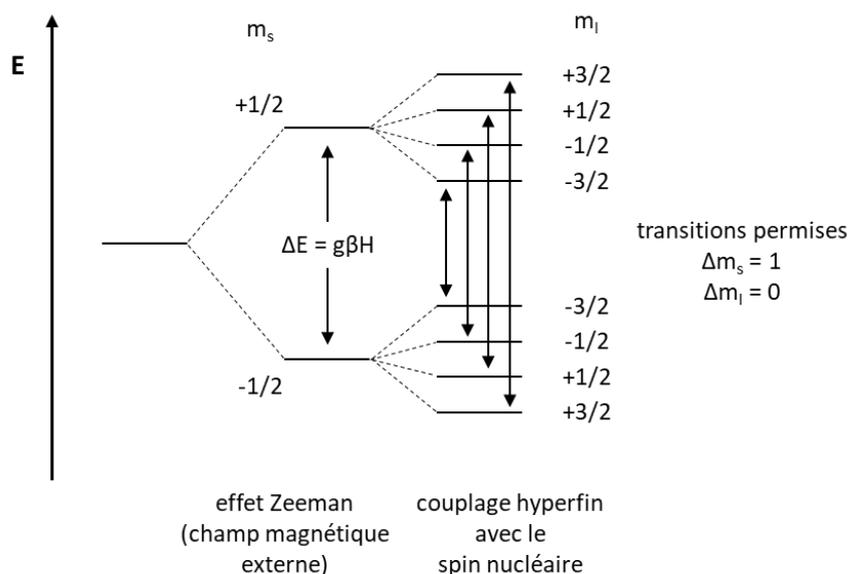


Figure 99. Diagramme des niveaux d'énergie pour un électron de cuivre(II) plongé dans un champ magnétique.

Par exemple, dans le cas d'un complexe de cuivre avec une symétrie axiale ($g_y = g_x = g_{\perp}$ et $g_z = g_{\parallel}$) chaque raie possède une multiplicité de 4, dont l'écart est proportionnel à la valeur de A_{\parallel} ($= A_z$) ou A_{\perp} ($= A_y = A_x$) (Figure 100). Dans la majorité des complexes avec une symétrie axiale, A_{\parallel} est largement supérieur à A_{\perp} , par conséquent la multiplicité selon A_{\perp} n'est pas visible et le spectre obtenu a l'allure représentée ci-dessous.

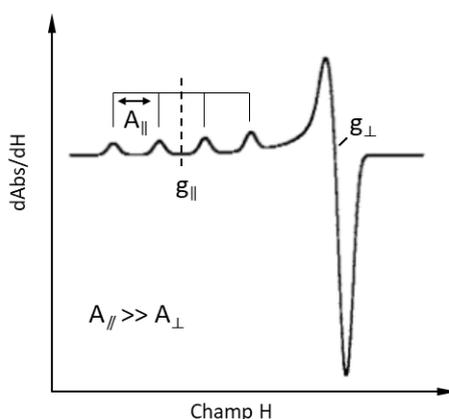


Figure 100. Allure du spectre RPE d'un complexe de cuivre(II) avec une symétrie axiale et où $A_{\parallel} \gg A_{\perp}$.

1.6.c Etude des complexes de cuivre(II) dérivés du cyclam

Les analyses RPE de certains complexes de cuivre des dérivés de cyclam de la série n°1 ont déjà été rapportées dans la littérature. Le $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ et le $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ ont été décrits avec plusieurs contre-ions, un seul complexe de chaque dérivé renforcé a été étudié, le

[Cu(**CB-cyclam**)](ClO₄)₂ et le [Cu(**CB-DMC**)]ClPF₆ et aucune donnée n'est disponible pour le [Cu(**DMC**)]²⁺. Les paramètres g et A de ces composés sont regroupés dans le Tableau 24.

Tableau 24. Paramètres RPE des complexes de cuivre(II) avec les dérivés du cyclam étudiés. Les valeurs de A sont données en 10⁴ cm⁻¹.

	g_z	g_y	g_x	A_z	A_y	A_x
[Cu(cyclam)](NO ₃) ₂ ^[251]	2,173	2,048		200	-	
[Cu(cyclam)](ClO ₄) ₂ ^[252]	2,185	2,047		206	-	
[Cu(TMC)](NO ₃) ₂ ^[223]	2,205	2,055	2,035	200	10	0
[Cu(TMC)](ClO ₄) ₂ ^[223]	2,224	2,056	2,034	180	20	0
[Cu(CB-cyclam)](ClO ₄) ₂ ^[189]	2,271	2,146	2,146	-	-	-
[Cu(CB-DMC)]ClPF ₆ ^[188]	non calculées, système rhombique complexe					

Ces valeurs montrent que les complexes de [Cu(**cyclam**)]²⁺ présentent une symétrie axiale (avec $g_y = g_x = g_{\perp} = 2,048$ ou $2,047$), les valeurs de A_{\perp} n'ont pas pu être déterminées car trop faibles. Les deux complexes de [Cu(**TMC**)]²⁺ étudiés par l'équipe du Pr. M. H. Lim^[223], présentent des systèmes rhombiques ($g_z \neq g_y \neq g_x$) relativement proches pour les deux configurations, *trans-I* et *trans-III*, en fonction des contre-ions. Cet effet indique que la composante principale du champ de ligand provient du plan CuN₄ et très peu du/des ligands axiaux. Néanmoins, l'augmentation de la valeur de g_z en passant du **cyclam** au **TMC** indique une diminution du champ de ligand planaire formé par les quatre atomes d'azote et une augmentation du champ de ligand axiale (contre-ions). Le complexe [Cu(**CB-cyclam**)]²⁺ a été rapporté avec des paramètres élevés suggérant une symétrie axiale et une importante distorsion (champs axiale et planaire forts) ; les auteurs précisent qu'il s'agit d'un système complexe avec la présence de dimères. Dans le cas du complexe [Cu(**CB-DMC**)] les auteurs n'ont pas pu déterminer les paramètres du système, toutefois, ils ont précisé qu'il s'agit d'un système rhombique complexe.

1.7 Conclusion

Les rappels bibliographiques présentés ici donnent un aperçu des propriétés des complexes métalliques de quelques polyazacycloalcanes. De manière générale, en plus de leur plus grande sélectivité, ils possèdent une meilleure stabilité thermodynamique ainsi qu'une plus grande inertie cinétique que leurs analogues linéaires grâce au cumul de l'« effet chélate » et de l'« effet macrocyclique ». La "plateforme" cyclam s'avère être un ligand de choix pour la complexation du cuivre et un excellent compromis pour la complexation du zinc et du cobalt. Les complexes métalliques du cyclam et de ses dérivés sont susceptibles d'adopter jusqu'à six isomères de configuration, dont les plus favorables sont le *trans*-I, le *trans*-III et le *cis*-V. La caractérisation structurale de chaque composé requiert la maîtrise d'une grande diversité de techniques d'analyse telles que la spectroscopie UV-Visible, la RMN, la RPE ou la diffraction des rayons-X. Pour compléter l'étude des propriétés de coordination, il est nécessaire d'évaluer la stabilité des complexes au travers du contrôle de trois caractéristiques : la stabilité thermodynamique, l'inertie cinétique ainsi que de la stabilité électrochimique.

Au cours de ce projet, nous avons étudié la structure des complexes de cuivre et de zinc issus des dérivés de cyclam ciblés ainsi que leur stabilité thermodynamique, leur inertie cinétique et leur stabilité électrochimique. Certaines des études rapportées dans la littérature sur les complexes des dérivés cyclams de la série n°1, ont été reproduites afin de proposer des résultats les plus homogènes possibles. Les complexes de cobalt ont été particulièrement laborieux à manipuler ; une partie de ce chapitre sera consacrée aux problèmes rencontrés et aux premiers résultats intéressants obtenus malgré tout. La ligne directrice de ce travail a été d'établir une corrélation entre la structure et les propriétés physicochimiques des complexes métalliques pour les trois séries de ligands : effet de la méthylation et du pont éthylène cross-bridged, impact de la C-fonctionnalisation et influence du groupement *N*-éthylènehydroxy. Ces données seront utiles, *a posteriori*, pour établir un lien entre les propriétés de chimie de coordination et l'activité biologique.

2. Résultats et Discussion

2.1 Synthèse des complexes de Cu²⁺ et Zn²⁺ des dérivés de cyclam

Les complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** des ligands des séries 1, 2 et 3 ont été synthétisés en suivant le même protocole expérimental. Le ligand est dissous dans l'eau distillée et le pH est ajusté entre 6 et 7,5 à l'aide d'acide chlorhydrique (1 M) avant d'ajouter 1,1 équivalent de sel métallique. Le contrôle du pH est primordial, les ligands utilisés étant basiques, l'ajout du métal à pH trop élevé peut entraîner la formation d'hydroxydes (M(OH)_x) qui précipiteraient dans l'eau ; une partie du métal engagé ne serait alors plus disponible pour la complexation. Une fois le sel métallique ajouté, le milieu réactionnel est chauffé à reflux et le pH est régulièrement contrôlé. Au pH considéré, les ligands sont doublement protonés et la complexation du métal par les amines entraîne une libération de ces protons dans le milieu réactionnel ; le pH doit donc être régulièrement réajusté autour de 7 à l'aide de potasse (1 M). Une stabilisation du pH indique que la réaction de complexation est terminée. Le mélange réactionnel est filtré une première fois pour éliminer les hydroxydes éventuellement formés puis l'eau est évaporée. Le complexe obtenu est dissous dans l'acétonitrile ou dans le méthanol et filtré afin d'éliminer les sels métalliques en excès et les sels apportés par l'ajustement du pH (KCl). Le lavage est répété autant de fois que nécessaire pour totalement dessaler le complexe. Un temps de réaction plus long a été nécessaire avec les ligands "cross-bridged", en effet, lorsque le pH diminue, la complexation devient particulièrement lente et un pH stable n'a été obtenu qu'après plusieurs ajustements et près d'une semaine à reflux.

Tableau 25. Rendements de synthèse des complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** étudiés.

Complexes de Cu ²⁺	Rendements	Complexes de Zn ²⁺	Rendements
Série n°1		Série n°1	
Cu(cyclam)Cl ₂	74 %	Zn(cyclam)Cl ₂	67 %
Cu(DMC)Cl ₂	78 %	Zn(DMC)Cl ₂	73 %
Cu(TMC)Cl ₂	82 %	Zn(TMC)Cl ₂	72 %
Cu(CB-cyclam)Cl ₂	54 %	Zn(CB-cyclam)Cl ₂	62 %
Cu(CB-DMC)Cl ₂	41 %	Zn(CB-DMC)Cl ₂	50 %

Complexes de Cu ²⁺	Rendements	Complexes de Zn ²⁺	Rendements
Série n°2		Série n°2	
Cu(cyclam-E)Cl ₂	78 %	Zn(cyclam-E)Cl ₂	70 %
Cu(DMC-E)Cl ₂	80 %	Zn(DMC-E)Cl ₂	74 %
Cu(TMC-E)Cl ₂	77 %	Zn(TMC-E)Cl ₂	69 %
Cu(CB-cyclam-E)Cl ₂	52 %	Zn(CB-cyclam-E)Cl ₂	57 %
Cu(CB-DMC-E)Cl ₂	51 %	Zn(CB-DMC-E)Cl ₂	46 %
Série n°3		Série n°3	
Cu(TE1EtOH)Cl ₂	60 %	Zn(TE1EtOH)Cl ₂	55 %
Cu(TE3MeEtOH)Cl ₂	64 %	Zn(TE3MeEtOH)Cl ₂	70 %
Cu(CB-TE1EtOH)Cl ₂	42 %	Zn(CB-TE1EtOH)Cl ₂	52 %
Cu(CB-TEMeEtOH)Cl ₂	52 %	Zn(CB-TEMeEtOH)Cl ₂	59 %

Les réactions de complexation réalisées sont normalement totales, néanmoins, les rendements obtenus s'expliquent par la technique de purification employée, précipitation et filtration des impuretés, qui conduit à une perte non négligeable de composé. De plus, les ligands étant basiques (notamment les dérivés cross-bridged) nous avons fait le choix de ne pas considérer les potentiels contre-ions dans le calcul de quantité de matière afin de s'assurer de travailler en excès de sel métallique. Tous les complexes synthétisés ont été caractérisés par spectrométrie de masse (ESI-MS ou ESI-HR-MS) avant d'être étudiés par les différentes méthodes présentées dans les rappels bibliographiques.

2.2 Etudes des complexes de Cu²⁺ et Zn²⁺ avec les ligands cyclam, cyclam-E, DMC, DMC-E, TMC et TMC-E

Dans un premier nous avons étudié l'influence de la méthylation et de la C-fonctionnalisation (ici éthylènehydroxy) sur les propriétés de coordination du **cuivre(II)** et du **zinc(II)** des ligands ; ce choix explique la sélection des six composés qui a été faite dans cette partie.

2.2.a Structures cristallographiques des complexes [M(DMC)]²⁺ et [M(TMC-E)]²⁺

Les structures des complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** avec le **DMC** n'avaient jamais été décrites dans la littérature mais des monocristaux de bonne qualité pour une analyse par diffraction des rayons-X ont été obtenus au cours de cette thèse. La structure du complexe

[Cu(DMC)Cl₂] a été obtenue au sein de notre laboratoire et celle du complexe [Zn(DMC)Cl₂] par nos collaborateurs en Corée du Sud ; la même méthode de cristallisation par diffusion de vapeur CH₃OH/Et₂O a été utilisée (Figure 101).

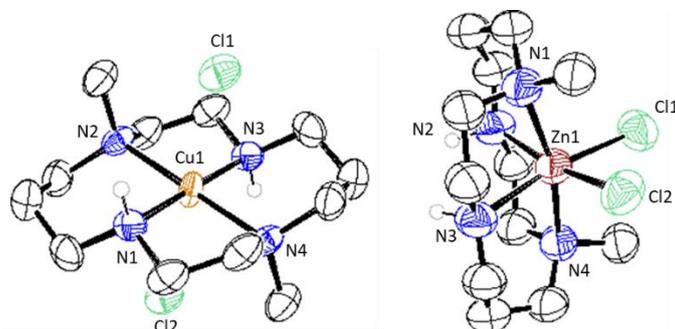


Figure 101. Structures cristallographiques des complexes [Cu(DMC)Cl₂] et [Zn(DMC)Cl₂] obtenues par DRX. Les ellipsoïdes sont tracés à 50% de probabilité. Les atomes d'hydrogène ont été omis pour plus de clarté, exceptés ceux portés par les atomes d'azote.

Ces données cristallographiques indiquent que le [Cu(DMC)Cl₂] adopte une configuration *trans*-III, comme le [Cu(cyclam)Cl₂], tandis que le [Zn(DMC)Cl₂] adopte une configuration *cis*-V, habituellement observée pour les complexes des dérivés “cross-bridged” à l'état solide. Les deux centres métalliques possèdent un nombre de coordinence de 6 et une géométrie octaédrique plus ou moins déformée. La longueur des liaisons et la taille des angles d'intérêts sont regroupées dans le Tableau 26.

Tableau 26. Longueurs des liaisons (Å) et tailles des angles (°) d'intérêt.

[Cu(DMC)(Cl) ₂]		[Zn(DMC)(Cl) ₂]	
Cu1–N1	2,002(2)	Zn1–N1	2,268(19)
Cu1–N2	2,100(2)	Zn1–N2	2,11(4)
Cu1–N3	2,002(3)	Zn1–N3	2,11(4)
Cu1–N4	2,100(2)	Zn1–N4	2,268(19)
Cu1–Cl1	2,981(1)	Zn1–Cl1	2,461(6)
Cu1–Cl2	2,981(1)	Zn1–Cl2	2,461(6)
N1–Cu1–N2	93,17(7)	N1–Zn1–N2	79,3(12)
N2–Cu1–N3	86,82(7)	N2–Zn1–N3	84,8(18)
N3–Cu1–N4	93,17(7)	N3–Zn1–N4	87,3(12)
N4–Cu1–N1	86,82(7)	N4–Zn1–N1	161,9(8)
N1–N2–N3–N4 ^a	0	N1–N2–N3–N4 ^a	123

^a angle dièdre entre les plans N1-N2-N3 et N2-N3-N4.

Ces valeurs montrent que pour les deux complexes les liaisons de coordination sont plus courtes entre les amines secondaires et le centre métallique qu'entre les amines tertiaires et le cation ($\text{Cu-N1} = 2.002 < \text{Cu-N2} = 2.100$ et $\text{Zn-N2} = 2.11 < \text{Zn-N1} = 2.268$). Les ions chlorure ne coordinent le cuivre que très faiblement ($\text{Cu1-Cl} = 2.981 \text{ \AA}$), effet attendu pour une distorsion de Jahn-Teller, et sont plus fortement liés au zinc ($\text{Zn1-Cl} = 2.461 \text{ \AA}$). Dans le complexe de cuivre, les quatre atomes d'azote sont coplanaires (angle dièdre $\text{N1-N2-N3-N4} = 0^\circ$) tandis que dans le complexe de zinc, les plans N1-N2-N3 et N2-N3-N4 forment un angle dièdre de 123° . Les structures cristallographiques des complexes métalliques issus du ligand analogue C-fonctionnalisé, $[\text{M}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$, n'ont pas pu être déterminées faute d'obtention de monocristaux de suffisamment bonne qualité.

Certaines structures de complexes impliquant un ligand C-fonctionnalisé ont pu être obtenues. Le $[\text{Cu}(\text{TMC-E})\text{Cl}]\text{NO}_3$ et le $[\text{Zn}(\text{TMC-E})\text{Cl}]\text{NO}_3$ (Figure 102) ont été synthétisés à partir du sel métallique de nitrate ($\text{M}(\text{NO}_3)_2$) et d'acide nitrique (HNO_3) dans l'eau distillée, mais tous deux ont conduit à une structure montrant un contre-ion chlorure coordiné au centre métallique. Ce dernier provient probablement de l'une des étapes de synthèse du ligand et met en avant la forte affinité de ce contre-ion avec les métaux étudiés. Ces résultats expliquent notre choix de synthétiser tous les complexes à partir des sels métalliques MCl_2 .

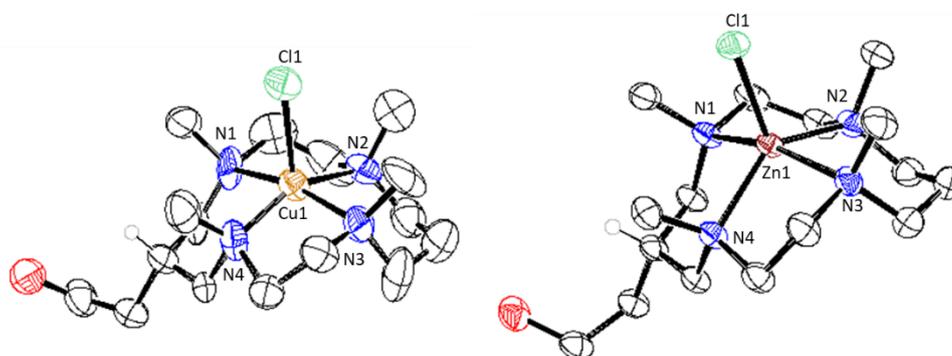


Figure 102. Structures cristallographiques des complexes $[\text{Cu}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^+$ et $[\text{Zn}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^+$ obtenues par DRX. Les ellipsoïdes sont tracés à 50% de probabilité. Les contre-ions NO_3^- et les atomes d'hydrogène ont été omis pour plus de clarté, excepté sur le carbone portant la C-fonctionnalisation.

Tout comme leurs analogues non-C-fonctionnalisés, les complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** du **TMC-E** adoptent une configuration *trans-I*. Ces structures montrent que les métallocycles à 6 chaînons adoptent des conformations chaises avec la C-fonctionnalisation en position équatoriale. Dans les deux complexes, les cations métalliques ont un nombre de

coordination de 5 et une géométrie pyramidale à base carrée déformée. En effet, les quatre atomes d'azote ne sont pas coplanaires, les plans N1-N2-N3 et N2-N3-N4 forment un angle dièdre de 9,7 ° dans le complexe de cuivre et de 19,6 ° dans le complexe de zinc. Du fait de sa taille légèrement plus grande, le zinc se place à une distance de 0,54 Å du plan moyen formé par les quatre atomes d'azote, contre 0,37 Å pour le cuivre. Ces valeurs sont légèrement plus élevées que celles rapportées dans la littérature avec le **TMC**, 0,43 Å pour le $[\text{Zn}(\text{TMC})]^{2+}$ et 0,24 Å pour le $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$, et démontrent l'influence de la C-fonctionnalisation. Les données cristallographiques des complexes de cuivre et de zinc du **TMC** et du **TMC-E** sont tout de même relativement proches, les structures superposées de chacune des paires d'analogues sont présentées Figure 103.

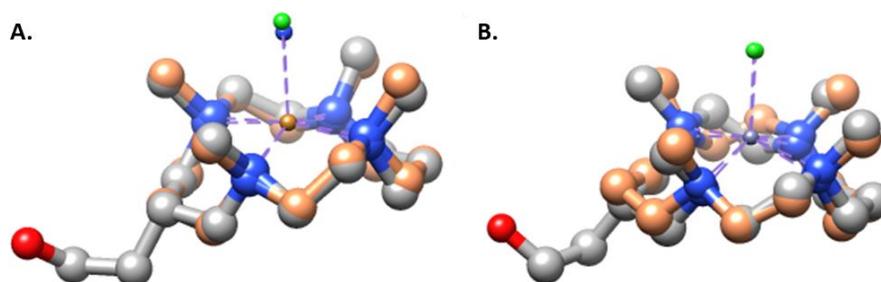


Figure 103. Superposition des structures cristallographiques : **A**) du $[\text{Cu}(\text{TMC})\text{NCS}]^{2+}$ (beige) et du $[\text{Cu}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^{+}$ (gris) et **B**) $[\text{Zn}(\text{TMC})\text{Cl}]^{+}$ (beige) et du $[\text{Zn}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^{+}$ (gris). Les superpositions ont été réalisées sur Chimera1.14 et reposent sur la meilleure superposition des 4 atomes d'azote. Les molécules d'eau, les contre-ions non-coordinants et les atomes d'hydrogène ont été omis pour plus de clarté.

Les complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})\text{NCS}]^{+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^{+}$ se superposent presque parfaitement (**A** - Figure 103). La superposition des complexes $[\text{Zn}(\text{TMC})\text{Cl}]^{+}$ et $[\text{Zn}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^{+}$ est moins bonne en raison de la conformation adoptée par les métallocycles à 5 chaînons (**B** - Figure 103). En effet, le complexe $[\text{Zn}(\text{TMC})\text{Cl}]^{+}$ présente deux métallocycles à 5 chaînons en conformation demi-chaise dans le même sens, tandis que le $[\text{Zn}(\text{TMC-E})\text{Cl}]^{+}$ présente deux demi-chaises inversées. Toutefois, la position des quatre atomes d'azote, de l'ion chlorure et du centre métallique reste très proche sur les deux structures.

2.2.b Analyses RMN des complexes [Zn(L)]Cl₂

Nous avons ensuite décidé d'étudier les complexes [Zn(L)]Cl₂ par RMN ¹H et ¹³C afin d'identifier les différentes configurations présentes en solution, potentiellement différentes de celles observées à l'état solide. Les analyses RMN ¹³C et ¹H du [Zn(cyclam)]Cl₂, déjà réalisées par Sadler et coll.^[221], ont été faites à nouveau et nous ont conduit à des spectres présentant des déplacements chimiques quasiment identiques. Cependant, l'intégration des signaux en RMN ¹H, utilisée par Sadler et coll. pour quantifier les configurations, nous a semblé délicate à réaliser en raison de nombreux massifs superposés. Nous avons ainsi choisi de déterminer le ratio de chaque configuration en intégrant les signaux sur le spectre RMN ¹³C, bien que ces intégrations sont à considérer avec prudence. En effet, il est impératif de comparer entre eux les signaux d'atomes de carbone de même nature tout en ayant conscience que le temps de relaxation des noyaux et l'effet NOE (« Nuclear Overhauser Effect ») induit par la séquence J-modulée sont susceptibles de faire varier l'intensité des pics selon la configuration. L'utilisation des spectres RMN ¹³C à des fins quantitatives a déjà fait l'objet d'études et semble être une méthode convenable lorsqu'il s'agit de déterminer le ratio de différents stéréoisomères en mélange.^[253]

Dans le cas du [Zn(cyclam)]Cl₂, l'intégration du signal caractéristique des atomes de carbone secondaires en position β des atomes d'azote (CH₂-β-N en vert - Figure 104) a abouti à un résultat équivalent à celui obtenu par Sadler et coll.

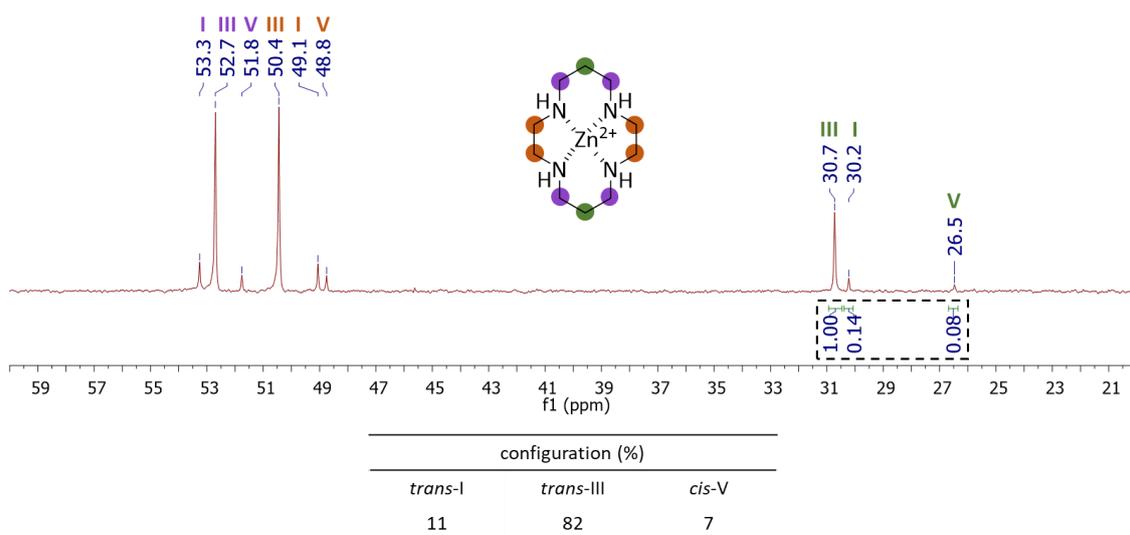


Figure 104. Spectre RMN ¹³C Jmod (75 MHz, D₂O, 298K) du complexe [Zn(cyclam)]Cl₂ et ratio (%) de chacune des configurations.

L'intégration des signaux des trois configurations sur le spectre RMN ^{13}C conduit à des ratios *trans*-I, *trans*-III, *cis*-V de respectivement 11 %, 82 % et 7 %, très proches des valeurs de 11 %, 80 % et 9 % rapportées par Sadler et coll. à l'aide de l'intégration des signaux de RMN ^1H .

L'équivalent C-fonctionnalisé, le $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$, a ensuite été analysé afin de déterminer l'effet du groupement C-fonctionnel sur l'équilibre des configurations en solution. Par analogie avec le $[\text{Zn}(\text{cyclam})]\text{Cl}_2$, la configuration la plus stable a été considérée comme étant la *trans*-III, ce qui a été confirmé par des calculs de DFT réalisés par notre collaborateur, le Pr. C. Platas-Iglesias à l'université de La Corogne. L'isomère *cis*-V a ensuite été identifié par l'importante variation des déplacements chimiques des atomes de carbone en RMN ^{13}C induites par sa géométrie, très différentes des deux autres configurations (signaux en vert clair, rose et vert foncé - Figure 105). Comme précédemment, le ratio de chaque configuration a été déterminé par l'intégration des signaux sur le spectre RMN ^{13}C . Trois pics caractéristiques ont été sélectionnés, celui du carbone en position β de l'alcool et ceux des deux atomes de carbone en position β des amines. Le calcul de la quantité relative des isomères a été réalisé en ne considérant qu'un seul atome de carbone de même nature à chaque fois.

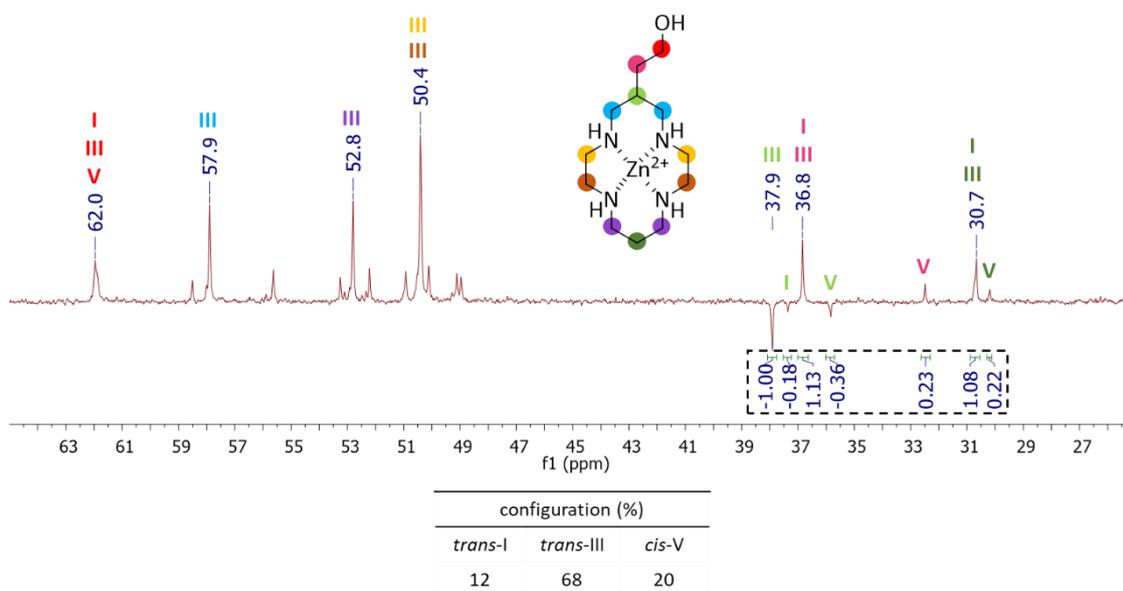


Figure 105. Spectre RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) du complexe $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$ et ratio (%) de chacune des configurations.

Pour les 3 signaux utilisés, la configuration *cis-V* présente un ratio compris entre 17 % et 23 %. Un seul signal permet de différencier les configurations *trans-III* et *trans-I*, l'atome de carbone primaire en position β des amines (en vert clair - Figure 105). Le ratio des isomères *trans-I* et *trans-III* a donc été calculé à partir de cette unique signal mais en fixant le ratio de l'isomère *cis-V* à la valeur moyenne de 20 %. Ainsi, la quantité relative de chacune des configurations *trans-III*, *trans-I* et *cis-V* est approximativement de 68 %, 12 % et 20 %.

La présence du groupement éthylènehydroxy sur le squelette du cyclam a donc une influence sur l'équilibre des configurations en solution. Dans le cas considéré ici, la proportion de *cis-V* augmente au détriment de la *trans-III* ; le ratio de *trans-I* reste, quant à lui, inchangé. Les calculs de DFT ont conforté ces résultats, l'énergie libre des isomères évolue bien selon l'ordre *trans-III* < *cis-V* < *trans-I*.

Les complexes de zinc des dérivés diméthyles (**DMC** et **DMC-E**) ont été étudiés selon la même méthode. Les analyses RMN du complexe $[\text{Zn}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$ ont mis en évidence la présence de 3 configurations en équilibre. Pour ce composé, un spectre RMN ^{13}C a été enregistré en augmentant le délai d_1 (temps entre deux impulsions) de 2 à 15 secondes. Cette expérience n'avait pas été réalisée avant car les résultats obtenus sur le $[\text{Zn}(\text{cyclam})]^{2+}$ étaient très proche de ceux de la littérature. Elle permet de s'assurer que tous les noyaux sont revenus à l'état d'équilibre avant de débiter une nouvelle séquence. En effet, lorsque le temps d_1 est trop faible, le spectromètre n'enregistre pas le retour total des spins à l'équilibre et l'intensité des pics peut ne pas être représentative de la quantité réelle du noyau dans l'échantillon. Dans le cas du $[\text{Zn}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$, l'augmentation du délai d_1 de 2 à 15 s (avec le même nombre de scan) n'a pas conduit à un changement significatif de l'intensité.

Les configurations ont été identifiées grâce à la fréquence de résonance des groupements méthyle. Les calculs de DFT ont permis de prédire un déplacement chimique plus déblindé ($\delta = 49.8$ ppm) pour les méthyles du complexe de configuration *cis-V*. Les valeurs calculées pour les configurations *trans-I* et *trans-III* sont respectivement $\delta = 44,1$ ppm et $\delta = 42,6$ ppm. A partir du spectre RMN ^{13}C du $[\text{Zn}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$ enregistré au laboratoire (Figure 106), les groupements méthyle présentant un déplacement chimique à $\delta = 48.4$ ppm ont donc été attribués à la configuration *cis-V*, ceux à $\delta = 44,8$ ppm à la *trans-I* et ceux à $\delta = 42,8$ ppm à la

trans-III. Le ratio de chaque isomère a ensuite été calculé à partir de l'intégration du pic correspondant à l'atome de carbone en position β des amines (en vert clair - Figure 106)

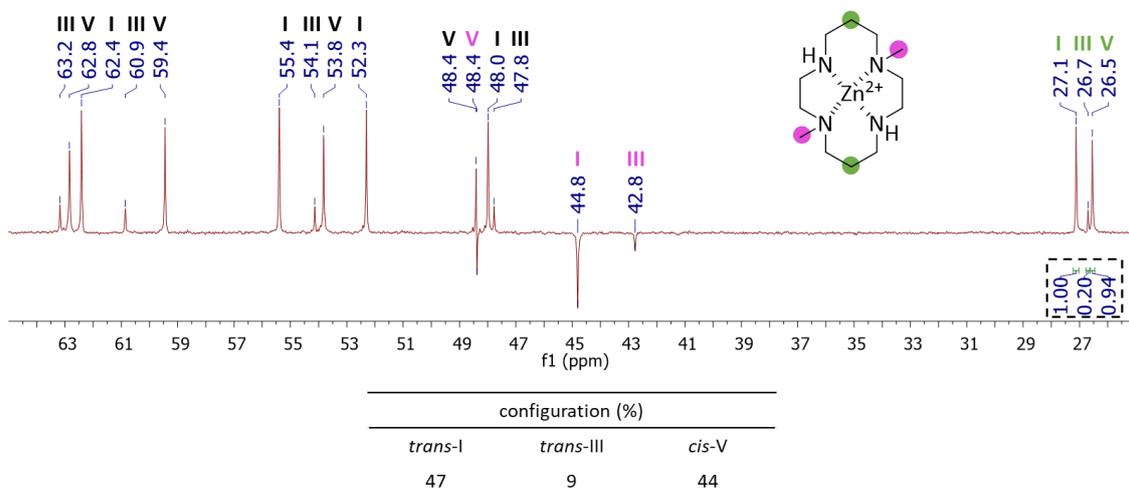


Figure 106. Spectre RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K, $d_1 = 15$ s) du $[\text{Zn}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$ et ratio (%) de chacune des configurations.

Le $[\text{Zn}(\text{DMC})\text{Cl}_2]$ présentent un ratio de configuration *trans*-I, *trans*-III et *cis*-V de respectivement 47 %, 9 % et 44 %. Ainsi, l'ajout de deux groupements méthyle sur les atomes d'azote du cyclam stabilise les configurations *trans*-I et *cis*-V qui se retrouvent en équilibre quasi parfait. La configuration *trans*-III, qui était la plus stable pour les complexes $[\text{Zn}(\text{cyclam})]\text{Cl}_2$ (82 %) et $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$ (68 %), devient la moins stable pour le $[\text{Zn}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$ en raison de l'effet stérique apporté par les méthyles. Ces résultats sont cohérents avec l'observation d'une structure cristallographique de configuration *cis*-V à l'état solide (cf. Figure 101) ; cet isomère est thermodynamiquement stable (autant que le *trans*-I).

Les analyses RMN de l'analogue C-fonctionnalisé, $[\text{Zn}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$, ont également montré la présence de 3 configurations en équilibre (Figure 107). L'identification de ces configurations a été faite selon la même méthode que pour le $[\text{Zn}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$: les groupements méthyle présentant des déplacements chimiques élevés ($\delta = 48,6$ et $48,5$ ppm) ont été attribués à l'isomère *cis*-V et ceux à $\delta = 45,9$ et $45,3$ ppm à l'isomère *trans*-I. Les pics correspondant aux groupements méthyle de l'isomère *trans*-III ne sont pas très distincts en raison de leur faible intensité, la série de pics minoritaires a donc été attribué à cet isomère. Le ratio de chaque configuration a ensuite été calculé à l'aide du pic caractéristique de l'atome

de carbone en position β de l'alcool (en rose Figure 107) et ceux des atomes de carbone en position β des amines (en vert clair et vert foncé Figure 107). Pour chacun des noyaux considérés, le pourcentage relatif de chacune des configurations est relativement proche et une moyenne de ces valeurs a été faite.

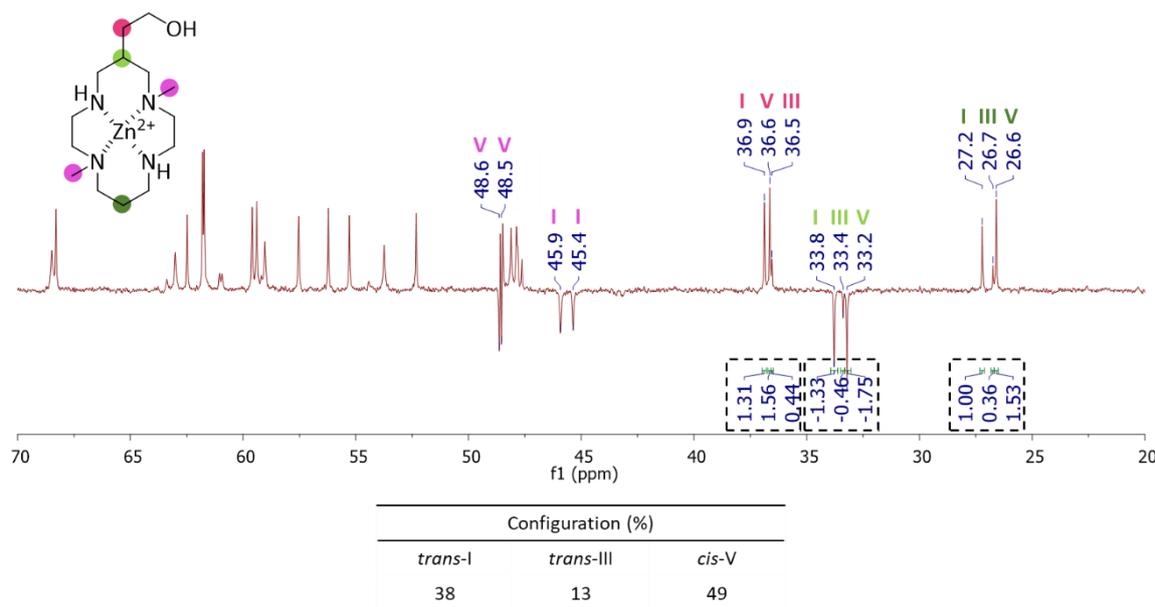


Figure 107. Spectre RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) du $[\text{Zn}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$ et ratio (%) de chacune des configurations.

Les configurations *trans*-III, *trans*-I et *cis*-V du complexe $[\text{Zn}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$ présentent chacune un ratio d'environ 38 %, 13 % et 49 %. Une nouvelle fois, la présence de la C-fonctionnalisation conduit à une légère stabilisation de la configuration *cis*-V.

Les complexes $[\text{Zn}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$ ont également été analysés dans D_2O à 298 K, cependant, dans ces conditions, l'ensemble des signaux correspondant aux atomes de carbone en position α des amines sont en coalescence et n'apparaissent pas sur le spectre. Ce phénomène peut s'expliquer à partir des données cristallographiques obtenues. En effet, les deux complexes présentent des longueurs des liaisons N-Zn différentes pour des atomes d'azote identiques au vu de la symétrie des ligands. Il est donc fort probable, que dans l'eau à température ambiante, la taille des liaisons N-Zn s'échange continuellement entre ces atomes d'azote "équivalents" et engendre un phénomène de coalescence pour les atomes de carbone les plus proches. Afin de pouvoir caractériser les composés, les analyses RMN ont été réalisées dans du méthanol deutéré à -50°C . Dans ces conditions, les deux complexes $[\text{Zn}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et

$[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$ ne présentent qu'une seule forme. Le nombre de signaux indique une perte de symétrie, comme pour les structures cristallographiques, suggérant qu'il s'agit bien de l'isomère *trans-I* attendu en raison de l'effet stérique des 4 groupements méthyle.

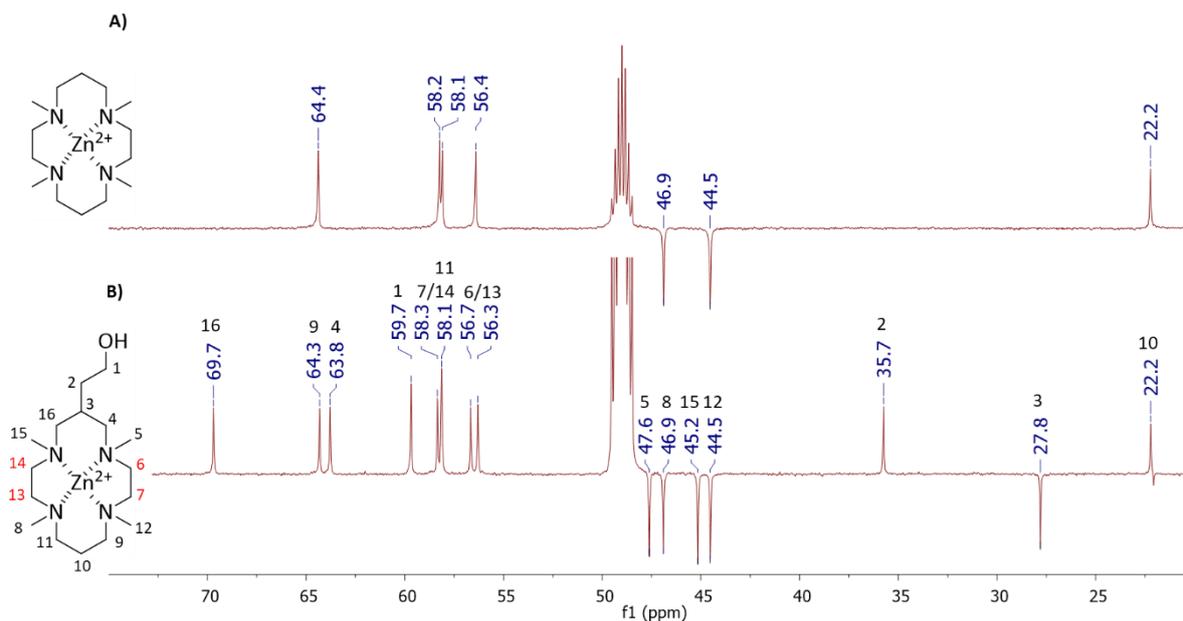


Figure 108. Spectres RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, CD_3OD , 223 K) des complexes **A**) $[\text{Zn}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et **B**) $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$.

Comme le montre le nombre de signaux sur le spectre **A**, le complexe $[\text{Zn}(\text{TMC})]^{2+}$ ne présente qu'un seul élément de symétrie alors que le ligand en possédait deux. Cette perte de symétrie trouve son origine dans la longueur des liaisons de coordination Zn-N qui ne sont pas toutes équivalentes. Le même phénomène est observé pour le $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]^{2+}$ (spectre **B**), cependant, le ligand ne possédant qu'un seul élément de symétrie, le complexe métallique n'en possède plus aucun, comme le montre la présence de signaux pour les 4 groupements méthyle. L'attribution des signaux des atomes de carbone du complexe $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]^{2+}$ a été réalisée à l'aide des analyses 2D HMQC ^1H - ^{13}C , HMBC ^1H - ^{13}C et COSY ^1H - ^1H (voir Annexe).

2.2.c Analyses RPE et UV-visibles des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$

Le **cuivre(II)** étant un cation paramagnétique, les analyses RMN des complexes ne sont pas possibles, ils peuvent cependant être analysés par spectroscopie RPE et UV-Visible. Les spectres des complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ ont été enregistrés en solution gelée à 150 K dans un mélange

eau/DMF (1/1) à une concentration de 20 mM (Figure 109). Les spectres de chaque paire d'analogues ont été regroupés pour mettre en avant l'influence de la chaîne éthylènehydroxy C-fonctionnelle.

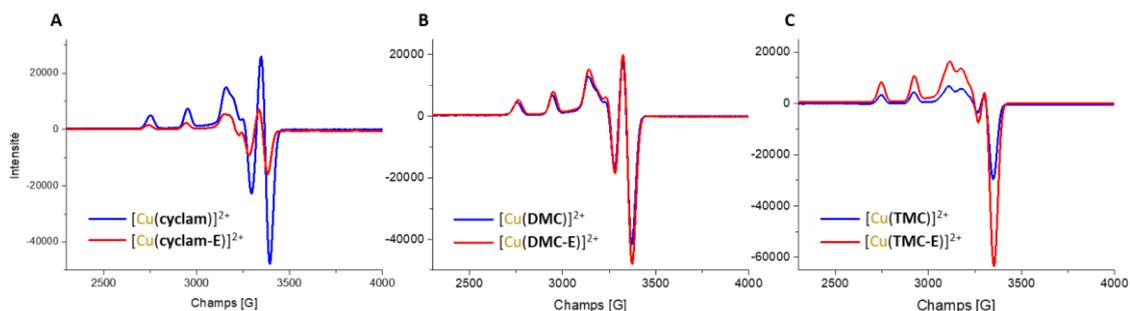


Figure 109. Spectres RPE en bande-X ($\nu = 9,31$ GHz) des complexes : (A) $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, (B) $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, (C) $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ à 20 mM dans une solution $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (1/1) gelée à 150 K.

La similitude de l'allure des spectres de chaque paire de composés suggère que la C-fonctionnalisation ne modifie pas significativement l'environnement du centre métallique. Ce résultat est cohérent avec l'observation des structures cristallographiques dont nous disposons à l'heure actuelle. Malgré tout, afin de comparer les données avec une plus grande précision, des simulations ont été réalisées en collaboration avec le Pr. R. Delgado à l'université de Lisbonne. Les spectres expérimentaux et simulés sont regroupés dans la Figure 110 et les paramètres RPE, g et A , utilisés pour les simulations sont réunis dans le Tableau 27.

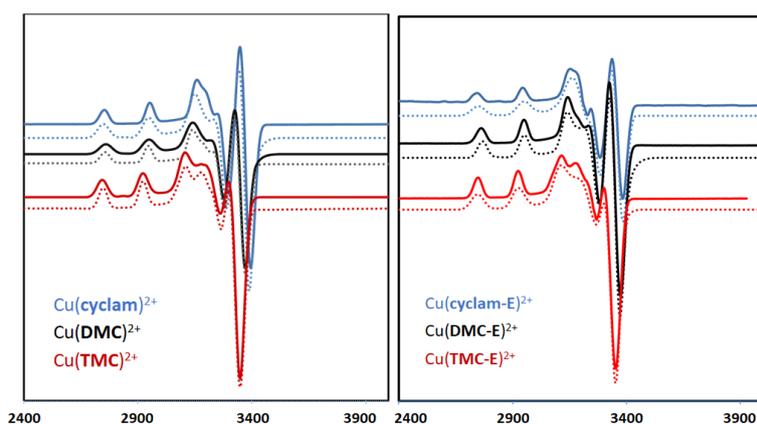


Figure 110. Spectres RPE expérimentaux (lignes pleines) et simulés (lignes pointillées) des complexes de cuivre étudiés.

Tableau 27. Paramètres RPE, g_i et A_i (10^{-4} cm^{-1}), des complexes de cuivre étudiés.

complexes	g_z	g_y	g_x	A_z	A_y	A_x
[Cu(cyclam)] ²⁺	2,184	2,035	203,1	23		
[Cu(cyclam-E)] ²⁺	2,190	2,046	205	28		
[Cu(DMC)] ²⁺	2,191	2,056	2,036	192,7	33	<10
[Cu(DMC-E)] ²⁺	2,190	2,057	2,039	189,6	47	<10
[Cu(TMC)] ²⁺	2,213	2,067	2,033	181,6	26	<10
[Cu(TMC-E)] ²⁺	2,210	2,065	2,037	184	25	16

Les paramètres calculés lors des simulations confirment la faible influence de la chaîne C-fonctionnelle sur l'environnement du cuivre(II). Le [Cu(cyclam)]²⁺ et le [Cu(cyclam-E)]²⁺ présentent une symétrie axiale avec $g_y = g_x = g_{\perp}$ et $A_y = A_x = A_{\perp}$ (cf. Tableau 23 page 181). Les quatre autres complexes sont définis par des systèmes rhombiques, cohérents avec la déformation du plan formé par les quatre atomes d'azote. Les valeurs obtenues pour ces six complexes sont caractéristiques d'un système avec un champ de liaisons planaires fort (atomes d'azote) et une élévation des liaisons axiales (contre-ions). L'augmentation du facteur de Landé g_z et la diminution du facteur A_z lors de l'ajout des groupements méthyle sont caractéristiques d'une diminution de la force des liaisons de coordination dans le plan des atomes d'azote et d'une augmentation du champ de liaisons axiales.

Les spectres UV-Visibles des six complexes ont été enregistrés dans l'eau ultra pure à une concentration de 6 mM (Figure 111). Les longueurs d'ondes maximales d'absorption et les coefficients d'extinction molaire de chaque complexe ont été regroupés dans le Tableau 28.

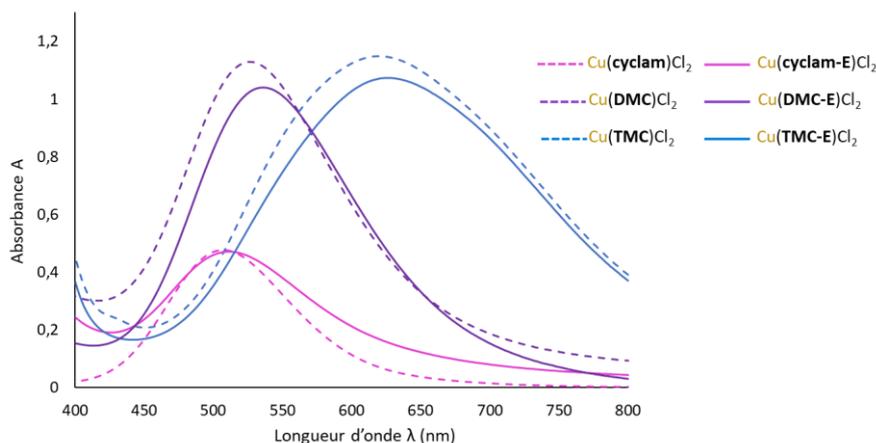


Figure 111. Spectres UV-Visibles des complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$ à 6mM dans H_2O ultra pure à 25°C .

Tableau 28. Longueurs d'onde d'absorbance maximale (nm) et coefficients d'extinction molaire ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) des complexes de cuivre étudiés.

	$\text{Cu}(\text{cyclam})\text{Cl}_2$	$\text{Cu}(\text{cyclam-E})\text{Cl}_2$	$\text{Cu}(\text{DMC})\text{Cl}_2$	$\text{Cu}(\text{DMC-E})\text{Cl}_2$	$\text{Cu}(\text{TMC})\text{Cl}_2$	$\text{Cu}(\text{TMC-E})\text{Cl}_2$
λ_{max}	507	511	526	536	619	625
ϵ_{max}	79	79	188	173	191	179

Les complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$ présentent des absorbances maximales à 507 et 511 nm caractéristiques d'une géométrie octaédrique déformée (cf. Figure 89 page 155) et cohérentes avec les structures cristallographiques rapportées dans la littérature. Le $[\text{Cu}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$ et le $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$ ont des longueurs d'onde d'absorbance maximale de 526 et 536 nm qui correspondent également à une géométrie octaédrique déformée. Ces valeurs sont en accord avec la structure à l'état solide obtenue pour le $[\text{Cu}(\text{DMC})]\text{Cl}_2$ et laissent supposer que le $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]\text{Cl}_2$ présente une structure similaire. Les complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$ ont, quant à eux, des longueurs d'ondes d'absorbance maximale plus élevées, 619 et 625 nm, correspondant à une géométrie pyramidale à base carrée, en accord avec les structures cristallographiques.

Comme le montre les analyses structurales réalisées sur les complexes $[\text{Cu}(\text{L})]\text{Cl}_2$, spectroscopie RPE et UV-Visible, la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy n'impacte pas de façon significative la structure des complexes de cuivre étudiés.

2.2.d Etudes potentiométriques des complexes [Cu(L)]²⁺ et [Zn(L)]²⁺

Les complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** des dérivés méthylés, **DMC/DMC-E** et **TMC/TMC-E**, ont fait l'objet d'étude de potentiométrie afin de déterminer les constantes de stabilité thermodynamique des différentes espèces en solution. Pour accéder à ces valeurs, il est nécessaire d'entreprendre, au préalable, la mesure des constantes de protonation des ligands (Tableau 29). Les valeurs du **cyclam** et du **cyclam-E** ayant déjà été comparées par notre équipe,^[204] nous avons exclusivement réalisé la mesure des constantes des quatre dérivés méthylés.

Tableau 29. Constantes de protonation (log K_n) des ligands **cyclam**, **cyclam-E**, **DMC***, **DMC-E***, **TMC***, **TMC-E***.

L =	log K _n					
	cyclam ^a	cyclam-E ^b	DMC*	DMC-E*	TMC*	TMC-E*
L + H ⇌ LH	11,29	11,16	10,61	10,88	9,45	9,69
LH + H ⇌ LH ₂	10,19	10,14	9,02	8,89	9,13	9,13
LH ₂ + H ⇌ LH ₃	1,61	-	-	-	2,75	2,27
LH ₃ + H ⇌ LH ₄	1,96	-	-	-	2,10	-
log β ₂ (log K ₁ + log K ₂)	21,48	21,30	19,63	19,77	18,58	18,82

^a valeurs de la référence ^[231], ^b valeurs de la référence ^[204].

* Ces travaux, C_L = 2 mM, I = 0,1 M KNO₃, 25 °C.

Les valeurs obtenues montrent que la fonctionnalisation éthylènehydroxy ne modifie que légèrement les constantes de protonation des ligands. Les constantes K₃ et K₄ n'ayant pas été mesurées pour tous les ligands, la somme log β₂ (log K₁ + log K₂) a été utilisée afin de comparer leur basicité. En accord avec les données de la littérature, la méthylation des fonctions amines fait diminuer la basicité des ligands : **cyclam** (21,48) et **cyclam-E** (21,30) > **DMC** (19,63) et **DMC-E** (19,77) > **TMC** (18,58) et **TMC-E** (18,82). Les diagrammes de répartition des espèces en fonction du pH ont été tracés pour les ligands **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E** à partir des constantes mesurées (Figure 112). L'espèce **LH₂²⁺** est bien majoritaire en solution à pH ≈ 7, utilisé lors des réactions de complexation, et à pH = 7,4 (physiologique) qui sera utilisé lors des études en milieu biologique.

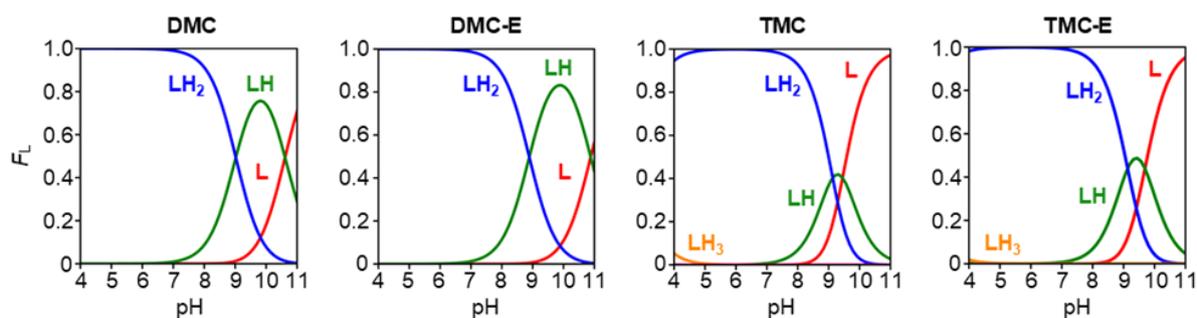


Figure 112. Diagrammes de répartition des espèces en fonction du pH pour le **DMC**, le **DMC-E**, le **TMC** et le **TMC-E**. Les courbes sont tracées à partir des valeurs obtenues par potentiométrie à une concentration $C_L = 2$ mM, F_L = fraction de ligand.

La détermination des constantes de protonation était indispensable pour accéder aux constantes de stabilité thermodynamique des complexes métalliques. Les mesures ont toutes été réalisées selon le même protocole : les ligands sont placés en solution (2 mM) à pH acide ($pH \approx 2,5$) à 25 °C en présence de nitrate de potassium à une concentration de 0,1 M. Un équivalent de sel métallique ($M(NO_3)_2$) est ajouté et la solution est agitée pendant plusieurs heures pour atteindre, à ce pH, l'équilibre thermodynamique avant de commencer l'expérience. Un volume de KOH (0,1 mL ou 0,05 mL à 0,1 M) est ajouté périodiquement à l'aide d'une burette automatique ; un délai d'attente est nécessaire pour atteindre le nouvel équilibre avant de procéder à la mesure du pH, dans notre cas, entre 15 min et 2 h. L'opération est ensuite répétée jusqu'à atteindre un pH d'environ 11,5. La grande variabilité du délai d'attente entre deux mesures est proportionnelle à la cinétique de complexation des ligands à pH acide ; les ligands C-fonctionnalisés ont nécessité un délai plus long entre chaque mesure indiquant une cinétique de complexation plus lente. Les données recueillies permettent ensuite de calculer les constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{mlh}$) et de réaction ($\log K_{mlh}$) des complexes. Les valeurs obtenues pour les complexes $[Cu(L)]^{2+}$ ainsi que celles du potentiel métal (pM) des ligands sont regroupées dans le

Tableau 30.

Tableau 30. Constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{\text{mlh}}$), constantes de réaction ($\log K_{\text{mlh}}$) et valeurs de $p\text{Cu}$ des complexes de **cuivre(II)** étudiés.

	$\log \beta_{\text{mlh}} / \log K_{\text{mlh}}$						
	L =	cyclam ^a	cyclam-E ^a	DMC*	DMC-E*	TMC*	TMC-E*
$\text{Cu} + \text{L} \rightleftharpoons \text{CuL}$		26,51	23,6 (1)	19,9 (1)	18,1 (1)	17,5 (1)	17,3 (1)
$\text{CuL}(\text{OH}) + \text{H} \rightleftharpoons \text{CuL} + \text{H}_2\text{O}$		n.d.	12,8 (2) 10,8	8,6 (1) 11,3	7,3 (1) 10,8	6,4 (1) 11,1	5,4 (1) 11,9
$\text{CuL}(\text{OH})_2 + \text{H} \rightleftharpoons \text{CuL}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}$		n.d.	n.d.	- 2,6 (1) 11,2	n.m.	n.m.	n.m.
$p\text{Cu}$		20,4	19,5	16,0	14,1	14,7	14,2

* Ces travaux, $C_{\text{L}} = C_{\text{Cu}} = 2\text{mM}$, $I = 0,1 \text{ M KNO}_3$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

La charge des complexes a été omise pour plus de clarté, les valeurs entre parenthèses représentent l'incertitude sur la mesure. n.d. = non disponible (littérature) et n.m. = non mesurée (ces travaux).

^a valeurs de la référence [204].

Ces valeurs mettent en évidence une diminution de la stabilité thermodynamique ($\log \beta_{\text{CuL}}$) lors de l'ajout de groupements méthyle. Cette effet était attendu car la même tendance a été observée sur la basicité des amines méthylées des macrocycles. L'affinité métal ligand ($p\text{Cu}$), plus adéquate pour comparer des complexes de différents ligands, diminue également $p\text{Cu}_{\text{cyclam}} (20,4) > p\text{Cu}_{\text{DMC}} (16,0) > p\text{Cu}_{\text{TMC}} (14,7)$. Les valeurs obtenues pour les complexes des ligands C-fonctionnalisés confirment que la présence de la chaîne hydroxyéthyle entraîne une diminution de $\log \beta_{\text{CuL}}$ et de $p\text{Cu}$. Ainsi, $p\text{Cu}_{\text{cyclam}} (20,4) > p\text{Cu}_{\text{cyclam-E}} (19,5)$; $p\text{Cu}_{\text{DMC}} (16) > p\text{Cu}_{\text{DMC-E}} (14,1)$ et $p\text{Cu}_{\text{TMC}} (14,7) > p\text{Cu}_{\text{TMC-E}} (14,2)$. La valeur de $p\text{Cu}_{\text{DMC-E}}$ est surprenante, elle est inférieure à $p\text{Cu}_{\text{TMC}}$ et $p\text{Cu}_{\text{TMC-E}}$, malgré un $\log \beta_{\text{Cu}(\text{DMC-E})}$ supérieur; cette observation illustre à nouveau la nécessité de comparer les $p\text{Cu}$ plutôt que les $\log \beta_{\text{CuL}}$.

Les études réalisées avec les ligands **DMC**, **TMC**, **DMC-E**, **TMC-E** n'ont pas montré la formation du complexe $[\text{Cu}(\text{LH})]^{3+}$ qui avait été rapportée dans la littérature pour le **cyclam-E**. Cependant, certaines espèces $[\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})]^+$, d'un grand intérêt pour l'application biologique ciblée, ont été observées. Elles présentent des $\log K_{\text{Cu}(\text{L})\text{OH}}$ élevés, semblables à ceux rapportés dans la littérature, entre 10,8 et 11,9. Le pK_a de ces complexes métal-hydroxo est trop élevé pour espérer les obtenir dans un milieu biologique à $\text{pH} = 7,4$.

Les études de potentiométrie ont également été réalisées avec le **zinc(II)**, les constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{mlh}$ et $\log K_{mlh}$) des complexes $[Zn(L)]^{2+}$ et les valeurs de pZn obtenues sont regroupées dans le Tableau 31.

Tableau 31. Constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{mlh}$), constantes de réaction ($\log K_{mlh}$) et valeurs de pZn des complexes de **zinc(II)** étudiés.

	L =	$\log \beta_{mlh} / \log K_{mlh}$					
		cyclam ^a	cyclam-E ^b	DMC*	DMC-E*	TMC*	TMC-E*
$Zn + L \rightleftharpoons ZnL$		15,3	14,7 (1)	12,4 (1)	12,1 (1)	10,5 (1)	10,5 (1)
$ZnL(OH) + H \rightleftharpoons ZnL + H_2O$		n.d.	6,0 (1) 8,7	3,9 (1) 8,5	3,8 (1) 8,3	2,4 (1) 8,1	2,2 (1) 8,3
$ZnL(OH)_2 + H \rightleftharpoons ZnL(OH) + H_2O$		n.d.	-3,9 (2) 9,9	-6,4 (1) 10,4	-6,4 (1) 10,2	-7,2 (1) 9,6	-7,7 (1) 9,9
pZn		9,2	9,2	8,6	8,1	7,8	7,5

* Ces travaux, $C_L = C_{Zn} = 2mM$, $I = 0,1 M KNO_3$, $25^\circ C$.

La charge des complexes a été omise pour plus de clarté, les valeurs entre parenthèses représentent l'incertitude sur la mesure. n.d. = non disponible (littérature).

^a valeurs de la référence [204].

Comme précédemment pour les complexes de cuivre, la méthylation des amines entraîne une diminution de la stabilité thermodynamique ($\log \beta_{ZnL}$) des complexes ainsi que de l'affinité métal-ligand (pZn) : $pZn_{cyclam-E} (9,2) > pZn_{DMC-E} (8,1) > pZn_{TMC-E} (7,5)$. L'effet de la C-fonctionnalisation est, quant à lui, moins important dans le cas de la complexation du **zinc(II)**. Toutefois, la même tendance que pour la complexation du **cuivre(II)** a été observée : les dérivés C-fonctionnalisés présentent des pZn légèrement plus bas que les dérivés du cyclam, $pZn_{cyclam} (9,2) = pZn_{cyclam-E} (9,2)$; $pZn_{DMC} (8,6) > pZn_{DMC-E} (8,1)$ et $pZn_{TMC} (7,8) > pZn_{TMC-E} (7,5)$. Comme attendu, la formation des complexes $[Zn(LH)]^{3+}$ n'a pas été observée. Cependant, la formation des deux complexes métal-hydroxo $[ZnL(OH)]^+$ et $[ZnL(OH)_2]$ a été mise en évidence. Leurs constantes $\log K_{mlh}$ sont beaucoup plus basses avec le zinc qu'avec le cuivre. Ainsi, les complexes $[ZnL(OH)]^+$ présentent des constantes de formation ($\log K_{Zn(L)OH}$) comprises entre 8,3 et 8,7. Le passage des amines secondaires (**cyclam**, **cyclam-E**) à des amines tertiaires méthylées (**DMC**, **DMC-E**, **TMC**, **TMC-E**) semble favoriser des valeurs plus basses mais les variations restent relativement faibles. Le pK_a de ces complexes métal-hydroxo est suffisamment proche du pH physiologique (7,4) pour espérer les obtenir en milieu biologique.

Les diagrammes de spéciation des complexes de cuivre et de zinc des ligands **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E** ont été tracés en fonction du pH (Figure 113).

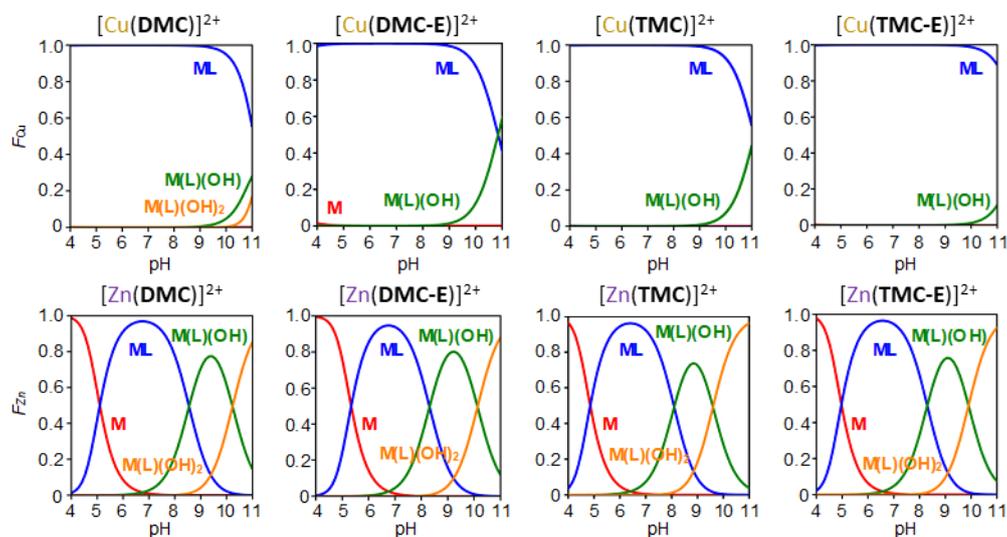


Figure 113. Diagrammes de spéciation en solution des ligands **DMC**, **DMC-E**, **TMC**, **TMC-E** en présence de **cuivre(II)** ou de **zinc(II)** en fonction du pH. F_{Cu} et F_{Zn} = fraction de l'espèce à un pH donné. Les charges ont été omises pour plus de clarté. Conditions : [ligand] = 2 mM ; [M(II)] = 2m M ; 25 °C ; I = 0.10 M KNO_3 . L = Ligand ; M = Métal.

Ces diagrammes montrent que les complexes de cuivre $[Cu(L)]^{2+}$ sont formés à 100% dès pH = 4 tandis que seulement 50% des complexes $[Zn(L)]^{2+}$ sont formés autour de pH 5. Ils mettent également en avant la nette différence entre les complexes de cuivre et de zinc vis-à-vis de la formation des complexes métal-hydroxo. Aucune espèce $[Cu(L)(OH)]^+$ n'est présente avant pH = 9-10, tandis que les espèces $[Zn(L)(OH)]^+$ se forment dès pH = 7 et sont maximales autour de pH = 9-10. L'analyse de ces diagrammes de spéciation est particulièrement intéressante en vue de l'application biologique ciblée. En effet, un des objectifs de ce travail est d'utiliser ces ligands pour complexer Cu^{2+} et Zn^{2+} présents dans les espèces A β -M et un deuxième est d'étudier l'effet des complexes formés sur le peptide. Considérant les valeurs de pM, il semble que les six ligands étudiés soient en mesure de chélater le Cu^{2+} et le Zn^{2+} . L'effet principalement recherché ensuite étant l'hydrolyse protéique, les données obtenues par potentiométrie montrent que les complexes de **zinc(II)** de ces six ligands sont susceptibles d'avoir l'effet escompté à pH physiologique (7,4) contrairement aux complexes de **cuivre(II)**.

2.2.e Etude du comportement en milieu acide des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$

Dans un premier temps, le comportement de chacun des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ ($\text{L} =$ **cyclam**, **cyclam-E**, **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E**) a été étudié en milieu acide chlorhydrique (HCl 3 M) à 25°C en suivant l'absorbance de la solution au cours du temps (Figure 114). Pour une réaction de dissociation, les courbes attendues doivent montrer une absorbance proche de zéro en fin d'expérience pour la bande d'absorption d-d du complexe $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$. En raison de la libération de Cu^{2+} dans la solution, une augmentation de la bande d'absorption est attendue au-delà de 800 nm ($\lambda_{\text{max}}(\text{CuCl}_2) = 816 \text{ nm}$). Des changements d'absorbance sont également susceptibles d'être observés en dessous de 500 nm, correspondant à la modification du transfert de charge ligand-métal (« Ligand-Metal Charge Transfer »).

Dans ce milieu, une diminution de l'absorbance est observée (légère pour le $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$) ainsi qu'un changement significatif de la longueur d'onde maximale d'absorption pour les complexes $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$. Ce phénomène semble pouvoir être modélisé par une fonction exponentielle décroissante (réaction d'ordre 1) avec un paramètre d'ajustement correcte ($R^2 \approx 0,99$). Néanmoins, la décroissance de l'absorbance ne tend pas vers 0 comme cela est attendu pour une dissociation complète du complexe. De plus, la modification de la longueur d'onde maximale d'absorption, observée pour certains composés, est plutôt indicateur d'un changement d'espèce au sein de l'échantillon.

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer les résultats obtenus :

- La protonation du complexe conduisant à l'espèce $[\text{Cu}(\text{LH})]^{3+}$, avec un coefficient d'extinction molaire (ϵ) et un λ_{max} différent de $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$.
- Un changement de configuration du complexe ou bien un échange de contre-ion, menant à une nouvelle espèce avec un coefficient d'extinction molaire (ϵ) et un λ_{max} différent.
- Une dissociation partielle des complexes qui atteint un équilibre.
- La dissociation de certaines configurations tandis que d'autres restent stables.

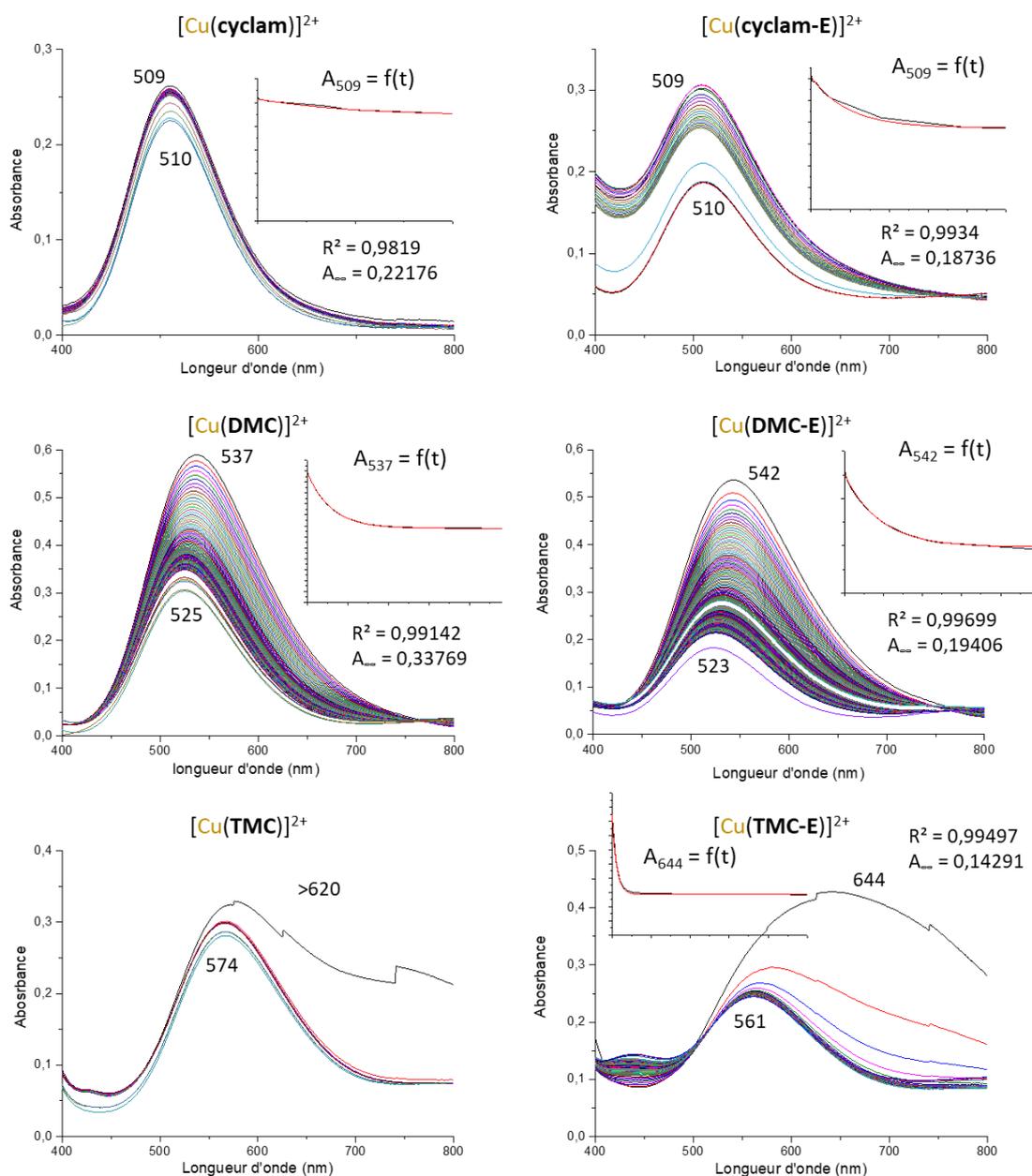


Figure 114. Spectres UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ à 3mM dans HCl 3 M à 25°C. Les valeurs inscrites correspondent à la longueur d'onde d'absorption maximale au début et à la fin de l'expérience. La courbe exponentielle correspond à la superposition expérimentale/modélisation de la fonction $A_{\lambda_{\text{max}}} = f(t)$ réalisée sur OriginPro9. Le paramètre R^2 correspond au paramètre d'ajustement et A_{∞} à l'asymptote de la fonction exponentielle modélisée.

Des analyses de RPE ont été réalisées sur les échantillons, une fois l'équilibre atteint, afin d'apporter des éléments de réponse aux hypothèses faites. Le $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ n'a pas fait l'objet d'analyses complémentaires car les spectres UV-Vis montrent clairement qu'il possède une importante inertie cinétique dans ce milieu, ce qui est en accord avec les données rapportées par Weisman.^[243]

Le spectre RPE du $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$ dans HCl 3 M, à l'équilibre, a été enregistré en solution gelée à 150 K puis a été comparé aux spectres du $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$ dans H₂O/DMF et du Cu^{2+} dans HCl 3 M (Figure 115).

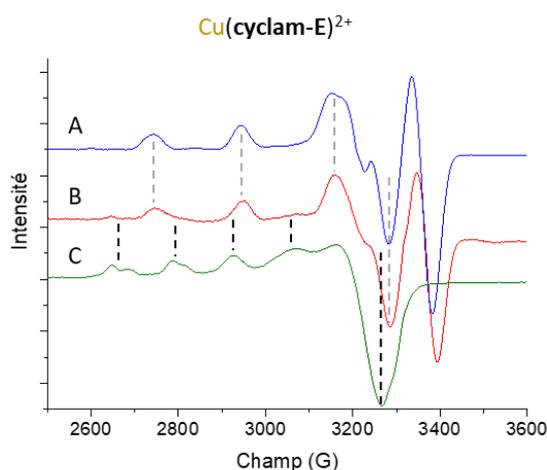


Figure 115. Spectres RPE en bande-X ($\nu = 9,31$ GHz) à 150 K de **A**) $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$ dans DMF/H₂O (bleu), **B**) $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$ dans HCl 3 M (rouge) et **C**) Cu^{2+} dans HCl 3 M (vert).

Le spectre du $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$ dans HCl 3 M (**B** - en rouge) ne présente pas les pics caractéristiques du Cu^{2+} libre (**C** - en vert), il ne se dissocie donc pas (ou très peu). L'allure du spectre **B** n'est pas non plus strictement identique à celle du spectre **A**, le milieu HCl a un léger effet sur la structure du complexe. Ainsi, la diminution de l'absorbance au cours de l'étude d'inertie cinétique serait plutôt attribuée à une adaptation du complexe en présence de 1000 équivalents d'HCl (changement de contre-ion ou polymère de coordination).

Les spectres RPE du $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et du $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$ ont, eux aussi, été enregistrés après avoir atteint l'équilibre dans HCl 3 M (Figure 116).

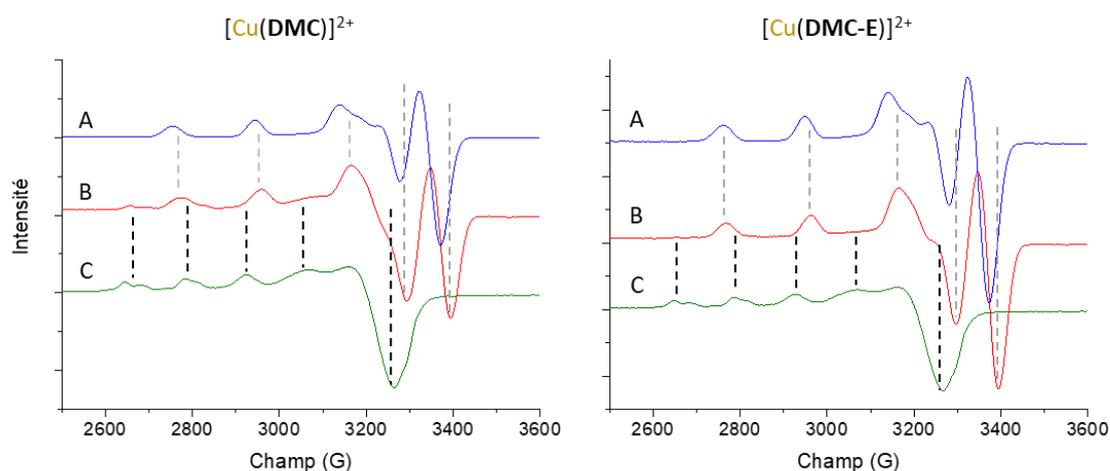


Figure 116. Spectres RPE en bande-X ($\nu = 9,31$ GHz) à 150 K de **A**) $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans DMF/ H_2O (bleu), **B**) $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans HCl 3 M (rouge) et **C**) Cu^{2+} dans HCl 3 M (vert).

Les observations faites sur ces spectres sont identiques pour le $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et le $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$. Les spectres des complexes dans HCl 3 M (**B** en rouge), ne présentent pas les signaux caractéristiques du cuivre libre (**C** – en vert), par conséquent il n'y a pas de dissociation (ou très peu dans le cas du $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$). Une nouvelle fois, l'allure des spectres **B** n'est pas parfaitement identique aux complexes dans $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (**A** - en bleu), il y a donc un effet du milieu HCl sur la structure des complexes. Ainsi, la diminution de l'absorbance et le changement de λ_{max} au cours de l'étude d'inertie du $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et du $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$ correspondraient également à un réarrangement des complexes dans HCl 3 M.

Enfin, les spectres RPE du $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et du $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ ont été enregistrés dans les mêmes conditions que les précédents et ont mis en avant un comportement différent vis-à-vis du milieu HCl 3 M.

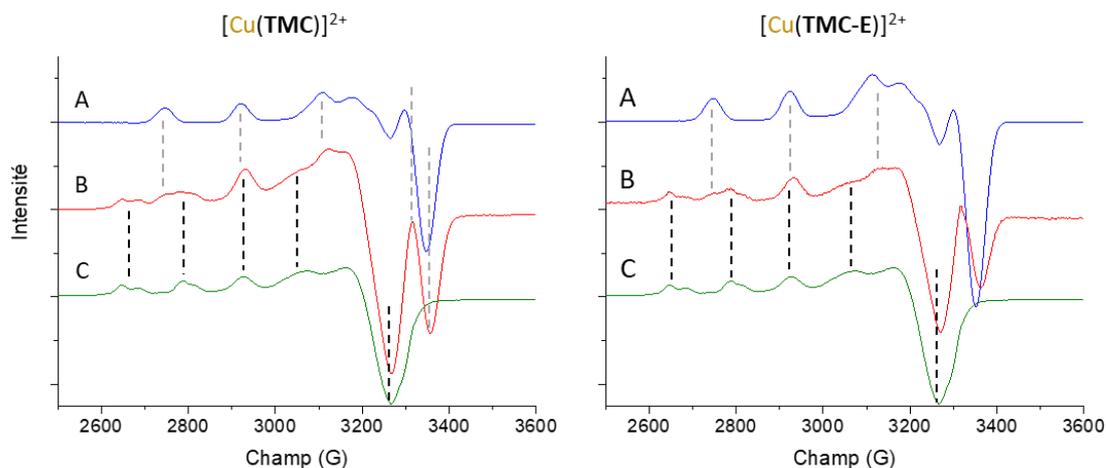


Figure 117. Spectres RPE en bande-X ($\nu = 9,31$ GHz) à 150 K de **A**) $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans DMF/H₂O (bleu), **B**) $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans HCl 3 M (rouge) et **C**) Cu^{2+} dans HCl 3 M (vert).

Dans le cas de ces deux complexes, les spectres **B** (en rouge) montrent la présence en quantité importante de Cu^{2+} libre dans l'échantillon mais également du $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et du $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ persistant. Il est donc incontestable que la diminution de l'absorbance observée en UV-Visible correspond à une dissociation partielle de l'échantillon. Néanmoins, cette conclusion n'explique pas l'important déplacement de la longueur d'onde maximale d'absorption (de 644 nm à 561 nm pour le $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$), qui suggère que les complexes persistants présentent une géométrie différente des complexes de départ.

Comme nous l'avons vu dans la partie bibliographique, le $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ est susceptible d'adopter les configurations *trans*-I et *trans*-III en fonction du contre-ion. Nous avons donc décidé d'étudier l'inertie cinétique par suivi UV-Vis des complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})\text{Cl}_2]$ (*trans* I) et $[\text{Cu}(\text{TMC})(\text{NO}_3)_2]$ (*trans* III). Le résultat obtenu est surprenant, à notre connaissance, ce comportement n'avait jamais été rapporté dans la littérature.

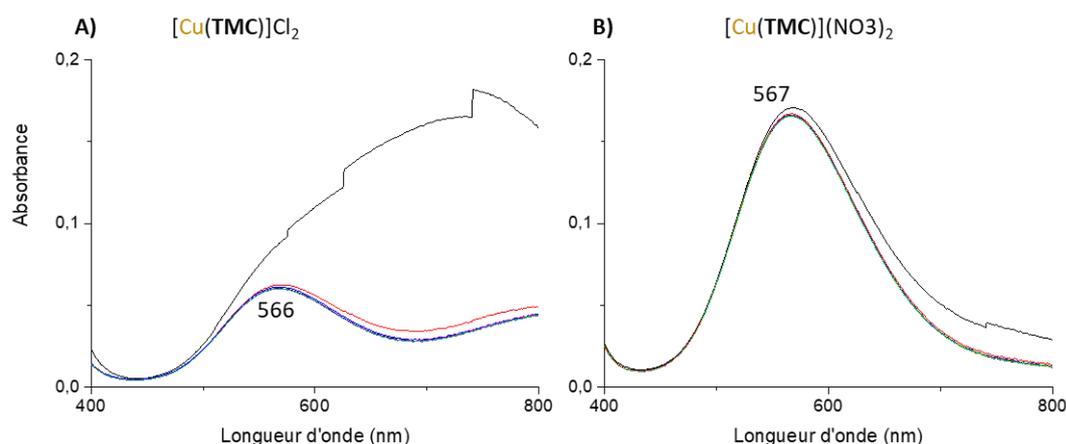


Figure 118. Suivis UV-Visible au cours du temps des complexes **A)** $[\text{Cu}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et **B)** $[\text{Cu}(\text{TMC})](\text{NO}_3)_2$, à 2 mM dans HCl 3 M à 25 °C.

Comme attendu, le complexe $[\text{Cu}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ (*trans*-I) se dissocie partiellement et de façon très rapide ; une absorption persistante est observée à $\lambda_{\text{max}} = 566$ nm (**A** - Figure 118). Le complexe $[\text{Cu}(\text{TMC})](\text{NO}_3)_2$ (*trans*-III), quant à lui, ne montre aucun changement d'absorbance : il ne se dissocie donc pas et présente une bande d'absorption à $\lambda_{\text{max}} = 567$ nm (**B** - Figure 118). Cette valeur de λ_{max} est cohérente avec une géométrie octaédrique déformée attendue pour un complexe de configuration *trans*-III. Ainsi, la dissociation partielle observée pour le complexe $[\text{Cu}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ est sûrement une dissociation rapide de l'isomère *trans*-I et l'absorbance persistante peut être attribuée à une proportion d'isomère *trans*-III présente dans l'échantillon et inerte dans le milieu HCl 3 M à 25 °C.

En conclusion, dans HCl 3 M à 25°C, le $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$ ne montre aucun changement significatif, les complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$ présentent une diminution de l'absorbance ainsi qu'un changement structural sans que cela ne puisse être associé à une réaction de dissociation. Les composés $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ présentent, quant à eux, une dissociation très rapide de la configuration *trans*-I tandis que la *trans*-III est inerte. La comparaison des vitesses de dissociation des complexes de ces deux ligands montre un effet intéressant de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy. En effet, le $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ se dissocie légèrement plus vite que le $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$.

Dans un second temps, nous avons recherché des conditions expérimentales permettant d'obtenir une dissociation totale des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ afin de calculer leur temps de demi-vie ($t_{1/2}$). Weisman et coll.^[243] avaient rapporté un temps de demi-vie de 2,7 jours du $[\text{Cu}(\text{cyclam})]$ dans HCl 5 M à 30 °C. Nous avons donc choisi d'étudier l'inertie cinétique

dans HCl 5 M à 50 °C afin d'accéder à un temps de demi-vie inférieure et réaliser des expériences plus courtes (Figure 119).

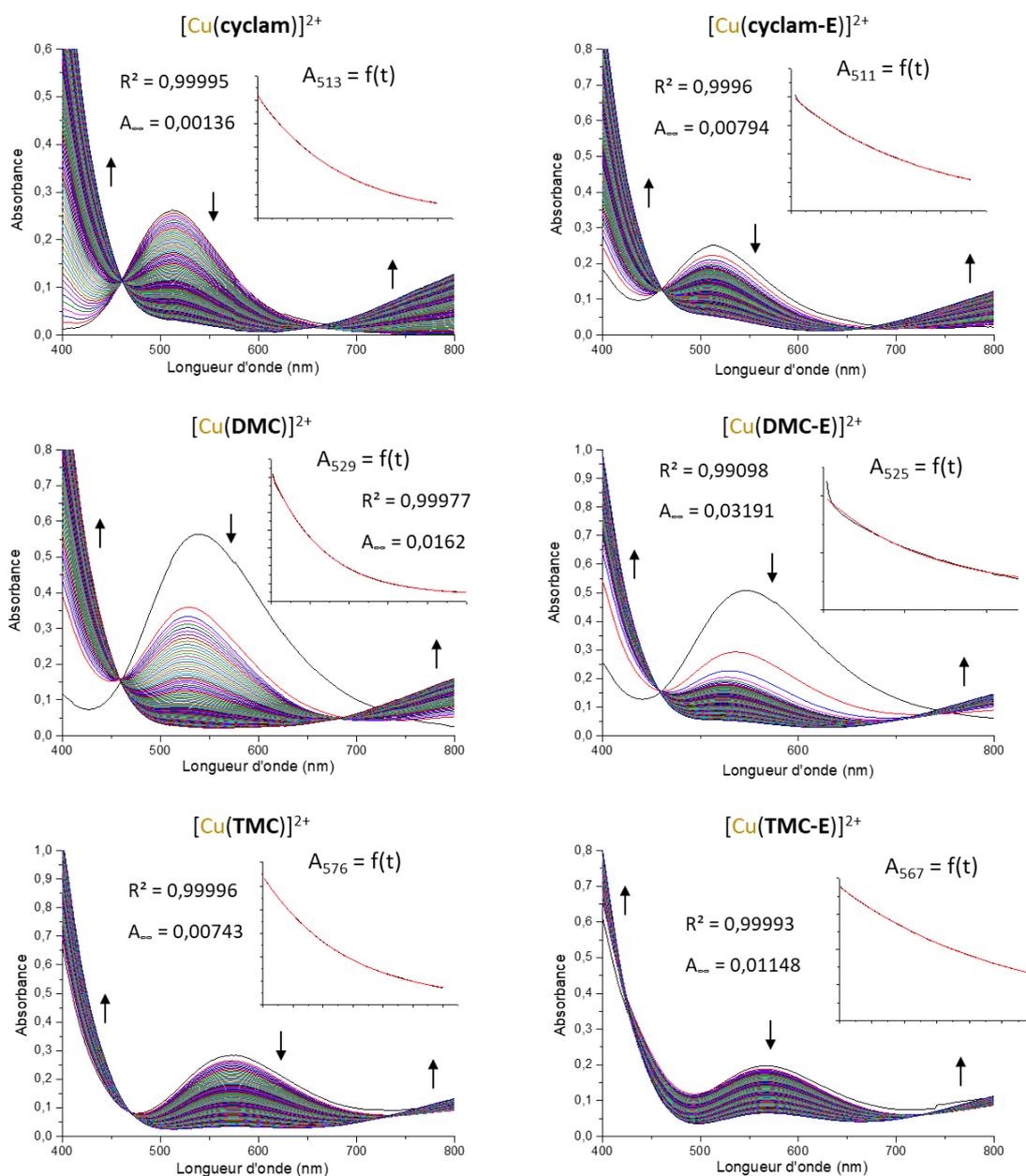


Figure 119. Spectres UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ à 2,85mM dans HCl 5 M à 50°C avec 10 min d'intervalle. Les flèches indiquent l'évolution de l'absorbance au cours du temps de part et d'autres des points isobestiques. La courbe exponentielle correspond à la superposition expérimentale/modélisation de la fonction $A_{\lambda_{max}} = f(t)$ réalisée sur OriginPro9. Le paramètre R^2 correspond au paramètre d'ajustement et A_{∞} à l'asymptote de la fonction exponentielle modélisée.

Les courbes obtenues présentent deux points isobestiques de part et d'autre de la bande d'absorption d-d du complexe de cuivre, qui diminue au cours du temps pour atteindre une valeur proche de 0. Ce comportement est caractéristique d'une dissociation totale d'un complexe $[\text{Cu}(\text{L})]$ menant à la formation de LH_4^{4+} et de Cu^{2+} . Les analyses du $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et du $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$ présentent des premières mesures avec une importante diminution de l'absorbance. Ce phénomène correspond, en plus rapide, aux observations faites lors de l'étude dans le milieu HCl 3 M à 25 °C ; tous les complexes sont soumis à cette adaptation rapide au milieu HCl 5 M. Ce phénomène est instantané pour les complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$, la longueur d'onde maximale d'absorption à t_0 se situe autour de 570 nm, valeur observée à la fin des expériences dans HCl 3 M. La décroissance de l'absorbance à λ_{max} en fonction du temps a été modélisée par une fonction exponentielle décroissante, les premières mesures ont été exclues de la modélisation lorsqu'elles ont été jugées trop aberrantes. Les temps de demi-vie et les constantes de dissociation calculés sont regroupés dans le Tableau 32.

Tableau 32. Constantes de dissociation k_d (10^{-3} min^{-1}) et temps de demi-vie (min et h) des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans un milieu HCl 5 M à 50 °C.

HCl 5 M, 50 °C					
	$t_{1/2}$ (min)	k_d (10^{-3} min^{-1})		$t_{1/2}$ (min)	k_d (10^{-3} min^{-1})
Série n°1			Série n°2		
$[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$	384	1.80	$\text{Cu}(\text{cyclam-E})^{+2}$	579	1.20
$[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$	183	3.78	$\text{Cu}(\text{DMC-E})^{2+}$	438	1.58
$[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ (<i>trans</i> -III)	374	1.85	$\text{Cu}(\text{TMC-E})^{2+}$ (<i>trans</i> -III)	699	0.99

Les complexes $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$ présentent les temps de demi-vie les plus bas de chaque série, ils ont donc la moins bonne inertie cinétique. Les valeurs calculées mettent également en avant l'effet intéressant de la C-fonctionnalisation. En effet, les temps de demi-vie des composés C-fonctionnalisés sont supérieurs à celui de leur analogue dérivé du cyclam : $\text{Cu}(\text{cyclam-E})$ (579 min) > $\text{Cu}(\text{cyclam})$ (384 min), $\text{Cu}(\text{DMC-E})$ (438 min) > $\text{Cu}(\text{DMC})$ (183 min) et $\text{Cu}(\text{TMC-E})$ (699 min) > $\text{Cu}(\text{TMC})$ (374 min). Le groupement C-fonctionnel conduit donc à une augmentation significative de l'inertie cinétique. Cet effet, très intéressant, trouve son origine dans le processus de dissociation au cours duquel le ligand est soumis à

d'importantes torsions lors de la décoordination d'un atome d'azote. La C-fonctionnalisation impose une conformation chaise particulière au métallocycle à 6 chaînons et agit comme une « ancre » ralentissant la déformation du ligand et par voie de conséquence la dissociation du complexe. Les complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ de configuration *trans*-III présente une inertie cinétique très élevée, contrairement au complexe de configuration *trans*-I. Ce phénomène est probablement dû dans la géométrie très peu déformée du complexe de configuration *trans*-III. En effet, celui-ci adopte une structure octaédrique proche de celle du complexe $[\text{Cu}(\text{cyclam})]\text{Cl}_2$ où les atomes d'azote forment un plan carré.^[223]

2.2.f Voltamétrie cyclique des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$

Les cyclovoltammogrammes des complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** des six ligands ont été enregistrés en collaboration avec le Pr. G. Royal de l'université de Grenoble. Les complexes $[\text{Zn}(\text{L})]^{2+}$ ne montrent aucune transformation lors du balayage des potentiels, comportement attendu pour le **zinc(II)**, ils permettent néanmoins de montrer que les ligands sont électrochimiquement inertes.

Les complexes $[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, présentent tous les deux le même comportement. La réaction observée à la cathode ne correspond pas à une réduction du $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ en $[\text{Cu}(\text{L})]^+$ mais à une réduction à 2 électrons du **cuivre(II)** en **cuivre(0)**, confirmée par un dépôt de **cuivre(0)** sur l'électrode au cours de l'expérience. Lors du balayage retour, un pic de redissolution anodique est observé, caractéristique de l'oxydation du **cuivre(0)** formé sur l'électrode. Ces résultats indiquent que les complexes se dissocient lors de la réduction, les systèmes sont donc irréversibles.

Les complexes $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et le $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ ont, quant à eux, montré un comportement différent des complexes précédents. Les cyclovoltammogrammes enregistrés sont présentés Figure 120. Bien que l'allure de ces courbes soit différente, le phénomène illustré est le même pour les quatre composés.

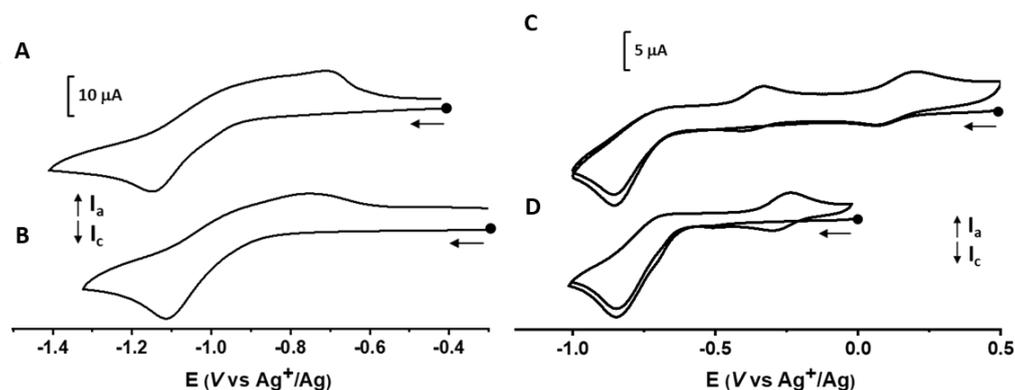


Figure 120. Cyclovoltammogrammes des complexes (A) $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$, (B) $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$, (C) $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et (D) $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ dans $\text{CH}_3\text{CN} + \text{TBAPF}_6$ (0,1 M) à une vitesse de $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

La vague de réduction observée pour ces quatre complexes correspond bien à la transformation du $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ en $[\text{Cu}(\text{L})]^+$. Lors du balayage retour, l'oxydation se produit à un potentiel plus haut que celui attendu pour un système réversible. Cette oxydation correspond en fait à un nouveau système dans le milieu (2 nouveaux dans le cas du TMC – courbe C). Ce phénomène est caractéristique d'un changement de configuration de l'espèce réduite $[\text{Cu}(\text{L})]^+$ qui ne retrouve pas la configuration du complexe $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ initial lors de l'oxydation. L'allure différente des courbes des dérivés diméthylés (A et B) et tétraméthylés (C et D) est due à des vitesses de réorganisation inégales. En effet, à la vitesse d'analyse de $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, les nouveaux systèmes formés sont bien visibles pour les complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ tandis qu'ils semblent être en cours de formation pour le $[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$ et le $[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$. L'analyse des complexes $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ à une vitesse plus élevée ($3 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$) conduit à des courbes où la réorganisation du complexe $[\text{Cu}(\text{L})]^+$ n'a pas le temps d'avoir lieu.

Les potentiels de réduction E_{pc} et les informations sur les systèmes des six complexes étudiés sont regroupés dans le Tableau 33.

Tableau 33. Données électrochimiques des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ étudiés, E_{pc} (V, vs Ag^+/Ag).

complexes	E_{pc} (V)	réversibilité	phénomène
$[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$	-1.50	irréversible	démétallation
$[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$	-1.72	irréversible	démétallation
$[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$	-1.14	irréversible	réorganisation
$[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$	-1.12	irréversible	réorganisation
$[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$	-0,87	irréversible	réorganisation
$[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$	-0,87	irréversible	réorganisation

Les six complexes présentent des systèmes irréversibles, néanmoins, deux comportements différents ont été observés, une démétallation des complexes en raison d'une réduction en **cuivre(0)** ou une réorganisation des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^+$. La méthylation conduit à une diminution du potentiel de réduction E_{pc} , donc à une stabilisation des espèces réduites. La présence de la C-fonctionnalisation n'a, quant à elle, pas un effet significatif sur les potentiels de réduction, cependant, il est probable qu'elle est un léger effet sur la vitesse de changement de configuration des espèces réduites.

2.2.g Conclusion

Les complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** avec les ligands, **cyclam**, **cyclam-E**, **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E** ont tous été caractérisés. Les analyses RMN des complexes $[\text{Zn}(\text{L})]\text{Cl}_2$ ont conduit à l'identification et à la quantification des différentes configurations (*trans-I*, *trans-III*, *cis-V*) présentes en solution. La méthylation influence considérablement la stabilité de chacun des isomères en raison de l'effet stérique, tandis que la présence de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy n'a qu'un faible effet en stabilisant légèrement la configuration *cis-V*. Les analyses de RPE et UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]\text{Cl}_2$ ont permis de déterminer leur géométrie et de mesurer le faible impact de la C-fonctionnalisation sur celle-ci, ce qui était vivement souhaité. Les constantes de stabilité thermodynamique des complexes $[\text{M}(\text{L})]^{2+}$ et des complexes métal-hydroxo $[\text{M}(\text{L})(\text{OH})]^+$ ont été calculées à l'aide des données recueillies en potentiométrie. L'étude de l'inertie cinétique des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ a montré que la présence de la chaîne C-fonctionnelle permet d'augmenter de façon significative le temps de demi-vie en milieu acide. De plus, les complexes des dérivés tétraméthylés de configuration *trans-III* ont également montré une inertie cinétique étonnamment élevée. Enfin, les analyses de voltamétrie cyclique ont mis en avant l'irréversibilité des systèmes étudiés, soit en raison d'une dissociation soit d'un changement de configuration. Néanmoins, les potentiels de réduction (E_{pc}) mesurés pour ces six complexes de cuivre se situent tous hors de la fenêtre de réduction en milieu biologique, ce qui laisse supposer que l'irréversibilité des systèmes ne sera pas un inconvénient pour l'application ciblée.

2.3 Caractérisation des complexes de Cu^{2+} et Zn^{2+} avec les ligands CB-cyclam, CB-cyclam-E, CB-DMC et CB-DMC-E

Les complexes de **cuivre(II)** et de **zinc(II)** des dérivés renforcés, **CB-cyclam**, **CB-cyclam-E**, **CB-DMC** et **CB-DMC-E** ont fait l'objet d'un travail similaire à celui des dérivés précédents (**cyclam**, **cyclam-E**, **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E**), à l'exception des études potentiométriques en raison de leur cinétique de complexation trop lente.

2.3.a Structures cristallographiques du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$

Pour les complexes des ligands "cross-bridged" C-fonctionnalisés, seuls des monocristaux du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})\text{Cl}]\text{Cl}$ ont été obtenus et leur analyse par diffraction des rayons-X a révélé la présence de deux diastéréoisomères, *anti* et *syn* (Figure 121), comme observé pour les ligands au cours de leur synthèse.

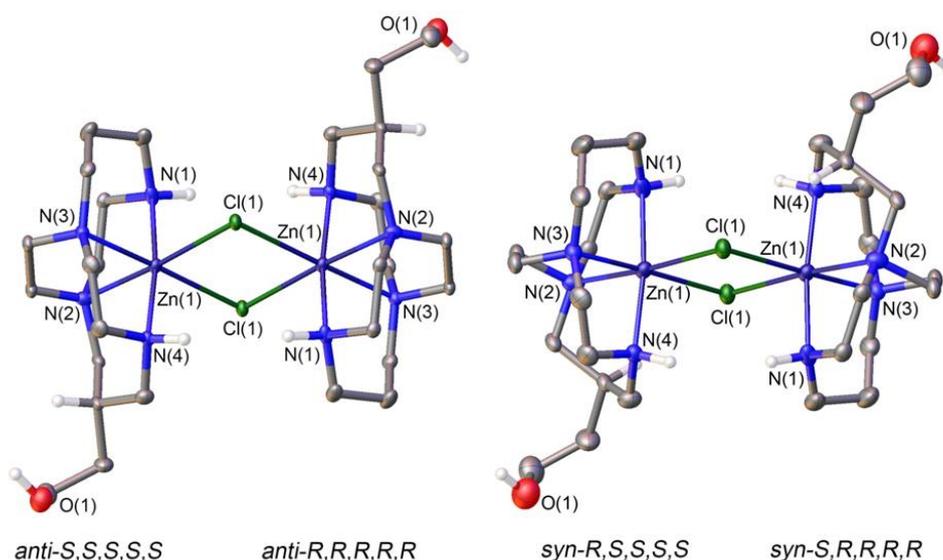


Figure 121. Structures cristallographiques des complexes $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})\text{Cl}]^+$ de configuration *anti* et *syn*. Les contre-ions et les atomes d'hydrogène ont été omis pour plus de clarté, exceptés ceux portés par les atomes d'azote, le carbone asymétrique et la fonction alcool. Les ellipsoïdes sont tracées à 50 % de probabilité.

Cette figure montre clairement les configurations des deux diastéréoisomères qui se distinguent par la position du pont éthylène "cross-bridged" entre les atomes d'azote N2 et N3 par rapport à la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy. Pour ces deux complexes, le métallocycle à 6 chaînons portant la C-fonctionnalisation n'adopte pas la même conformation.

En effet, l'isomère *anti* présente une conformation chaise et l'isomère *syn* une conformation bateau-croisé. En considérant le niveau d'énergie de ces deux conformations, l'isomère *anti* (chaise) doit être thermodynamiquement plus stable que l'isomère *syn* (bateau-croisé). Afin de mesurer l'effet de la C-fonctionnalisation ainsi que celui de son orientation, les structures des complexes *syn*-[Zn(CB-cyclam-E)Cl]⁺ et *anti*-[Zn(CB-cyclam)Cl]⁺ ont été superposées à celle du [Zn(CB-cyclam)Cl]⁺ rapportée dans la littérature (Figure 122).^[189]

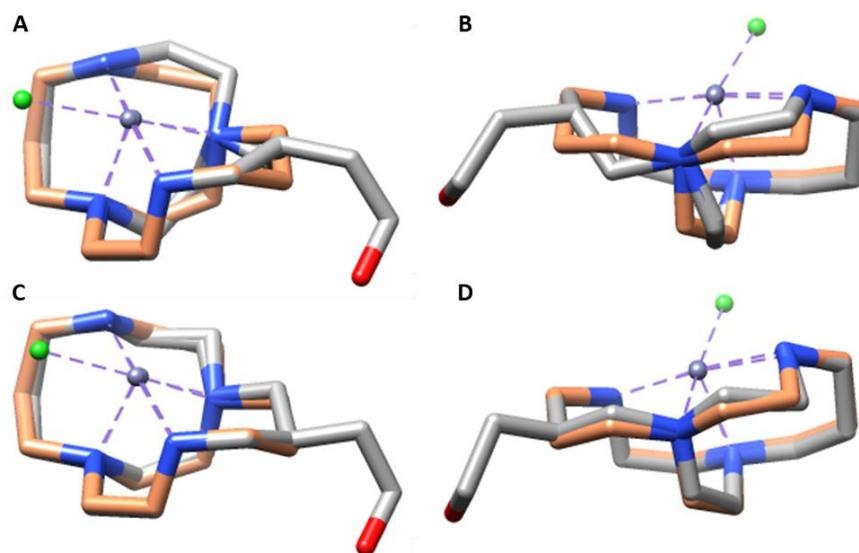


Figure 122. Superpositions des structures du complexe [Zn(CB-cyclam)Cl]⁺ (squelette beige) avec : **A/B** le *syn*-[Zn(CB-cyclam-E)Cl]⁺ (squelette gris) et **C/D** l'*anti*-[Zn(CB-cyclam-E)Cl]⁺ (squelette gris).

Les vues regroupées ci-dessus mettent en évidence la mauvaise superposition du [Zn(CB-cyclam)Cl]⁺ (beige) avec l'isomère *syn* (**A** et **B** - gris) et une correspondance quasi-parfaite avec l'isomère *anti* (**C** et **D** - gris). Cela s'explique par le fait que le complexe [Zn(CB-cyclam)Cl]⁺ présente deux métallocycles à 6 chaînons en conformations chaises, plus basses en énergie. Au regard de ces observations, le complexe *anti*-[Zn(CB-cyclam-E)Cl]⁺ doit être l'isomère dont la géométrie est la plus favorable et la plus basse en énergie. Ces résultats ont été confirmés par des calculs de DFT.

2.3.b Analyses RMN des complexes $[Zn(L)]Cl_2$

Les complexes $[Zn(\text{CB-cyclam})]Cl_2$, $[Zn(\text{CB-DMC})]Cl_2$, $[Zn(\text{CB-cyc-E})]Cl_2$ et $[Zn(\text{CB-DMC-E})]Cl_2$ ont été analysés en RMN 1H et ^{13}C afin d'identifier l'influence de la C-fonctionnalisation et de la configuration (*syn*, *anti*) sur les déplacements chimiques. Les complexes renforcés ne peuvent adopter que la configuration *cis-V*, par conséquent, une seule espèce était attendue pour les complexes du **CB-cyclam** et du **CB-DMC** et deux diastéréoisomères (*syn* et *anti*) pour les complexes des ligands C-fonctionnalisés.

Les spectres RMN ^{13}C des complexes $[Zn(\text{CB-cyclam})]Cl_2$ et $[Zn(\text{CB-cyclam-E})]Cl_2$ ont été enregistrés dans de l'eau deutérée à 25 °C et sont présentés Figure 123. Le $[Zn(\text{CB-cyclam-E})]Cl_2$ présente bien deux diastéréoisomères dont les proportions (2 :1) sont identiques à celles des diastéréoisomères du ligand utilisé ; il y a donc une rétention de configuration au cours de la réaction de complexation.

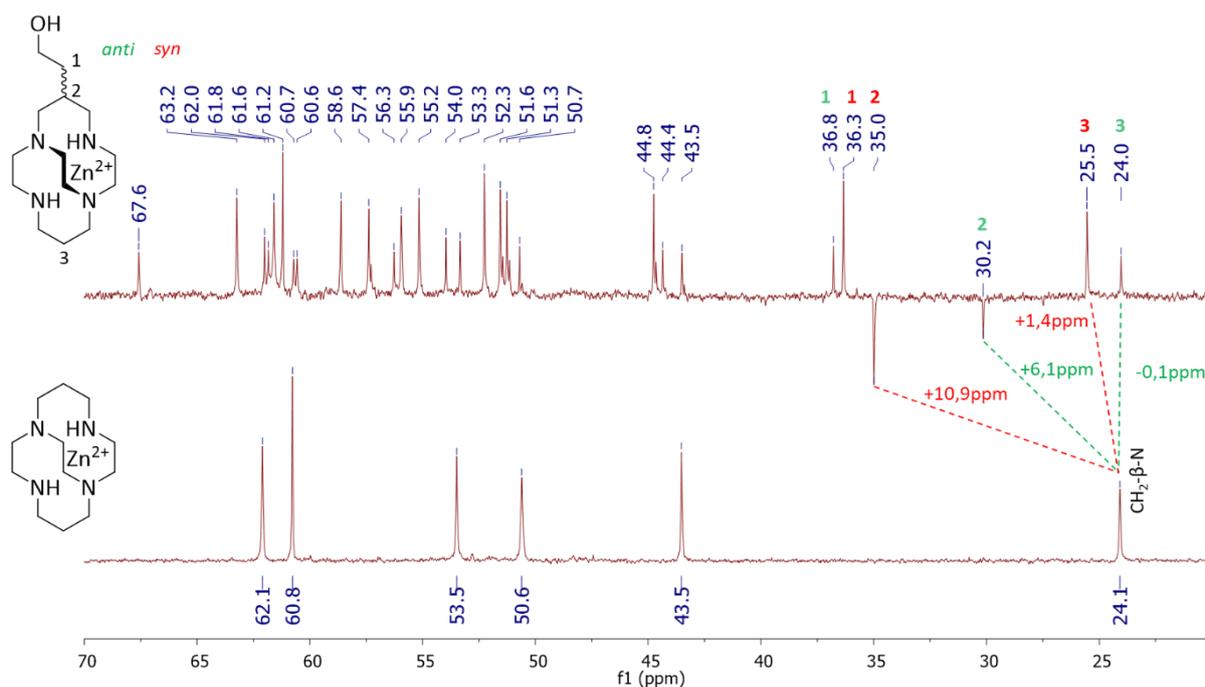


Figure 123. Spectres RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) des complexes $[Zn(\text{CB-cyclam-E})]Cl_2$ et $[Zn(\text{CB-cyclam})]Cl_2$.

Les isomères *anti* et *syn* ont été attribués d'après les informations recueillies grâce aux structures cristallographiques et aux calculs de DFT qui ont permis de prédire les déplacements chimiques des signaux des atomes de carbone $CH_2-\beta-OH$, $CH-\beta-N$ et $CH_2-\beta-N$ (numérotés 1, 2 et 3 Tableau 34).

Tableau 34. Attribution des déplacements chimiques (δ , ppm) pour les configurations *anti* et *syn* du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$ à partir des données expérimentales et celles calculées au niveau TPSSh/Def2-TZVPP.

$[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$				
	<i>anti</i>		<i>syn</i>	
	δ^{exp}	δ^{cal}	δ^{exp}	δ^{cal}
(1) $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$	36,8	36,1	36,3	33,1
(2) $\text{CH-}\beta\text{-N}$	30,2	31,7	35,0	38,6
(3) $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$	24,0	23,2	25,5	25,1

La combinaison des analyses cristallographiques, de RMN et des calculs de DFT confirment que l'isomère *anti* du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$ présente un pic correspondant à l'atome de carbone $\text{CH-}\beta\text{-N}$ (2) avec un déplacement chimique plus proche de celui du $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$ du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$ en raison de leurs similitudes géométriques.

Les mêmes analyses de RMN ont été faites pour le $[\text{Zn}(\text{CB-DMC})]\text{Cl}_2$ et le $[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$ (Figure 124). Comme nous l'avons vu dans le chapitre synthèse de ce manuscrit, les deux isomères *syn* et *anti* du ligand **CB-DMC-E** ont été séparés. Par conséquent la complexation a été réalisée sur chacune des espèces. Cela a permis de montrer à nouveau la rétention de configuration au cours de la réaction de complexation ; chaque ligand a formé le complexe de zinc de même configuration.

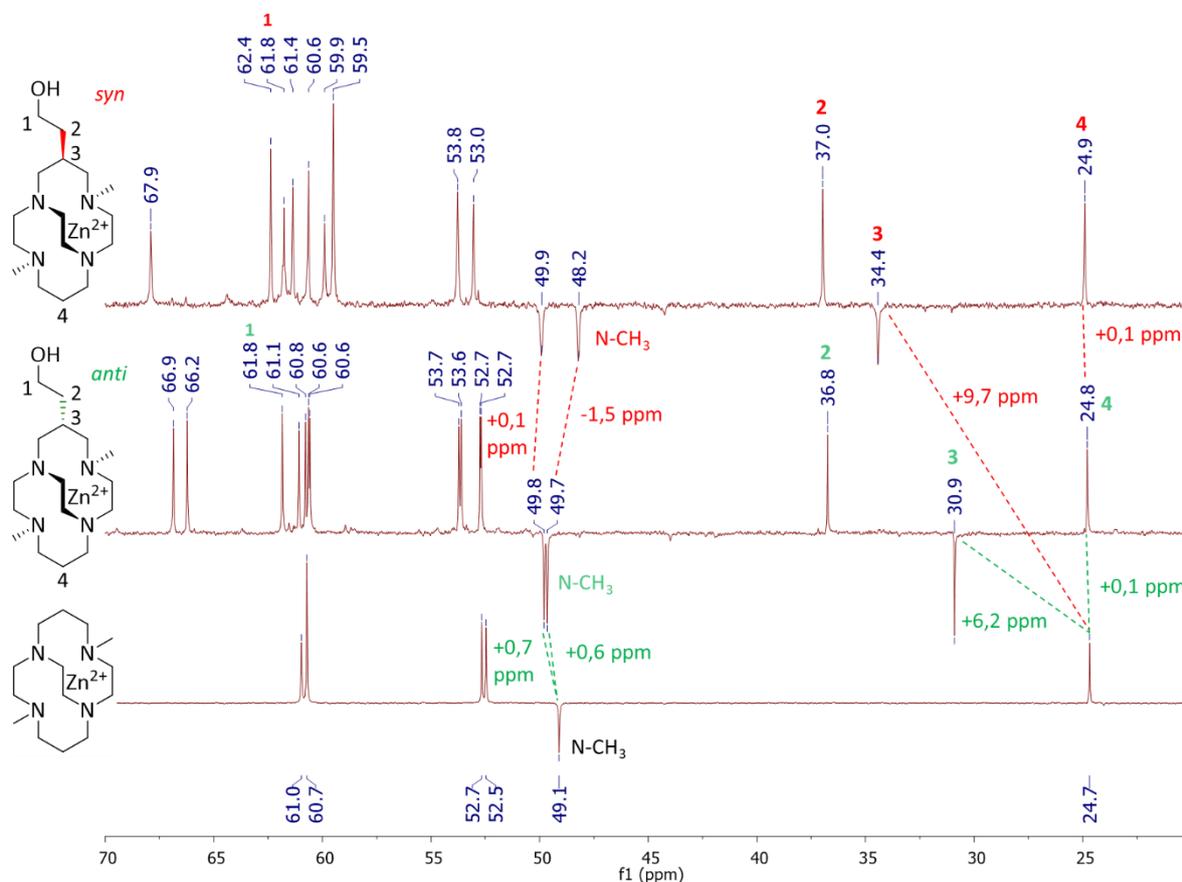


Figure 124. Spectres RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) des complexes $[\text{Zn}(\text{CB-DMC})]\text{Cl}_2$, $\text{anti-}[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$ et $\text{syn-}[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$.

L'identification de chacun des isomères a été faite à partir des caractéristiques géométriques des configuration *syn* et *anti* démontrés pour le composé précédent. Des calculs de DFT visant à simuler les déplacements chimiques de certains atomes de carbone ont ensuite été réalisés et ont confirmés cette attribution (Tableau 35).

Tableau 35. Attribution des déplacements chimiques (δ , ppm) pour les configurations *anti* et *syn* du $[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$ à partir des données expérimentales et celles calculées au niveau TPSSh/Def2-TZVPP.

	$[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$			
	<i>anti</i>		<i>syn</i>	
	δ^{exp}	δ^{cal}	δ^{exp}	δ^{cal}
(1) $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$	61,8	63,5	61,8	63,7
(2) $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$	36,8	35,1	37,0	34,1
(3) $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$	30,9	32,4	34,4	37,2
(4) $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$	24,8	25,4	24,9	24,7
CH_3	49,7	46,4	48,2	46,5
CH_3	49,8	51,0	49,9	49,0

Parmi les pics caractéristiques étudiés, le plus impacté par la configuration *syn* ou *anti* est celui correspondant à l'atome de carbone CH-β-N (**3**), sur lequel repose l'isomérisation. La chaîne éthylènehydroxy est, quant à elle, très peu modifiée par la configuration du composé, le pic de l'atome de carbone CH₂-β-OH est déplacé de seulement 0,2 ppm et celui de l'atome de carbone CH₂-α-OH présente le même déplacement chimique (61,8 ppm). Un des groupements méthyle s'avèrent être plus influencés par ce changement que la chaîne C-fonctionnelle, comme le montre l'écartement de leurs signaux. Ce phénomène trouve probablement son origine dans le changement de conformation du métallocycle à 6 chaînons. En effet, la chaîne éthylènehydroxy conserve une position équatoriale dans les deux isomères tandis que l'un des groupements méthyle voit son environnement modifié.

2.3.c Analyses de RPE et UV-visibles des complexes [Cu(L)]²⁺

Les spectres RPE des complexes [Cu(CB-cyclam)]²⁺, [Cu(CB-cyclam-E)]²⁺, [Cu(CB-DMC)]²⁺, [Cu(CB-DMC-E)]²⁺, ont été enregistrés en solution gelée à 150 K dans un mélange eau/DMF (1/1) à une concentration de 20 mM. Les spectres de chaque paire d'analogues ont été superposés et sont présentés ci-dessous (Figure 125).

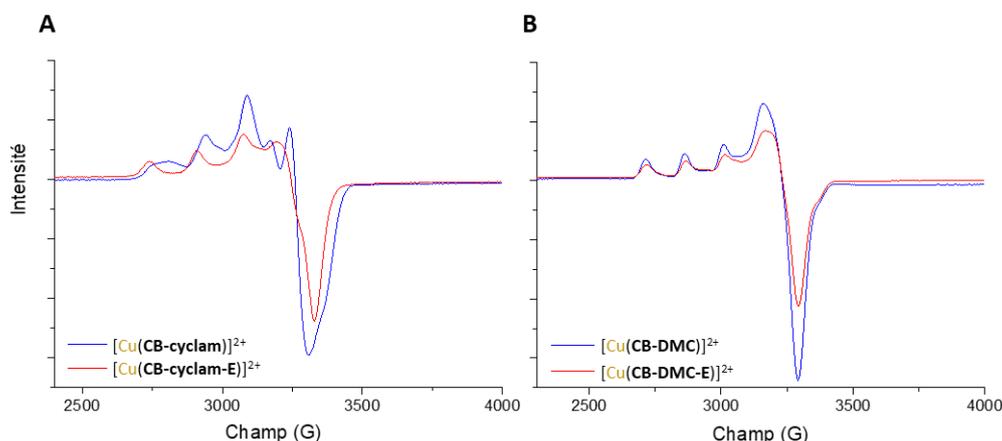


Figure 125. Spectres RPE en bande-X ($\nu = 9,31$ GHz) des complexes : (A) [Cu(CB-cyclam)]²⁺ et [Cu(CB-cyclam-E)]²⁺, (B) [Cu(CB-DMC)]²⁺ et [Cu(CB-DMC-E)]²⁺ à 20 mM dans une solution H₂O/DMF (1/1) gelée à 150 K.

Le spectre du [Cu(CB-cyclam)]²⁺ ne présente pas une bonne superposition avec celui du [Cu(CB-cyclam-E)]²⁺, il présente des pics larges suggérant la présence de deux espèces différentes dans l'échantillon. Busch et coll.^[188] ont rapporté ce type d'observation pour des

complexes de cuivre avec des dérivés “cross-bridged” du cyclam indiquant que cela est dû à la présence de deux géométries du même complexe, pyramidale à base carrée et bipyramidale à base triangulaire.

Les spectres des complexes $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$ présentent, quant à eux, des allures similaires, suggérant que la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy ne modifie pas significativement l’environnement autour du cation métallique, en accord avec les données recueillies jusqu’à présent. Des simulations ont été réalisées afin de calculer les paramètres RPE, g et A , de chaque système et de déterminer plus précisément la géométrie des complexes (Figure 126).

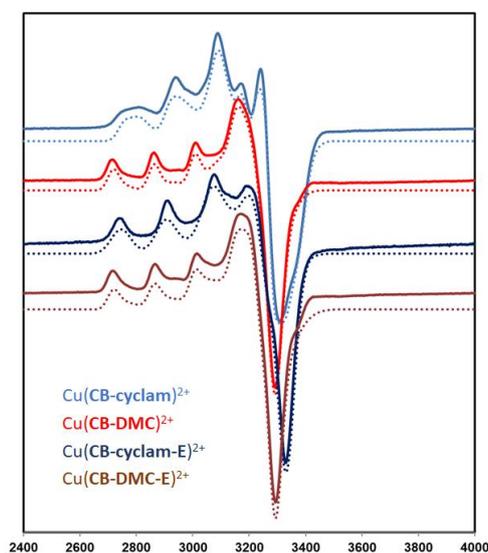


Figure 126. Spectres RPE expérimentaux (lignes pleines) et simulés (lignes pointillées) des complexes de cuivre $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ étudiés.

Il ressort de ces simulations, l’existence de deux espèces en équilibre pour les complexes $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$. Elles sont notées **A** et **B** dans le Tableau 36 ci-dessous. Des calculs de DFT ont également été réalisés dans le but d’expliquer la présence de ces deux espèces. La formation d’une seule espèce pour le $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$ n’a pas pu être expliquée ; il s’agit probablement d’un cas fortuit.

Tableau 36. Paramètres RPE, g_i et A_i (10^{-4} cm^{-1}), des complexes de cuivre étudiés obtenus à partir des données expérimentales (Exp) et des calculs de DFT (BHandHLYP/Def2_TZVPP).

	complexe	espèce	g_z	g_y	g_x	A_z	A_y	A_x
Exp	[Cu(CB-cyclam)] ²⁺	A	2,186	2,097	2,036	150,7	43	< 10
	[Cu(CB-cyclam)] ²⁺	B	1,995	2,121	2,209	< 10	46	159,3
DFT	[Cu(CB-cyclam)Cl] ⁺	A	2,242	2,157	2,017	164	98	4
	[Cu(CB-cyclam)H ₂ O] ²⁺	B	2,013	2,174	2,243	12	66	194
Exp	[Cu(CB-cyclam-E)] ²⁺	A	2,235	2,082	2,037	161,3	45	25
DFT	[Cu(CB-cyclam-E)Cl] ⁺	A	2,241	2,152	2,018	162	100	8
	[Cu(CB-cyclam-E)H ₂ O] ²⁺	B	2,013	2,172	2,241	12	67	193
Exp	[Cu(CB-DMC)] ²⁺	A	2,268	2,058		153,2		15
	[Cu(CB-DMC)] ²⁺	B	2,017	2,124	2,220	< 10	20	163,7
DFT	[Cu(CB-DMC)Cl] ⁺	A	2,298	2,102	2,077	139	99	68
	[Cu(CB-DMC)H ₂ O] ²⁺	B	2,049	2,135	2,296	50	121	140
Exp	[Cu(CB-DMC-E)] ²⁺	A	2,268	2,090	2,052	153,1	42	< 10
	[Cu(CB-DMC-E)] ²⁺	B	2,014	2,057	2,237	< 10	< 10	150,1
DFT	[Cu(CB-DMC-E)Cl] ⁺	A	2,297	2,104	2,074	139	101	66
	[Cu(CB-DMC-E)H ₂ O] ²⁺	B	2,046	2,142	2,296	42	119	144

L'espèce **A** présente des paramètres similaires aux complexes de cuivre des dérivés méthylés étudiés précédemment avec $g_z > g_y \geq g_x$ et $A_z > A_y \geq A_x$. Ces valeurs correspondent à une géométrie octaédrique déformée ou pyramidale à base carrée.

L'espèce **B** présente, quant à elle, des paramètres inversés avec $g_z < g_y < g_x$ et $A_z < A_y < A_x$, ces valeurs sont caractéristiques d'une structure avec une compression axiale, donc à une géométrie octaédrique compressée ou bipyramidale à base triangulaire.

Les paramètres RPE obtenus à l'aide des calculs de DFT conduisent à des valeurs assez éloignées de celles obtenues à partir des données expérimentales. Cependant, l'intérêt de ces calculs réside dans le changement de l'espèce coordinante (Cl⁻ ou H₂O) qui montre clairement une inversion des paramètres RPE. Ces résultats suggèrent vivement que le phénomène observé expérimentalement est bien dû à un échange d'espèce dans la sphère de coordination du cation métallique.

Les spectres UV-Visible des quatre complexes de cuivre des dérivés “cross-bridged” ont été enregistrés dans l’eau ultra pure à 6mM (Figure 127). Les longueurs d’onde maximales d’absorption et les coefficients d’extinction molaire de chaque composé ont été regroupés dans le Tableau 37.

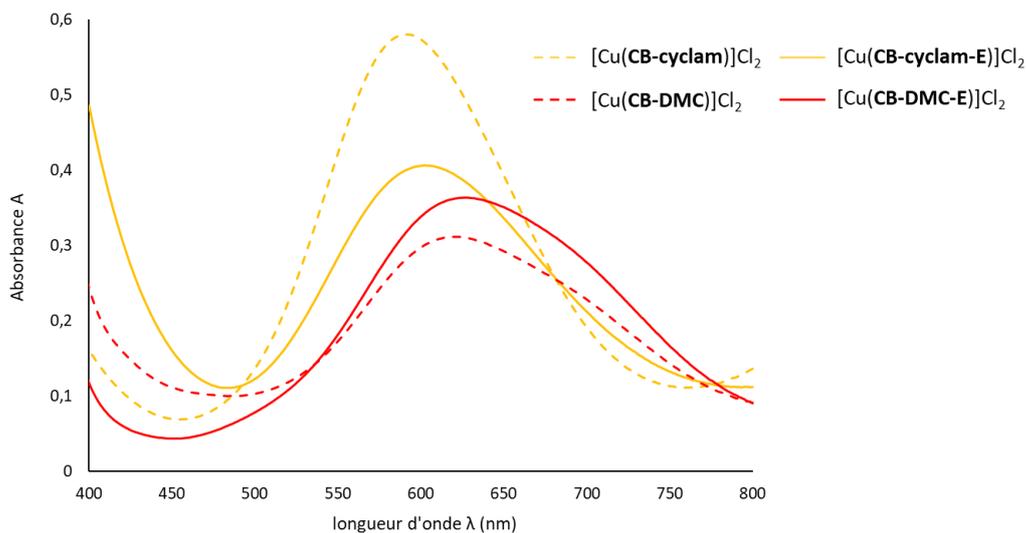


Figure 127. Spectres UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$ à 6mM dans H_2O ultra pure à 25 °C.

Tableau 37. Longueurs d'onde d'absorbance maximale (nm) et coefficients d'extinction molaire ($\text{mol}^{-1}.\text{L}.\text{cm}^{-1}$) des complexes de cuivre présentés Figure 127.

	$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]\text{Cl}_2$	$[\text{Cu}(\text{CB-cyc-E})]\text{Cl}_2$	$[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]\text{Cl}_2$	$[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$
λ_{max} (nm)	591	602	623	628
ϵ_{max} ($\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	97	68	52	61

Les complexes $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]\text{Cl}_2$ présentent des longueurs d’onde maximales d’absorption de 591 et 602 nm et celles des complexes $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$ sont légèrement plus élevées, 623 et 628 nm. Ces valeurs ainsi que l’importante largeur des bandes d’absorption d-d ne permettent pas de conclure quant à la géométrie des espèces présentes en solution (octaédrique déformée, pyramidale à base carrée ou bipyramidale à base triangulaire). Afin de distinguer ces géométries, il aurait été nécessaire de mesurer l’absorbance des échantillons dans le proche infrarouge (Vis-NIR). Les complexes de cuivre de type bipyramide à base triangulaire présentent une absorbance très

intense dans ce domaine, contrairement aux complexes de type pyramide à base carrée.^[212,254]

2.3.d Etude du comportement en milieu acide des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$

Les complexes métalliques des dérivés de cyclam “cross-bridged” sont connus pour avoir une très bonne inertie cinétique. Nous avons donc décidé d’étudier celle de nos composés, $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$, afin de mesurer l’influence de la méthylation et de la C-fonctionnalisation.

Une première série de mesure a été réalisée dans un milieu HCl 3,2 M à 25 °C. Une légère modification de la longueur d’onde maximale d’absorption ainsi que de l’absorbance de la solution a été observée entre 0 et 24 h puis aucun changement malgré la prolongation de l’expérience jusqu’à 120 h (5 j). Ces modifications, très faibles, ont été attribuées à une stabilisation des complexes dans le milieu.

Une seconde série de mesure a été réalisée dans un milieu plus drastique, HCl 5 M à 70 °C. Ces conditions ont été choisies à partir du temps de demi-vie de 11,2 min du $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$ dans HCl 5 M à 90 °C rapporté par Weisman et coll.^[243] La température a été abaissée à 70°C en espérant mesurer des temps de demi-vie de l’ordre de l’heure. Les données recueillies illustrent bien une dissociation totale en milieu acide, l’absorbance de la bande d-d du complexe de cuivre tend vers 0 et une augmentation est observée de part et d’autre des deux points isobestiques (Figure 128).

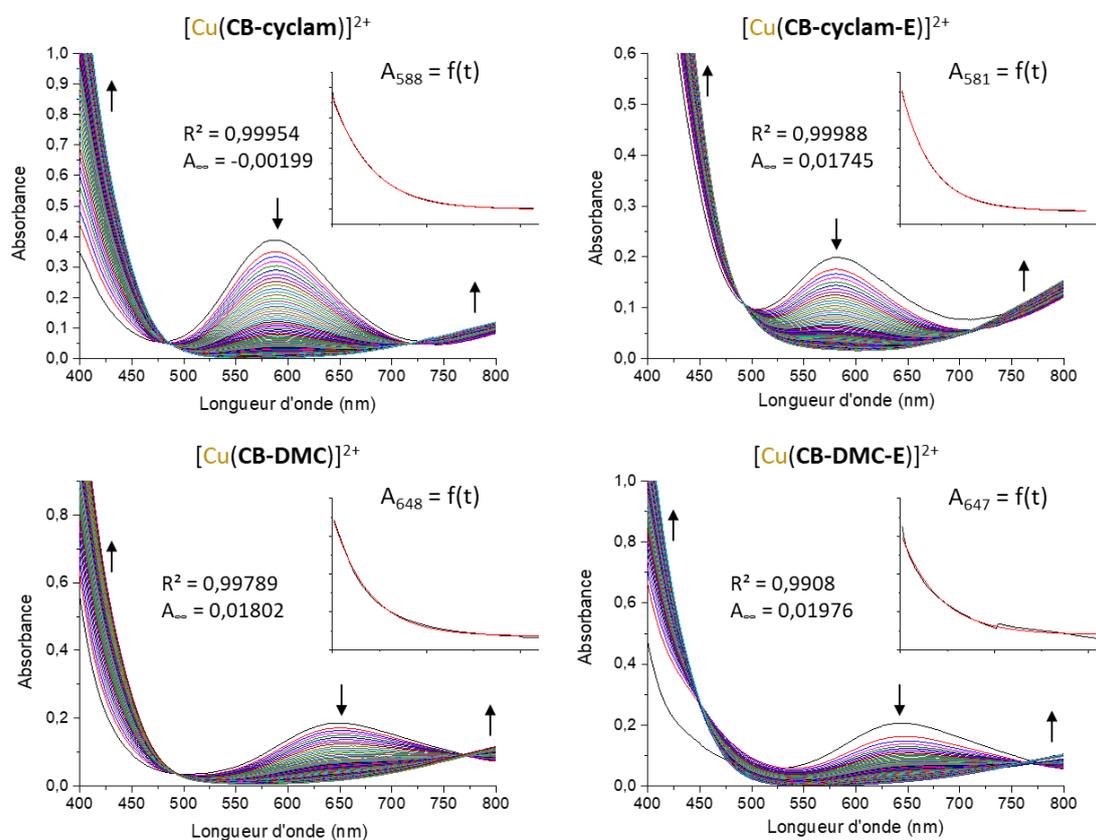


Figure 128. Spectres UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$, à 2,85 mM dans HCl 5 M à 70 °C avec 10 min d'intervalle. Les flèches noires indiquent l'évolution de l'absorbance au cours du temps de part et d'autres des points isobestiques. La courbe exponentielle correspond à la superposition expérimentale/modélisation de la fonction $A_{\lambda_{\text{max}}} = f(t)$ réalisée sur OriginPro9. Le paramètre R^2 correspond au paramètre d'ajustement et A_{∞} à l'asymptote de la fonction exponentielle modélisée.

Les résultats obtenus ont permis de tracer l'absorbance λ_{max} en fonction du temps qui a ensuite été modélisée par une fonction exponentielle décroissante avec un paramètre d'ajustement (R^2) supérieur à 0,99. Les paramètres du modèle exponentiel ont donné accès au temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de chacun des composés ainsi qu'à la constante de dissociation (k_d) dont les valeurs sont regroupées dans le Tableau 38.

Tableau 38. Constantes de dissociation k_d ($\times 10^3$, min^{-1}) et temps de demi-vie (min et h) calculés à partir de la modélisation exponentielle de la dissociation des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans HCl 5 M à 70 °C.

		HCl 5 M à 70 °C			
		$t_{1/2}$ (min)	k_d (10^{-3} min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	k_d (10^{-3} min^{-1})
Série n°1		Série n°2			
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$	140	4,94	$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$	128	5,41
$[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$	133	5,19	$[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$	141	4,91

Les quatre complexes de cuivre des dérivés “cross-bridged” présentent des temps de demi-vie relativement proches, de 128 à 141 min, ne permettant pas de conclure quant à l’influence de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy ou celle des groupements méthyle sur l’inertie cinétique. En revanche, ces résultats montrent que le pont éthylène “cross-bridged” est le facteur-clé dans le gain d’inertie cinétique de ces composés, bien au-delà des autres modifications structurales (méthylation et C-fonctionnalisation). Les temps de demi-vie obtenus peuvent être considérés comme élevés, les quatre complexes “cross-bridged” sont bien plus résistants à la dissociation que les autres complexes étudiés précédemment.

2.3.e Conclusion

Les complexes de **cuivre(II)** et **zinc(II)** avec les ligands **CB-cyclam**, **CB-cyclam-E**, **CB-DMC** et **CB-DMC-E** ont tous été caractérisés. Les analyses RMN des complexes $[\text{Zn}(\text{L})]\text{Cl}_2$, ont permis de mettre en évidence la formation de deux diastéréoisomères, *syn* et *anti*, pour les ligands C-fonctionnels. L’identification de chacune des configurations a été faite grâce aux données cristallographiques du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})\text{Cl}]^+$ et aux calculs de DFT, qui montrent que l’isomère *anti* à une structure plus proche de celle du dérivé non-C-fonctionnalisé que l’isomère *syn*. Les analyses de RPE et UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$, ont montré que le comportement des composés C-fonctionnalisés est très proche de celui des dérivés du cyclam “cross-bridged”. Les complexes étudiés présentent un mélange de deux géométries en solution gelée, pyramidale à base carrée et bipyramidale à base triangulaire en fonction de l’espèce venant compléter la sphère de coordination du cation. Enfin, l’étude de l’inertie cinétique des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$, a permis de montrer qu’ils présentent un temps de demi-vie autour de 135 min dans HCl 5 M à 70 °C. Ils sont très résistants à la dissociation grâce au pont éthylène

“cross-bridged” ; la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy et la méthylation des amines n’ont, a priori, pas une influence significative.

2.4 Caractérisation des complexes de Cu^{2+} et Zn^{2+} des ligands TE1EtOH, TE3MeEtOH, CB-TE1EtOH et CB-TEMeEtOH

Les complexes de de **cuivre(II)** et **zinc(II)** des ligands de la série n°3, N-fonctionnalisés par le groupement éthylènehydroxy, ont été caractérisés à l’aide des mêmes outils que les complexes précédents. Exceptées les études de stabilité thermodynamique (potentiométrie) réalisées par Wainwright et coll.^[175] pour les ligands **TE1EtOH** et **TE3MEEtOH**, il n’existe, à notre connaissance, aucune autre donnée sur les complexes métalliques de ces ligands.

2.4.a Structures cristallographiques par diffraction des rayons-X

La cristallisation des complexes du **TE1EtOH** par diffusion de vapeur acétonitrile/éther diéthylique a permis d’obtenir des monocristaux du $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$ de qualité suffisante pour une analyse par diffraction des rayons-X (Figure 129).

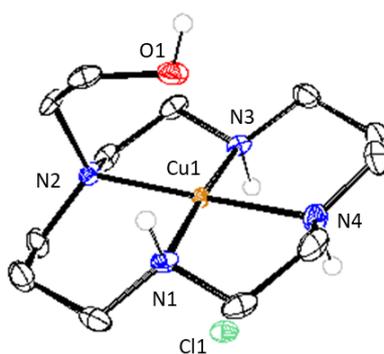


Figure 129. Structure cristallographique du complexe $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})\text{Cl}]\text{Cl}$ obtenue par DRX. Les ellipsoïdes sont tracés à 50% de probabilité. Les atomes d’hydrogène ont été omis pour plus de clarté, exceptés ceux portés par les atomes d’azote.

Cette structure cristallographique montre clairement le retour du bras éthylènehydroxy au-dessus du centre métallique. Le complexe $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})\text{Cl}]^+$ adopte une configuration *trans*-III où l’atome l’oxygène de la fonction alcool et un ion chlorure occupent les positions axiales. La taille des liaisons et des angles d’intérêt sont regroupés dans le Tableau 39.

Tableau 39. Longueurs des liaisons (Å) et tailles des angles (°) d'intérêt.

[Cu(TE1EtOH)Cl]			
Cu1–N1	2,030 (2)	N1–Cu1–N2	95,29 (9)
Cu1–N2	2,063 (2)	N2–Cu1–N3	86,80 (9)
Cu1–N3	2,022 (2)	N3–Cu1–N4	92,62 (10)
Cu1–N4	2,031 (2)	N4–Cu1–N1	85,37 (10)
Cu1–O1	2,435 (2)	Cl1–Cu1–O1	177,03 (5)
Cu1–Cl1	2,7680 (7)	N1–N2–N3–N4 ^a	3,7

^a angle dièdre entre les plans N1-N2-N3 et N2-N3-N4.

La liaison Cu1–N₂ (2,063) est plus longue que les trois autres, Cu1–N_{1,3,4} (2,030 ; 2,022 et 2,031), montrant que les amines secondaires coordinent plus fortement le cation métallique que l'amine tertiaire portant le groupement éthylènehydroxy. Comme attendu pour un complexe de cuivre octaédrique subissant un effet de Jahn-Teller, l'atome d'oxygène et l'ion chlorure occupent des positions axiales plus éloignées, Cu1–O1 = 2.435 Å et Cu1–Cl1 = 2.768 Å. Les quatre atomes d'azote forment un plan carré très légèrement déformé avec un angle dièdre N1–N2–N3–N4 de 3,7 °.

La cristallisation par diffusion de vapeur acétonitrile/éther diéthylique des deux complexes métalliques du TE3MeEtOH a conduit à l'obtention des structures cristallographiques des complexes [Cu(TE3MeEtOH)]⁺ et [Zn(TE3MeEtOH)]⁺ (Figure 130).

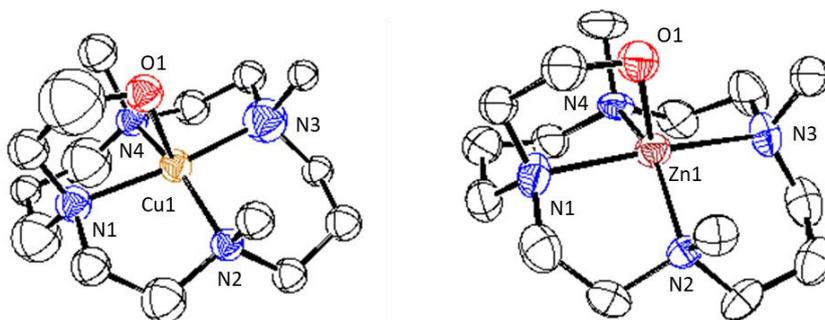


Figure 130. Structures cristallographiques des complexes [Cu(TE3MeEtOH)](ClO₄)₂ et [Zn(TE3MeEtOH)](ZnCl₄) obtenues par DRX. Les ellipsoïdes sont tracées à 50 % de probabilité. Les atomes d'hydrogène ont été omis pour plus de clarté.

Ces vues ORTEP montrent, à nouveau, un retour du bras éthylènehydroxy sur le cation métallique. Les deux complexes adoptent une configuration *trans-I*, de géométrie pyramidale

à base carrée déformée. La taille des liaisons et les angles d'intérêt sont regroupés dans le Tableau 40.

Tableau 40. Longueurs des liaisons (Å) et tailles des angles (°) d'intérêt.

	[Cu(TE3MeEtOH)](ClO4) ₂		[Zn(TE3MeEtOH)](ZnCl ₄)
Cu1–N1	2,08 (18)	Zn1–N1	2,098 (5)
Cu1–N2	2,05 (2)	Zn1–N2	2,098 (5)
Cu1–N3	1,98 (2)	Zn1–N3	2,164 (5)
Cu1–N4	2,031 (18)	Zn1–N4	2,137 (5)
Cu1–O1	2,218 (16)	Zn1–O1	2,083 (10)
N1–Cu1–N2	93,4 (6)	N1–Zn1–N2	86,0 (2)
N2–Cu1–N3	92,6 (7)	N2–Zn1–N3	93,1 (2)
N3–Cu1–N4	88,5 (7)	N3–Zn1–N4	85,8 (2)
N4–Cu1–N1	86,7 (6)	N4–Zn1–N1	91,9 (2)
N1–Cu1–O1	78,4 (6)	N1–Zn1–O1	80,2 (3)
N1–N2–N3–N4 ^a	17,0	N1–N2–N3–N4 ^a	19,6

^a angle de torsion entre les plans N1-N2-N3 et N2-N3-N4.

La liaison Cu1-O1 (2,218 Å), relativement proche de la taille des liaisons Cu1-N, indique que l'atome d'oxygène coordine fortement le cation, plus que dans le complexe précédent [Cu(TE1EtOH)]²⁺. Le même phénomène est observé dans le cas du zinc, la liaison Zn1-O1 (2,083 Å) est même plus courte que les liaisons Zn1-N. Les deux complexes présentent des angles dièdres similaires, 17,0 ° pour le [Cu(TE3MeEtOH)]²⁺ et 19,6 ° pour le [Zn(TE3MeEtOH)]²⁺. A titre de comparaison, les autres complexes *trans*-I étudiés précédemment présentaient des angles dièdres de 9,7 ° pour le [Cu(TMC-E)]²⁺ et de 16,9 ° pour le [Zn(TMC-E)]²⁺.

Aucun complexe métallique avec les ligands CB-TE1EtOH et CB-TEMeEtOH n'a pu être cristallisé jusqu'à présent, la forte hygroscopicité des composés a systématiquement conduit à la formation d'huile plutôt que de monocristaux.

2.4.b Analyses RMN des complexes [Zn(L)]Cl₂

Les quatre complexes de zinc(II) ont été caractérisés par RMN ¹H et ¹³C. De façon analogue aux complexes de zinc étudiés précédemment, nous nous attendions à observer plusieurs configurations en équilibre pour le [Zn(TE1EtOH)]Cl₂ (*trans*-I, *trans*-III et *cis*-V), une seule pour le [Zn(TE3MeEtOH)]Cl₂ (*trans*-I) et uniquement la *cis*-V pour le [Zn(CB-TE1EtOH)]Cl₂ et le [Zn(CB-TEMeEtOH)]Cl₂.

Le spectre RMN ^{13}C du $[\text{Zn}(\text{TE1EtOH})]\text{Cl}_2$, enregistré rapidement après la dissolution du complexe sous forme de poudre dans D_2O , a révélé la présence de deux espèces bien distinctes et d'une troisième en très faible quantité (**A** - Figure 131). Après plusieurs jours en solution, un second spectre a été enregistré et a montré la présence claire de trois espèces (**B** - Figure 131).

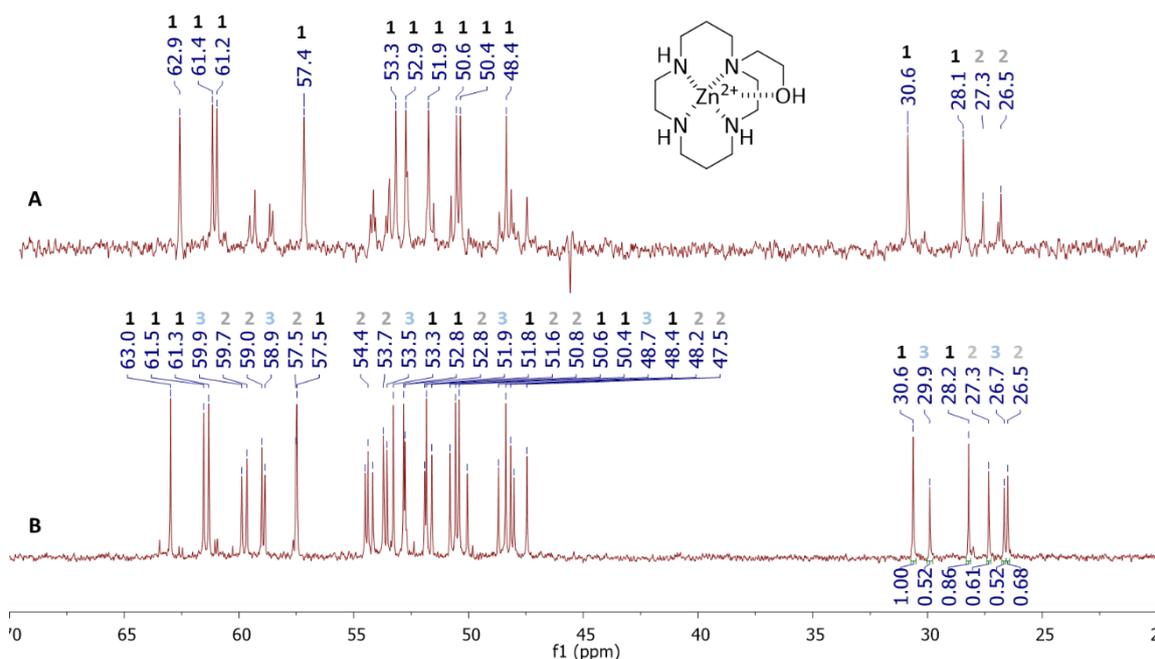


Figure 131. Spectres RMN ^{13}C Jmod du complexe $[\text{Zn}(\text{TE1EtOH})]\text{Cl}_2$. (**A**) (75 MHz, D_2O , 298 K) après dissolution et (**B**) (125 MHz, D_2O , 298 K) après plusieurs jours en solution.

Les différentes configurations n'ont pas pu être identifiées en raison de l'absence de signaux caractéristiques pour les distinguer. Néanmoins, le ratio de chacun des isomères **1**, **2** et **3** a été estimé sur la base de l'intégration des signaux des atomes de carbone $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$ et sont d'environ 44 %, 31 % et 25 %. La *N*-fonctionnalisation éthylènehydroxy conduit donc à un équilibre où chacune des configurations, *trans*-I, *trans*-III et *cis*-V est relativement stable. Des calculs de DFT devraient être réalisés afin de déterminer l'énergie libre de chacune des configurations, en espérant que l'écart entre les valeurs soit suffisamment important pour pouvoir les différencier.

L'analyse RMN ^{13}C du $[\text{Zn}(\text{TE3MeEtOH})]\text{Cl}_2$ semble montrer la présence d'une seule espèce en solution (Figure 132). Au regard des données de la littérature et de celles recueillies sur les autres dérivés de ce projet, les complexes de zinc(II) des cyclams tétra-*N*-alkylés n'adoptent que la configuration *trans*-I en raison de l'effet stérique des groupements *N*-fonctionnels.

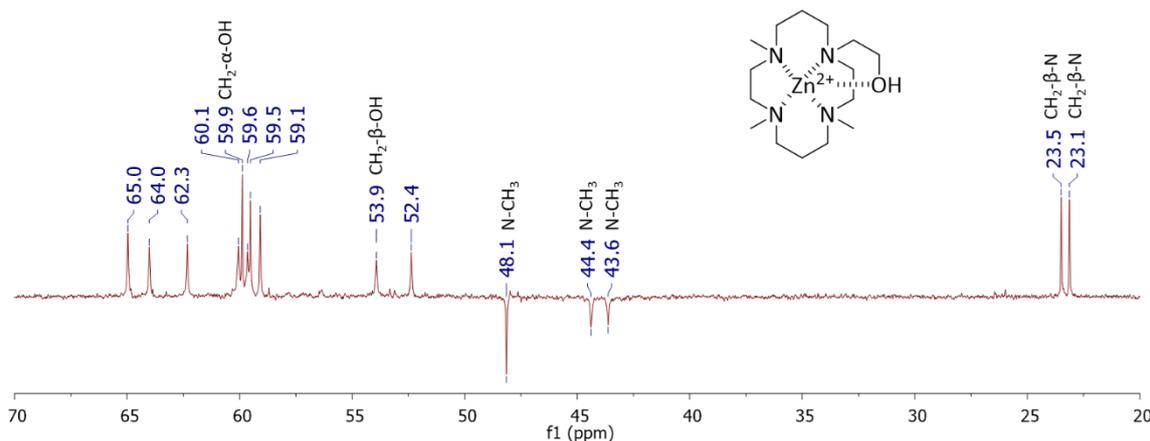


Figure 132. Spectre RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) du complexe $[\text{Zn}(\text{TE3MeEtOH})]\text{Cl}_2$.

Ce spectre présente des signaux relativement mal résolus et faibles en intensité pour les pics correspondant aux atomes de carbone CH_2 - α -N et pour deux des groupements méthyles (44,4 ppm et 43,6 ppm). Au cours de ce projet, ce phénomène a également été rencontré lors de l'analyse RMN dans D_2O des complexes $[\text{Zn}(\text{TMC})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$, composés tétra-*N*-méthylés adoptant une configuration *trans*-I. Ces observations suggèrent que la configuration observée ici est bien la *trans*-I attendue et observé par diffraction des rayons-X (Figure 130).

Contrairement à ce qui été attendu, le spectre RMN ^{13}C du complexe renforcé $\text{Zn}(\text{CB-TEMeEtOH})\text{Cl}_2$ a montré la présence de deux espèces (spectre en bleu - Figure 133). La première (**O**), majoritaire, semble correspondre au produit souhaité et la seconde (**X**), présente 5 signaux dans la zone correspondant aux atomes de carbone CH_2 - α -N et un seul dans celle des atomes de carbone CH_2 - β -N.

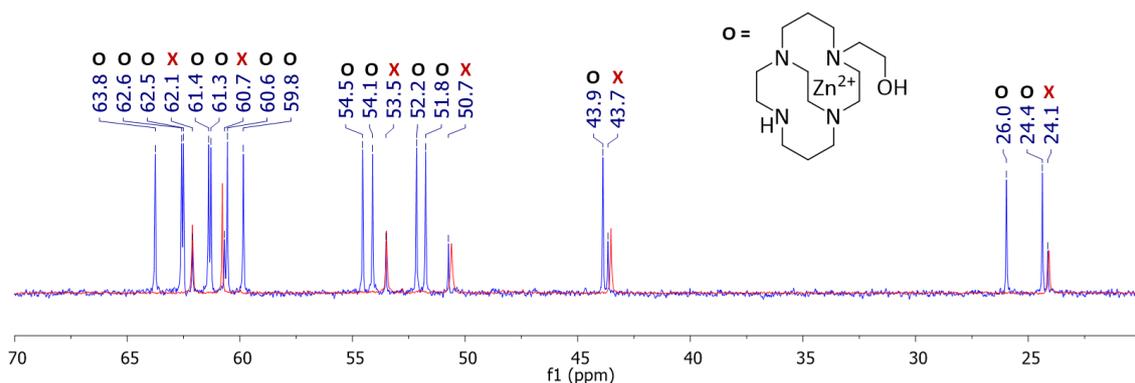


Figure 133. Spectres RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) (bleu) du $[\text{Zn}(\text{CB-TE1EtOH})]\text{Cl}_2$ et (rouge) du $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})]\text{Cl}_2$.

Le spectre de l'échantillon de $[\text{Zn}(\text{CB-TE1EtOH})]\text{Cl}_2$ (en bleu) a été superposé à celui de $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})]\text{Cl}_2$ (en rouge), la série minoritaire semble bien correspondre à ce composé. Ce résultat est surprenant, l'analyse RMN ^{13}C de l'échantillon de ligand **CB-TE1EtOH** utilisé pour la complexation du zinc(II) ne présentant aucune impureté. De nouveaux essais de complexation seront réalisés afin de vérifier s'il s'agit d'une dégradation, inattendue et inexplicée, ou s'il s'agit d'une contamination accidentelle du ligand. Le mélange des deux espèces représentant 50 mg, quantité conséquente au regard de la difficulté de synthèse du ligand, une purification par chromatographie flash sur colonne de C18 (phase inverse) est envisagée pour tenter d'isoler le $[\text{Zn}(\text{CB-TE1EtOH})]\text{Cl}_2$.

Enfin, les analyses RMN du complexe $[\text{Zn}(\text{CB-TEMeEtOH})]\text{Cl}_2$ ont confirmé la présence d'une seule espèce (Figure 134).

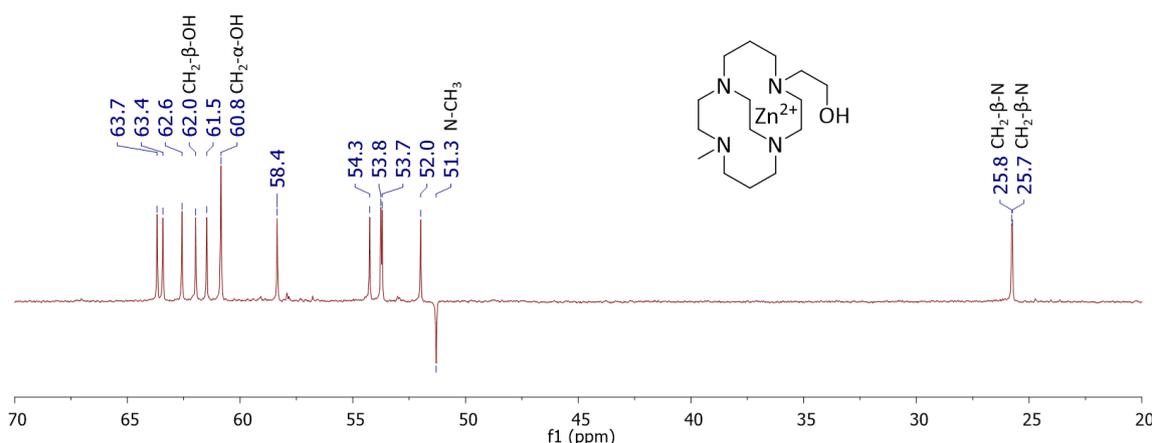


Figure 134. Spectre RMN ^{13}C Jmod (125 MHz, D_2O , 298 K) du complexe $[\text{Zn}(\text{CB-TEMeEtOH})]\text{Cl}_2$.

Le signal correspondant au groupement méthyle présente un déplacement chimique très déblindé ($\delta = 51,3$ ppm), caractéristique des complexes de configuration *cis-V*.

2.4.c Analyses de RPE et UV-visible des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$

Les spectres de RPE des complexes $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$ ont été enregistrés à une concentration de 20 mM en solution gelée eau/DMF (1 :1) à une température de 150 K (Figure 135).

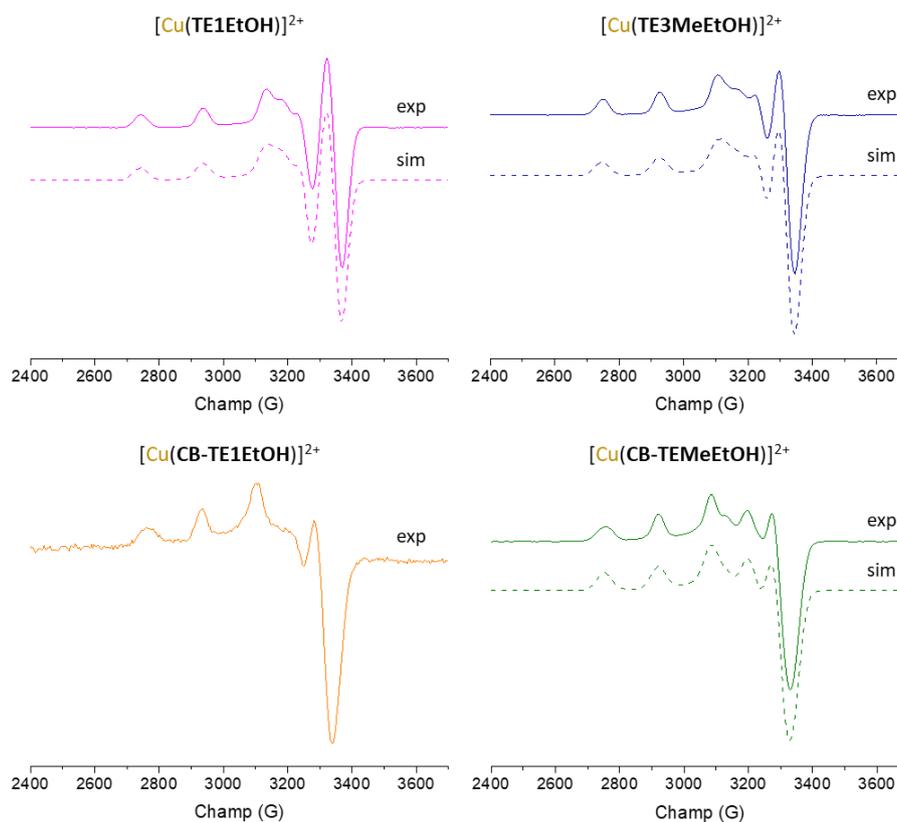


Figure 135. Spectres RPE en bande-X ($\nu = 9,31$ GHz) expérimentaux (ligne pleines) et simulés (lignes pointillées) des complexes $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$ à 20 mM dans une solution $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (1/1) gelée à 150 K.

Les simulations de ces spectres ont été réalisées par nos soins à l'aide des programmes Easypin^[255] et Simultispin^[256] et sont cohérentes avec les résultats obtenus par notre collaboratrice le Pr. R. Delgado pour les composés précédemment étudiés. Les paramètres RPE de chaque système, exceptés ceux du $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$ dont la simulation est encore en cours, sont regroupés dans le Tableau 41 ci-dessous.

Tableau 41. Paramètres RPE g et A (10^{-4} cm^{-1}) des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ présentés Figure 135.

complexes	espèce	g_z	g_y	g_x	A_z	A_y	A_x
$[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$	A	2,191	2,037	2,045	198,1	17,7	34,0
$[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$	A	2,205	2,037	2,054	183,8	0,0	41,5
$[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$	-	-	-	-	-	-	-
$[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$	A	2,208	2,049	2,049	171,8	0	0
$[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$	B	2,031	2,084	2,214	37,7	56,4	174,3

Les paramètres rapportés dans ce tableau sont comparables à ceux des complexes étudiés précédemment. Le $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$ et le $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$ présentent des systèmes rhombiques caractéristiques d'une géométrie octaédrique et pyramidale à base carrée déformée avec $g_z \gg g_y, g_x$. L'ajout des groupements méthyle conduit à une augmentation de la valeur de g_z et une diminution de celle de A_z , indiquant une diminution de la force du champ de coordination planaire (atomes d'azote). Le dérivé renforcé $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$ présente, quant à lui, deux espèces, notées **A** et **B**, équivalentes à celles observées pour les dérivés renforcés étudiés précédemment. L'espèce **A** correspond à un complexe de géométrie octaédrique ou pyramidale à base carrée et l'espèce **B**, avec des paramètres inversés, correspond à un complexe de géométrie octaédrique compressée ou pyramidale à base triangulaire. Le spectre RPE du complexe $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$, dont la simulation est en cours, semble ne présenter qu'une seule espèce pour laquelle les paramètres devraient correspondre à une géométrie octaédrique déformée ou pyramidale à base carrée (espèce **A**).

Les spectres UV-Visibles de ces trois complexes ont été enregistrés à 6 mM dans l'eau ultra pure à 25 °C (Figure 136). Les longueurs d'ondes maximales d'absorption et les coefficients d'extinction molaire sont regroupés dans le Tableau 42.

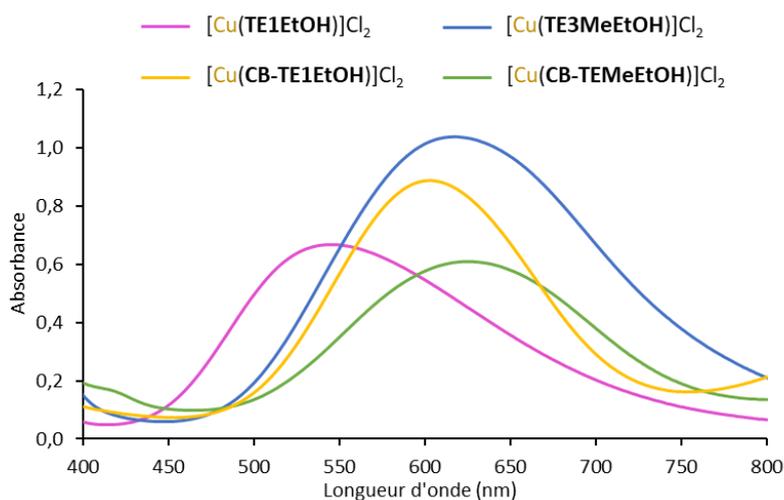


Figure 136. Spectres UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]\text{Cl}_2$, $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]\text{Cl}_2$ à 6mM dans H_2O ultra pure à 25 °C.

Tableau 42. Longueurs d'onde d'absorbance maximale (nm) et coefficients d'extinction molaire ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]\text{Cl}_2$ présentés Figure 136.

	$[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]\text{Cl}_2$	$[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]\text{Cl}_2$	$[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]\text{Cl}_2$	$[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]\text{Cl}_2$
λ_{max}	545	616	603	626
ϵ	111	173	148	101

Les complexes $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]\text{Cl}_2$ et $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]\text{Cl}_2$ ont des longueurs d'ondes maximales d'absorption de 545 et 616 nm, qui correspondent respectivement à une géométrie octaédrique déformée et pyramidale à base carrée, comme celles observées sur les structures cristallographiques et en RPE. Le $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]\text{Cl}_2$ et le $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]\text{Cl}_2$ présentent, quant à eux, des longueurs d'ondes maximales d'absorption à 603 nm et 626 nm, pouvant correspondre à une géométrie pyramidale à base carrée ou bipyramidale à base triangulaire. Une nouvelle fois, un spectre Vis-NIR serait nécessaire pour savoir laquelle de ces deux géométries est présente en solution.^[212,254]

2.4.d Etude du comportement en milieu acide des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$

L'inertie cinétique des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ en milieu acide a été mesurée afin de déterminer l'effet de la *N*-fonctionnalisation éthylènehydroxy puis ceux de la méthylation et du renforcement par un pont éthylène "cross-bridged" en présence de ce groupement. Les complexes $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$ ont été étudiés dans une solution d'HCl 3 M à 25 °C, conditions qui ont été suffisantes pour observer leur dissociation totale. Les

complexes renforcés $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-TE3MeEtOH})]^{2+}$ ont, quant à eux, été étudiés dans une solution d'HCl 5 M à 70 °C, comme les autres dérivés "cross-bridged" de ce projet (Figure 137).

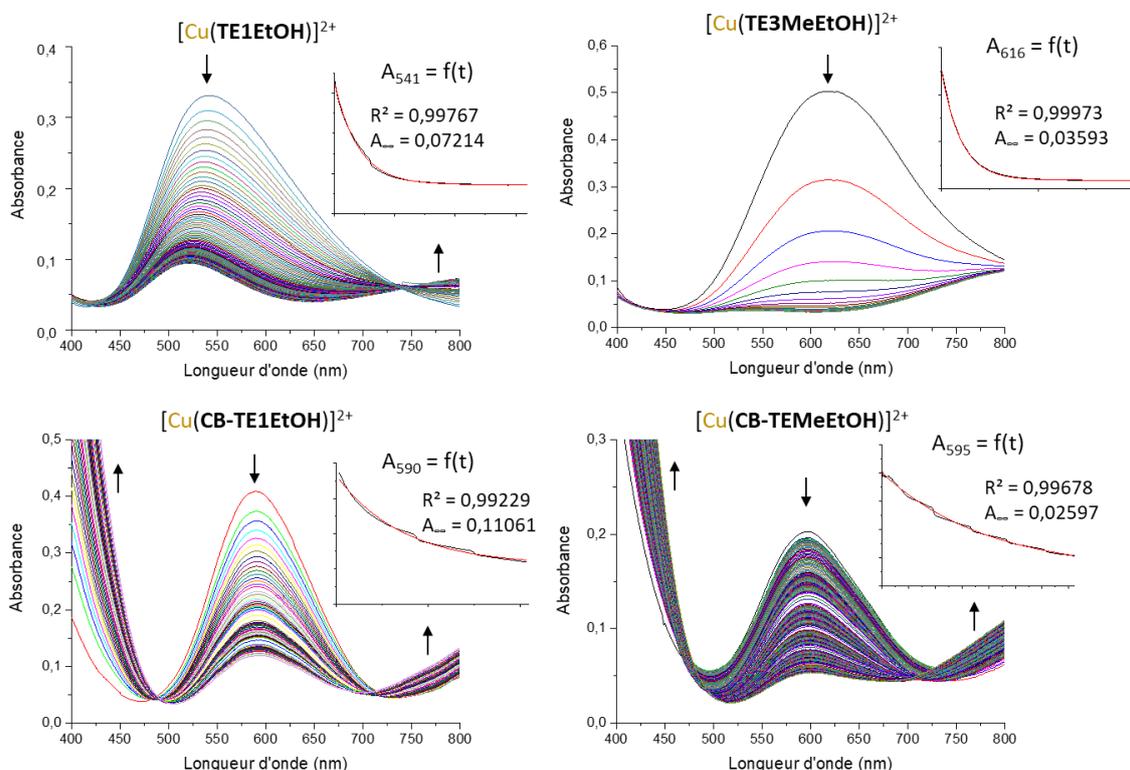


Figure 137. Spectres UV-Visible des complexes $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$ à 3 mM dans HCl 3 M à 25°C et $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{CB-TE3MeEtOH})]^{2+}$ à 3 mM dans HCl 5 M à 70°C. Les flèches noires indiquent l'évolution de l'absorbance au cours du temps. La courbe exponentielle correspond à la superposition expérimentale/modélisation de la fonction $A_{\lambda_{\max}} = f(t)$ réalisée sur OriginPro9. Le paramètre R^2 correspond au paramètre d'ajustement et A_{∞} à l'asymptote de la fonction exponentielle modélisée.

Les courbes expérimentales obtenues ont permis de tracer l'absorbance λ_{\max} en fonction du temps, qui a ensuite été modélisée par une fonction exponentielle décroissante avec un paramètre d'ajustement (R^2) supérieur à 0,99. Les paramètres du modèle exponentiel ont donné accès au temps de demi-vie ($t_{1/2}$) de chacun des composés ainsi qu'à la constante de dissociation (k_d) dont les valeurs sont regroupées dans le Tableau 43.

Tableau 43. Constantes de dissociation k_d (10^{-3} min^{-1}) et temps de demi-vie ($t_{1/2}$, min) calculés des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ dans un milieu HCl 3 M à 25 °C ou HCl 5 M à 70 °C.

	HCl 3 M, 25°C		HCl 5 M, 70 °C		
	$t_{1/2}$ (min)	k_d (10^{-3} min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	k_d (10^{-3} min^{-1})	
$[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$	138	5,04	$[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$	501	1,38
$[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$	14	49,51	$[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$	1356	0,51

Le $[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$ présente un temps de demi-vie de 138 min dans HCl 3 M à 25 °C. Pour rappel, les complexes de cuivre du **cyclam**, **cyclam-E**, **DMC** et **DMC-E** ont nécessité des conditions plus drastiques pour être dissociés (50 °C). Ainsi, l'ajout d'un groupement *N*-éthylènehydroxy conduit à un complexe de cuivre avec une inertie cinétique plus faible, cela malgré l'ajout d'un atome coordinant. Néanmoins cette valeur reste relativement bonne si on la compare à celle du complexe de cuivre avec le cyclam monofonctionnalisé par un groupement picolinate $[\text{Cu}(\text{HTE1PA})]^+$, lui aussi pentadentate et développé dans notre laboratoire, qui présente un temps de demi-vie de 32 min dans HCl 1 M à 25 °C.^[254]

Le complexe $[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$ présente, quant à lui, un temps de demi-vie de 14 min, supérieur aux complexes de cuivre des dérivés tétraméthyles (**TMC** et **TMC-E**) de configuration *trans-l*, qui se dissocient presque instantanément dans les mêmes conditions. Ainsi la méthylation conduit à une diminution de l'inertie cinétique mais la présence de la fonction *N*-éthylènehydroxy permet cette fois d'améliorer l'inertie cinétique par rapport aux dérivés tétraméthylés.

Enfin, les complexes renforcés $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$ et $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$ ont montré des temps de demi-vie supérieurs à ceux des complexes de cuivre des dérivés "cross-bridged" étudiés précédemment (≈ 135 min). Le groupement éthylènehydroxy *N*-fonctionnel permet donc d'améliorer l'inertie cinétique des dérivés renforcés grâce à un atome d'oxygène coordinant supplémentaire. Le composé $[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$ présente un temps de demi-vie extrêmement élevé, largement supérieur à celui du $[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$. La méthylation de la dernière amine du macrocycle conduit à une augmentation très significative de l'inertie cinétique.

2.5 Etude des complexes de cobalt

L'étude des complexes de cobalt devait être réalisée de façon analogue à celles des complexes de cuivre et de zinc. Cependant, le cobalt, sensible à l'oxydation, peut conduire à la formation de complexes aux degrés d'oxydation II ou III mais également à de nombreux adduits oxygénés mono ou polynucléaires. La caractérisation de ces complexes a nécessité d'adapter les protocoles expérimentaux habituellement utilisés au sein de notre laboratoire.

L'analyse électrochimique des complexes de cobalt des dérivés **cyclam**, **cyclam-E**, **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E** ont clairement montré la diversité du degré d'oxydation de ce cation métallique. Les complexes utilisés ont été synthétisés dans l'eau distillée sans précaution particulière à partir du chlorure de cobalt(II). Les complexes formés avec le **cyclam** et le **cyclam-E** ont été spontanément obtenus sous la forme **cobalt(III)**, $[\text{Co}(\text{cyclam})]^{3+}$ et $[\text{Co}(\text{cyclam-E})]^{3+}$. Tandis que les complexes du **TMC** et du **TMC-E** sont stables sous la forme **cobalt(II)**, $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{TMC-E})]^{2+}$. Ainsi, il a été possible d'observer la réduction du Co^{3+} en Co^{2+} dans le premier cas et l'oxydation du Co^{2+} en Co^{3+} dans l'autre (Figure 138).

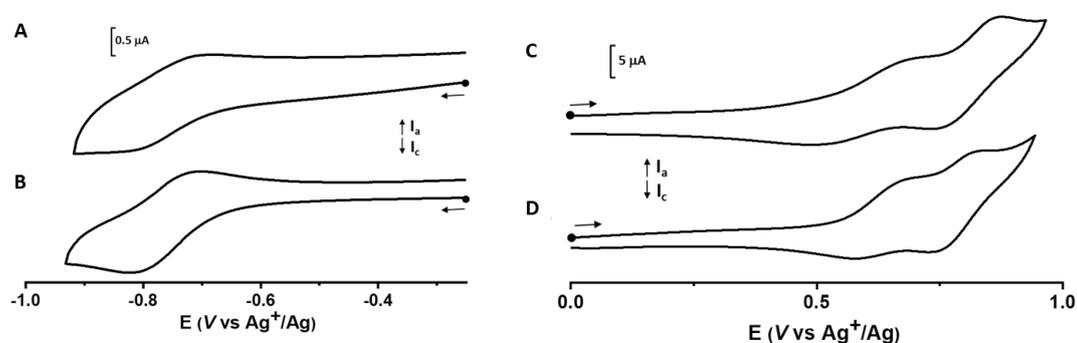
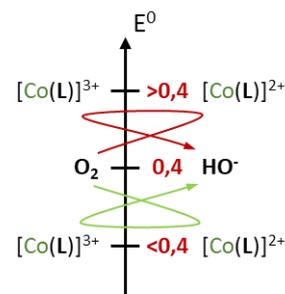


Figure 138. Cyclovoltammogrammes de : (A) $[\text{Co}(\text{cyclam})]^{3+}$ (B) $[\text{Co}(\text{cyclam-E})]^{3+}$, (C) $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$, (D) $[\text{Co}(\text{TMC-E})]^{2+}$. (A)/(B) dans DMF + TBACl (0,1 M) à $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ et (C)/(D) dans CH_3CN + TBAPF₆ (0,1 M) à $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$.

Les cyclovoltammogrammes des complexes $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{TMC-E})]^{2+}$ (C et D) présentent deux réactions successives, la première correspond à l'oxydation des ions chlorure et la seconde à l'oxydation du Co^{2+} . Les valeurs de $E_{1/2}$ et de ΔE_p de chaque système sont regroupées dans le Tableau 44.

Tableau 44. Potentiels $E_{1/2}$ (V) et ΔE_p (mV) mesurés pour les complexes de cobalt étudiés.

	$[\text{Co(L)}]^{3+} + e^- \longrightarrow [\text{Co(L)}]^{2+}$	$[\text{Co(L)}]^{2+} - e^- \longrightarrow [\text{Co(L)}]^{3+}$
	$E_{1/2}$ (V) [ΔE_p] (mV)	$E_{1/2}$ (V) [ΔE_p] (mV)
$[\text{Co}(\text{cyclam})]^{3+}$	-0,75 [100]	-
$[\text{Co}(\text{cyclam-E})]^{3+}$	-0,76 [100]	-
$[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$	-	0,80 [130]
$[\text{Co}(\text{TMC-E})]^{2+}$	-	0,78 [80]



Les potentiels $E_{1/2}$ relativement bas mesurés pour les complexes $[\text{Co}(\text{cyclam})]^{3+}$ et $[\text{Co}(\text{cyclam-E})]^{3+}$ expliquent l'oxydation spontanée à l'air ayant eu lieu. Les complexes $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{TMC-E})]^{2+}$ présentent, quant à eux, des potentiels $E_{1/2}$ élevés qui justifient leur stabilité sous forme de cobalt(II). Les quatre systèmes sont quasi-réversibles (ΔE_p proches de 60 mV), aucune dissociation et aucun changement de configuration n'a été observé.

Les composés $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{DMC-E})]^{2+}$ ont donné des cyclovoltammogrammes avec une très mauvaise résolution, probablement en raison de la présence d'adduits oxygénés qui suggèrent que les complexes obtenus sont sous la forme Co^{3+} dans les conditions utilisées.

Les études de potentiométrie des complexes de cobalt se sont révélées compliquées en raison d'un problème de reproductibilité rencontré au-dessus de $\text{pH} = 7$, lors de la formation d'espèces hydroxo. A pH basique, des espèces oxygénées sont susceptibles de se former malgré la réalisation des expériences sous flux d'azote. L'oxydation lente (quantité d'oxygène faible) des complexes de cobalt(II) les moins stables explique probablement les variations observées. Des modélisations relativement bonnes ont tout de même été réalisées à partir des données expérimentales pour les complexes $[\text{Co}(\text{cyclam-E})]^{2+}$, $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{TMC-E})]^{2+}$. Les expériences nécessitent encore une optimisation des conditions expérimentales afin d'obtenir une meilleure répétabilité.

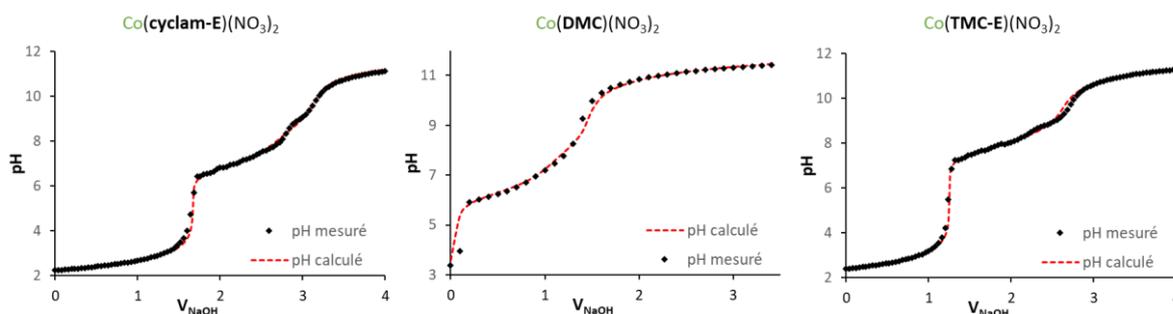


Figure 139. Courbes de titrage potentiométrique (points noirs) par une solution de KOH (0,1 M) et courbes de simulation HyperQuad (pointillés rouge). Conditions : [ligand] = 2 mM ; [Co(NO₃)₂] = 2 mM ; 25 °C ; I = 0,10 M KNO₃.

Ces données ont permis de calculer des valeurs approximatives des constantes de stabilité thermodynamique $\log \beta_{\text{CoL}}$ et des constantes de formation des complexes métal-hydroxo $\log K_{\text{Co(L)(OH)}_x}$, regroupées dans la Tableau 45.

Tableau 45. Constantes de stabilité thermodynamique ($\log \beta_{\text{mlh}}$), constantes de réaction ($\log K_{\text{mlh}}$) et valeurs de $p\text{Co}$ des complexes de cobalt étudiés.

L =	$\log \beta_{\text{mlh}} / \log K_{\text{mlh}}$					
	cyc ^a	cyc-E*	DMC*	DMC-E	TMC ^b	TMC-E*
$\text{Co} + \text{L} \rightleftharpoons \text{CoL}$	12,7	10,4 (1)	10,0 (1)	-	7,6	6,2 (1)
$\text{CoL(OH)} + \text{H} \rightleftharpoons \text{CoL} + \text{H}_2\text{O}$	n.d.	1,8 (1) 8,6	2,0 (1) 8,0	-	-0,6 8,2	-2,3 (1) 8,5
$\text{CoL(OH)}_2 + \text{H} \rightleftharpoons \text{CoL(OH)} + \text{H}_2\text{O}$	n.d.	-9,8 (1) 11,6	-9,0 (1) 11,0	-	n.d.	-13,3 (1) 11,0
$p\text{Co}$	7,0	6,0	6,4	-	6,1	6,0

* Ces travaux, $C_L = C_{\text{Co}} = 2 \text{ mM}$, $I = 0,1 \text{ M KNO}_3$, 25 °C. La charge des complexes a été omise pour plus de clarté, la valeur entre parenthèse est l'incertitude sur la mesure. ^a référence [241] et ^b référence [140].

Les constantes de stabilité thermodynamique calculées suivent la tendance décrite pour les dérivés de cyclam : $\log \beta_{\text{CuL}} > \log \beta_{\text{ZnL}} > \log \beta_{\text{CoL}}$.

L'ajout des groupements méthyle et la présence de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy conduisent à une diminution des constantes de stabilité thermodynamique et de l'affinité métal-ligand ($p\text{Co}$). Cependant, les valeurs de $p\text{Co}$ comprises entre 6 et 7 pour l'ensemble des ligands étudiés sont très rapprochées.

Les espèces $[\text{Co}(\text{L})(\text{OH})]^+$ et $[\text{Co}(\text{L})(\text{OH})_2]$ ont été observées et les constantes de formation des complexes métal-hydroxo ($\log K_{\text{Co}(\text{L})(\text{OH})}$) calculées sont comprises entre 8,0 et 8,6. Le complexe $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ présente la constante la plus basse, $\log K_{\text{CoDMC}(\text{OH})} = 8,0$. Cette valeur pourrait être particulièrement intéressante pour l'application biologique ciblée qui vise l'hydrolyse des peptides amyloïde- β en milieu biologique. Les diagrammes de répartition des espèces en fonction du pH ont été tracés à partir des constantes calculées (Figure 140).

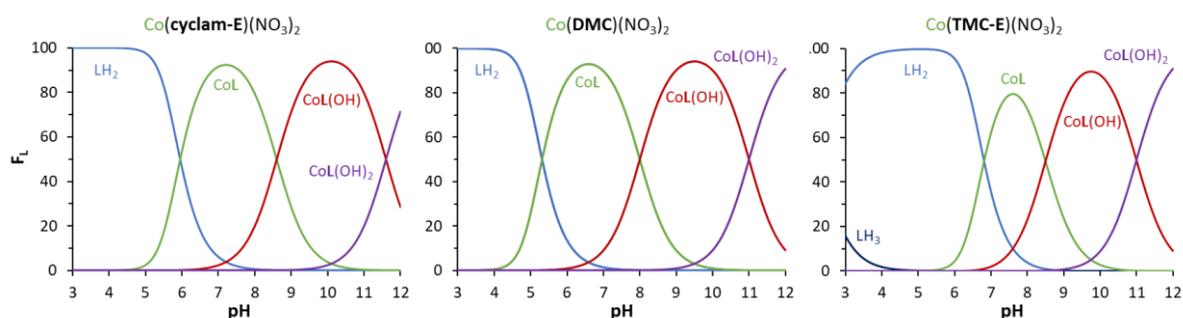


Figure 140. Diagrammes de répartition des espèces en fonction du pH pour le **cyclam-E**, le **DMC** et le **TMC-E** en présence de cobalt. Les courbes sont tracées à partir des valeurs obtenues par potentiométrie à une concentration $C_L = C_{\text{Co}} = 2 \text{ mM}$, F_L = fraction de ligand.

Ces courbes montrent la formation de complexes métal-hydroxo $[\text{Co}(\text{L})(\text{OH})]^+$ dès $\text{pH} = 7$. A pH physiologique (7,4) cette espèce représente 20 % pour le **DMC** contre 6 % et 7 % pour le **cyclam-E** et le **TMC-E**.

Conclusion du chapitre III

En nous appuyant sur une étude bibliographique des propriétés de coordination des macrocycles azotés, nous avons démontré que le cyclam et ses dérivés méthylés s'imposent comme des ligands de choix pour la complexation du cuivre(II) et du zinc(II). Ces ligands et leurs analogues porteurs d'une fonction éthylènehydroxy, présentent un fort potentiel pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et ont donc été au centre de notre étude rétrospective.

Au cours de ce projet, les complexes de cuivre(II) et de zinc(II) formés avec les trois séries de ligands précédemment synthétisés ont été caractérisés. L'objectif était de déterminer l'effet des différentes variations structurales sur les propriétés de coordination des ligands en vue de l'application biologique ciblée. La méthylation des atomes d'azote, le renforcement avec un pont éthylène "cross-bridged", la présence d'une C-fonctionnalisation éthylènehydroxy et enfin l'ajout d'un groupement éthylènehydroxy en position N-fonctionnelle ont ainsi été évalués.

Au-delà du développement de ces ligands pour l'application biologique, ce travail nous a permis de caractériser de façon exhaustive la famille des ligands cyclam-méthylés et de compléter les données de la littérature pour aboutir à une base de donnée complète, même si l'étude des composés N-éthylènehydroxy reste à finaliser.

Les analyses de RMN des complexes de $[Zn(L)]Cl_2$ ont permis d'identifier une ou plusieurs configurations (*trans-I*, *trans-III*, *cis-V*) en fonction de la nature des ligands. Le $[Zn(\text{cyclam})]Cl_2$ présente une configuration majoritaire *trans-III*. L'ajout de groupements méthyle influence de façon importante la stabilité de ces différents isomères. Ainsi, La diméthylation conduit à une stabilisation des configurations *trans-I* et *cis-V* et la tétraméthylation conduit à la formation d'un seul isomère, *trans-I*. La présence de la C-fonctionnalisation n'influence que légèrement la stabilité, conduisant à une augmentation de la proportion de configuration *cis-V*. Le pont éthylène "cross-bridged" impose la formation d'un complexe de configuration *cis-V*, néanmoins, l'association de celui-ci à un ligand C-fonctionnalisé conduit à la formation de deux diastéréoisomères, *syn* et *anti*, définis par la position de la chaîne C-fonctionnelle par rapport au pont éthylène. La N-fonctionnalisation avec un groupement éthylènehydroxy mène à des résultats similaires à ceux des dérivés

méthylés, le composé monoalkylé adopte les trois configurations (*trans-I*, *trans-III*, *cis-V*), le composé tétralkylé forment uniquement l'isomère *trans-I* et les ligands renforcés le *cis-V*.

Les analyses de RPE et UV-visible des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ ont permis de déterminer leur géométrie. Ainsi, il a été possible de démontrer que l'ajout de la C-fonctionnalisation entraîne une légère déformation structurale mais ne modifie pas de façon significative la géométrie des complexes. De plus, l'étude des complexes des ligands renforcés par un pont éthylène "cross-bridged" a conduit à l'identification de deux géométries différentes en fonction de l'espèce complétant la sphère de coordination du cation métallique, pyramidale à base carrée dans le cas d'un ion chlorure ou bipyramidale à base triangulaire avec une molécule d'eau.

Les résultats de ces études structurales ont été confortées par l'obtention de plusieurs structures cristallographiques ainsi que par des calculs de DFT (énergie libre des systèmes, prédiction des déplacements chimiques en RMN ^{13}C et des paramètres de RPE).

Les études de potentiométrie ont permis de mesurer les constantes de stabilité thermodynamique des complexes des dérivés **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E** avec le Cu^{2+} et le Zn^{2+} . Quel que ce soit le cation métallique étudié, la méthylation a pour effet de diminuer l'affinité métal-ligand (pM), **cyclam** > **DMC** > **TMC** et **cyclam-E** > **DMC-E** \approx **TMC-E**. La C-fonctionnalisation éthylènehydroxy conduit, tout au moins dans le cas de ces dérivés méthylés, à une diminution du potentiel métal : **cyclam** > **cyclam-E**, **DMC** > **DMC-E** et **TMC** > **TMC-E**. La formation des complexes métal-hydroxo $[\text{M}(\text{L})(\text{OH})]^+$, d'un grand intérêt pour l'application biologique ciblée, a été observée au cours de nos expériences. Avec le Cu^{2+} , la constante de formation de ces espèces est très élevée, $\log K_{\text{Cu}(\text{L})(\text{OH})} > 10,5$ tandis qu'avec le Zn^{2+} , la constante de formation $\log K_{\text{Zn}(\text{L})(\text{OH})}$ se situe entre 8 et 9. Les complexes de cuivre ne présentent ainsi pas un grand intérêt pour l'hydrolyse peptidique recherchée, néanmoins, l'ensemble des ligands possède un pCu nettement supérieur au pZn, ils ont donc un excellent potentiel comme agents séquestrants du Cu^{2+} .

L'étude de l'inertie cinétique des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ en milieu acide nous a conduit à des observations intéressantes. La méthylation des amines a pour effet de diminuer le temps de demi vie des complexes, **cyclam** > **DMC** >> **TMC**_{*trans-I*} et **cyclam-E** > **DMC-E** >> **TMC-E**_{*trans-I*}. Cette observation est également valable pour les complexes pentacoordinés, **TE1EtOH** >

TE3MeEtOH. Bien que les complexes du **TMC** et du **TMC-E** de configuration *trans-I* se dissocient rapidement, ceux de configuration *trans-III* ont montré des temps de demi-vie très élevés, jusqu'ici jamais rapportés. La présence de la C-fonctionnalisation conduit, quant à elle, à un ralentissement du processus de décooordination des fonctions amine et donc une augmentation significative de l'inertie cinétique : **cyclam-E** > **cyclam**, **DMC-E** > **DMC** et **TMC-E** > **TMC**. Les complexes des dérivés "cross-bridged" du cyclam et du cyclam-E présentent tous une inertie cinétique élevée du même ordre de grandeur. La méthylation et la C-fonctionnalisation n'ont pas d'effet significatif, du moins pas visible, comparé à l'apport du pont éthylène. Les complexes formés avec les ligands N-fonctionnels renforcés **CB-TE1EtOH** et **CB-TEMeEtOH**, ont montré de façon très surprenante, une inertie cinétique nettement supérieure aux autres dérivés "cross-bridged" de ce projet. Tous les complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ étudiés présentent une meilleure inertie cinétique que le $[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$, dont l'activité biologique a déjà été prouvée sans qu'un problème de dissociation n'ai été évoqué. Par conséquent, l'inertie cinétique des complexes des trois séries de ligands devrait être satisfaisante pour l'application biologique envisagée.

Enfin, une courte partie a été dédiée aux premières analyses des complexes de cobalt. La forte oxophilie de cet élément chimique le rend difficile à étudier mais les résultats obtenus sont encourageants et confirment notre intérêt pour ces complexes métalliques. Les constantes de formation des complexes cobalt-hydroxo, $\log K_{\text{Co}(\text{L})(\text{OH})}$, mesurées par potentiométrie, sont les plus basses de celles recueillies au cours de ces travaux. La valeur obtenue pour le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ ($\log K_{\text{CoDMC}\text{OH}} = 8,0$) est très légèrement inférieure celle rapportée pour le $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ ($\log K_{\text{CoTMC}\text{OH}} = 8,2$), composé de référence dans ce projet de thèse. La caractérisation des complexes de Co^{2+} et Co^{3+} sera poursuivie par notre équipe au laboratoire et par celle du Pr. Lim en Corée du Sud.

CHAPITRE IV : Résultats Biologiques

Les trois séries de ligands synthétisées et leurs complexes métalliques font actuellement l'objet d'études en milieu biologique au sein du laboratoire de nos collaborateurs en Corée du Sud. Les résultats présentés dans ce chapitre ont ainsi été obtenus avec l'équipe du Pr. M. H. Lim, au Korean Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), à Daejeon. J'ai eu l'opportunité de me familiariser avec les techniques de biologie utilisées et participer de manière active à l'acquisition des données grâce à une subvention de mobilité, octroyée par l'Ecole Doctorale « Molécule, Matière et Matériaux » (ED3M) pour une période de recherche de deux mois au sein du laboratoire coréen (Octobre et Novembre 2018).

Les composés ont été étudiés selon deux stratégies visant, d'une part, à évaluer l'influence des ligands libres (L) sur les complexes A β -Cu et A β -Zn (thérapie par chélation) et, d'autre part, à étudier l'effet des complexes Co(L) sur les peptides A β . Les ligands des séries 1 et 2, dérivés du **cyclam** et du **cyclam-E** ont d'ores et déjà été étudiés selon la première stratégie. Cependant, l'étude des ligands de la série 3, composée des dérivés *N*-éthylènehydroxy ne sera effectuée que de façon postérieure à l'écriture de ce manuscrit (en raison des conditions sanitaires liées à la pandémie de COVID-19 qui ont empêché un second déplacement au sein du laboratoire partenaire). Concernant la seconde stratégie, les complexes de cobalt doivent être préalablement synthétisés et totalement caractérisés. Il s'agit d'un travail compliqué, comme nous l'avons vu lors des premières études de chimie de coordination réalisées au laboratoire en raison de la variabilité du cobalt lorsqu'il forme un complexe dont la sphère de coordination n'est pas complète. A l'heure actuelle et pour ces raisons, seuls les tests biologiques *in vitro* des complexes [Co(DMC)]²⁺ et [Co(CB-DMC)]²⁺ ont débuté ; les résultats préliminaires obtenus seront présentés dans la deuxième partie de ce chapitre.

1. Chélation du Zn^{2+} et du Cu^{2+} dans l'A β -M par les ligands dérivés de cyclam et de cyclam-EtOH

Le ions **cuivre(II)** et **zinc(II)** présents dans l'A β sont responsables de l'agrégation rapide des peptides et de la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans le cas du cuivre. L'idée de la première stratégie est donc d'étudier le potentiel des ligands libres pour le piégeage de ces métaux et d'analyser l'effet sur l'agrégation et la toxicité des peptides (Schéma 74).

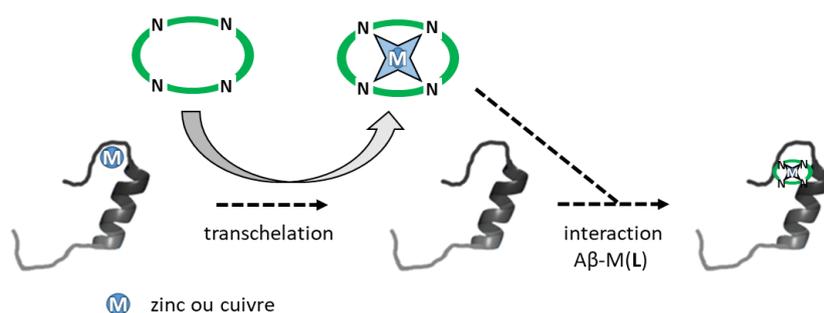


Schéma 74. Stratégie d'étude de l'activité des ligands libres vis-à-vis de l'A β -M(II).

Les analyses ont été réalisées sur l'A β_{42} , peptide reconnu comme le plus toxique dans le développement de la MA. L'activité des ligands a été évaluée au travers de l'étude **(i)** de leur interaction avec l'A β , **(ii)** de leur interaction avec les complexes A β -Cu, **(iii)** de leur influence sur l'agrégation des peptides en présence de métaux (Cu et Zn), **(iv)** de leur effet sur la production de ROS par l'A β -Cu et **(v)** de leur impact sur la toxicité cellulaire de l'A β , de l'A β -Cu et de l'A β -Zn.

Les études de chimie de coordination présentées dans le chapitre III ont montré que la stabilité thermodynamique des complexes étudiés et l'affinité métal-ligand (pM) diminue lors de l'ajout de groupements méthyle et de la C-fonctionnalisation. Par conséquent, l'ensemble des expériences réalisées avec ces deux séries de ligands devrait permettre de vérifier si l'efficacité des agents séquestrants évolue de la même façon ou non en milieu biologique.

Parmi les ligands étudiés, les dérivés **cyclam**, **DMC**, **TMC** et **cyclam-E**, **DMC-E**, **TMC-E** devraient, à priori, présenter une activité de modulation des agrégats d'A β -M, contrairement aux ligands **CB-cyclam**, **CB-DMC**, **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E**. En effet, la cinétique de complexation des ligands renforcés de type "cross-bridged" est connue pour être particulièrement lente dans

des conditions standards (H₂O, pH neutre, température ambiante). Dans ce cas, la nécessité pour les ligands de chélater les ions métalliques déjà complexés à l'Aβ doit être un frein cinétique supplémentaire ne permettant pas d'induire une activité en milieu biologique. L'objectif étant de démontrer que l'activité est bien due à la chélation du cuivre et du zinc, les dérivés renforcés ont été intégrés à l'étude en guise de « contrôle » afin de valider nos hypothèses et de confirmer l'importance de l'aspect cinétique dans une stratégie de thérapie par chélation.

1.1 Interactions entre les ligands et l'Aβ

L'interaction entre les ligands des deux premières séries et l'Aβ₄₂ a été étudiée à l'aide de modélisation moléculaire informatique, appelée « amarrage » (ou « docking » en anglais). Elle vise à identifier quelle partie du peptide est la plus susceptible d'interagir avec les chélatants. Les calculs prennent en compte les interactions électrostatiques, les liaisons hydrogène, les interactions de Van der Waals, les contacts hydrophobes et la géométrie tridimensionnelle de l'édifice. Les interactions possibles dépendent en partie de la masse moléculaire (M) des ligands, de leur lipophilie (log P) et du nombre d'atomes accepteurs (ALH) et donneurs (DLH) de liaisons hydrogène. Ces informations sont regroupées dans le Tableau 46 pour chaque dérivé du cyclam.

Tableau 46. Valeurs de M (g.mol⁻¹), log(P)*, ALH, DLH des ligands des série n°1 et n°2.

ligand	M	log(P)	ALH	DLH
cyclam	200	-0,66	4	4
DMC	228	0,16	4	2
TMC	256	1,25	4	0
CB-cyclam	226	- 0,31	4	2
CB-DMC	254	1,21	4	0
cyclam-E	244	-0,90	5	5
DMC-E	272	-0,09	5	3
TMC-E	300	1,06	5	1
CB-cyclam-E	270	-0,61	5	3
CB-DMC-E	298	0,83	5	1

*log(P)= coefficient de partage octanol/eau (calculé).

Le coefficient de partage octanol/eau $\log(P)$ a été simulé ; expérimentalement il correspond au rapport des concentrations du ligand après répartition dans chacune des phases d'un mélange octanol/eau ($P = \frac{[L]_{\text{octanol}}}{[L]_{\text{eau}}}$). Plus la valeur est élevée, plus le composé est lipophile et plus elle est basse, plus il est hydrophile. Les dérivés C-éthylènehydroxy étudiés présentent systématiquement une valeur plus faible que leurs analogues non-C-fonctionnalisés et sont donc plus hydrophiles. Les coefficients de partage les plus élevés sont ceux des composés présentant le moins d'atomes donneurs de liaisons hydrogène : le **TMC**, le **CB-DMC**, le **TMC-E** et le **CB-DMC-E**. La lipophilie diminue ensuite selon l'ordre **DMC > DMC-E > CB-cyclam > CB-cyclam-E > cyclam > cyclam-E**.

La simulation des interactions avec l'A β_{42} a montré que tous les ligands n'interagissent pas avec les mêmes acides aminés (Figure 141). Pour rappel, l'extrémité N-terminale de l'A β correspond à la partie hydrophile dans laquelle le cuivre et le zinc peuvent être complexés et l'extrémité C-terminale à la partie plus hydrophobe du peptide.

- Pour la série n°1, les cyclams « non C-fonctionnels » possédant des atomes donneurs de liaisons hydrogène (**cyclam**, **DMC**, **CB-cyclam**) interagissent préférentiellement avec la partie hydrophile du peptide (Glu3, Asp7, Ser8, Val12). Les deux autres (**TMC** et **CB-DMC**) s'orientent, quant à eux, vers l'extrémité C-terminale en raison d'interactions hydrophobes avec les chaînes latérales des acides aminés (Phe20, Val24, Ile31, Leu34).

- Pour la série n°2, tous les dérivés C-éthylènehydroxy s'orientent autour de la partie hydrophile du peptide, y compris les deux plus lipophiles (**TMC-E** et **CB-DMC-E**). Ainsi, l'ajout de la C-fonctionnalisation augmente l'hydrophilie des ligands grâce à la présence d'un atome donneur et d'un accepteur de liaisons hydrogène et permet une interaction plus localisée avec l'A β , c'est-à-dire entre Phe4 et Gly9.

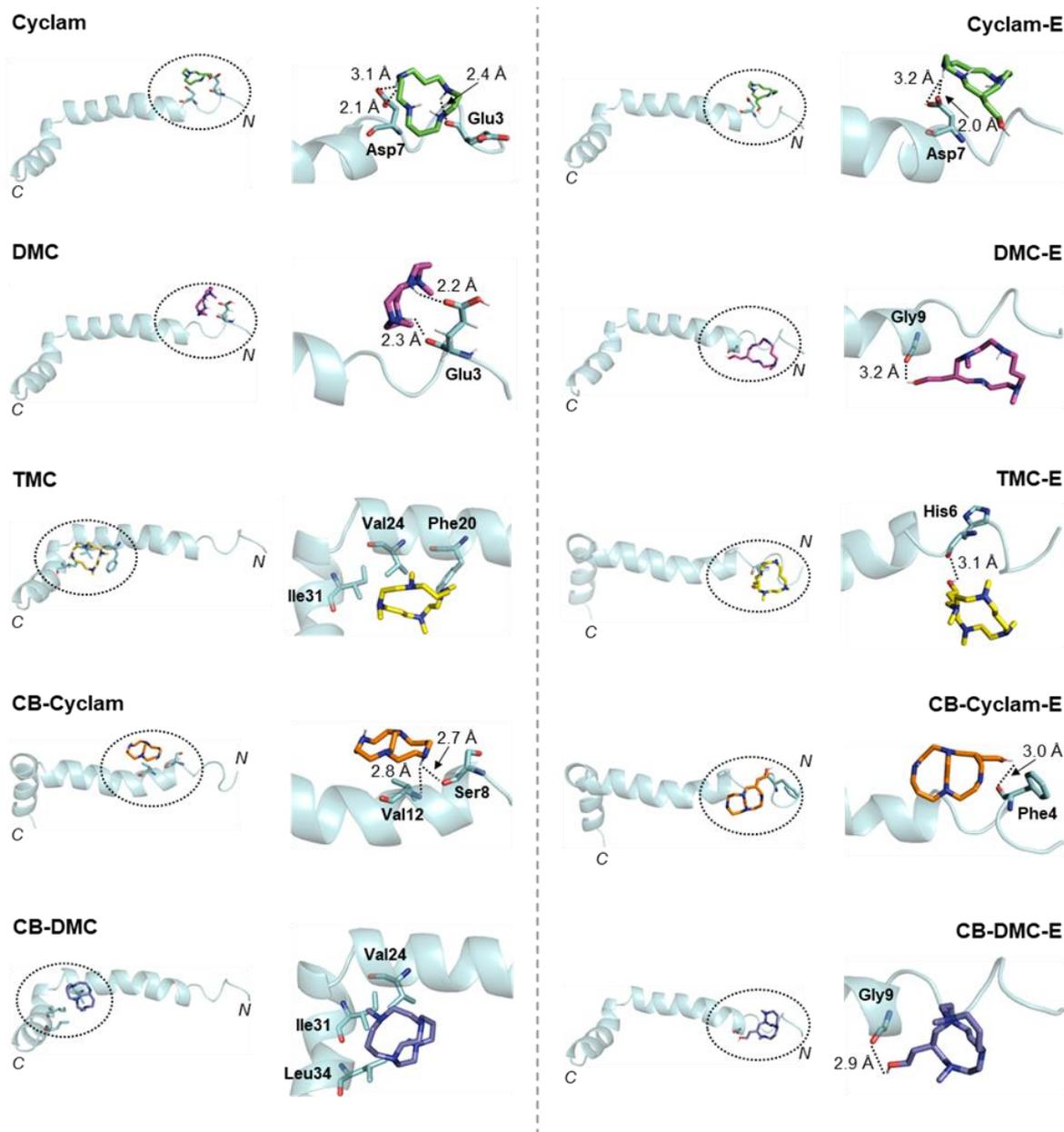


Figure 141. Simulation des interactions possibles entre les ligands et le monomère $A\beta_{42}$ (PDB 1IYT). Seules les structures des composés étudiés et celles des acides aminés adjacents sont explicitement représentées. La distance des liaisons hydrogène ($< 3.2 \text{ \AA}$) est indiquée par une ligne pointillée.

1.2 Interactions entre les ligands et l' $A\beta$ -Cu

L'interaction entre les ligands et l' $A\beta$ -Cu a été étudiée par spectrométrie de masse (ESI-MS) (Figure 142). Notons que les analyses avec l' $A\beta$ -Zn n'ont pas pu être réalisées en raison d'une ionisation différente qui ne permet pas d'identifier clairement les espèces. Les mesures ont été réalisées sur des échantillons d' $A\beta_{42}$ additionnés de $CuCl_2$, dans lesquels sont ajoutés les chélates, avant d'être incubés durant trois heures à $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Sur les spectres de masse

obtenus, deux zones ont été analysées : la première entre $m/z = 1100$ et 1250 , qui contient les massifs caractéristiques du complexe $A\beta$ -Cu ($[A\beta + Cu(II) + 2H]^{4+}$) et de l'adduit $A\beta$ -Cu(L) ($[A\beta + Cu(II) + L + 2H]^{4+}$) puis la seconde entre $m/z = 150$ et 500 , qui regroupe les signaux des complexes Cu(L).

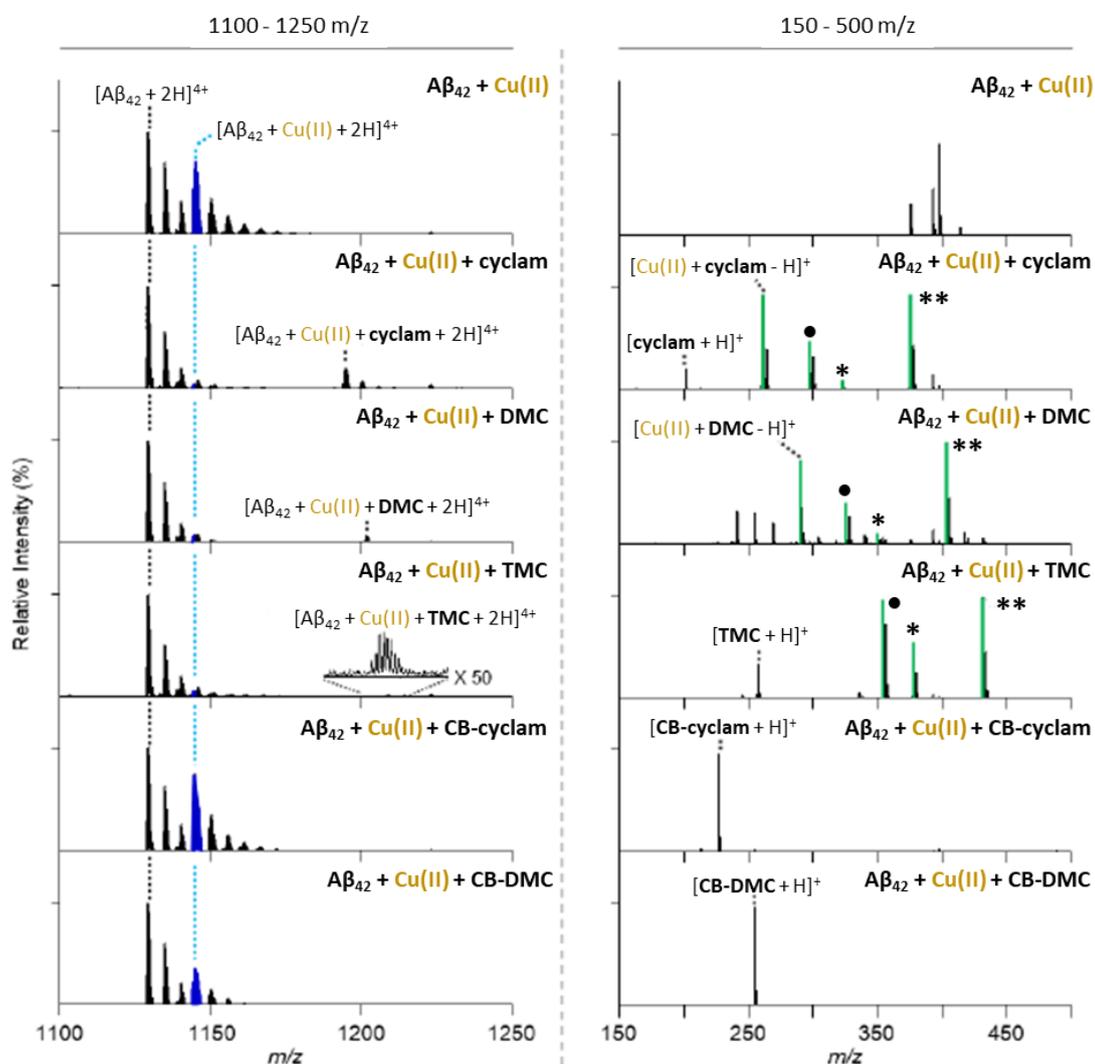


Figure 142. Interactions entre l' $A\beta_{42}$ -Cu et les ligands de la série n°1, détectées par ESI-MS. La ligne bleue en pointillée correspond au pic $[A\beta_{42} + Cu(II) + 2H]^{4+}$. Les pics en vert correspondent aux adduits $Cu(II)(L)$: • = $[Cu(II) + L + Cl]^+$; * = $[Cu(II) + L + CH_3COO]^+$; ** = $[Cu(II) + L + CF_3COO]^+$. Conditions : $[A\beta_{42}] = 25 \mu M$; $[CuCl_2] = 25 \mu M$; $[ligand] = 25 \mu M$; $20 mM NH_3^+CH_3COO^-$, pH 7,3 ; $37^\circ C$; incubation 3 h. L'intensité relative des pics de chaque spectre a été normalisée à partir du pic de plus grande intensité.

- La zone des spectres ESI-MS comprise entre $m/z = 1100$ et 1250 montre une importante diminution des pics du complexe $A\beta$ -Cu ($[A\beta_{42} + Cu(II) + 2H]^{4+}$ - en bleu) en présence de **cyclam**, de **DMC** ou de **TMC** et l'apparition d'un signal correspondant à l'adduit

A β -Cu(L) ([A β ₄₂ + Cu(II) + L + 2H]⁴⁺). Pour les deux ligands renforcés **CB-cyclam** et **CB-DMC**, le massif de cet adduit A β -Cu(L) est bien absent.

- La zone des spectres ESI-MS comprise entre m/z = 150 et 500 indique clairement la formation des complexes de cuivre correspondant ([Cu(cyclam)]²⁺, [Cu(DMC)]²⁺ et [Cu(TMC)]²⁺) ainsi que des adduits impliquant les contre-ions chlorure, acétate et trifluoroacétate. Dans l'échantillon contenant le **TMC**, un signal est observé à la masse du ligand libre ([TMC + H]⁺), indiquant que le ligand n'a pas chélaté tout le Cu²⁺ et donc que sa cinétique de complexation est plus lente que celle du **cyclam** et du **DMC**. Les échantillons contenant le **CB-cyclam** et le **CB-DMC** ne montrent logiquement pas la formation des complexes Cu(L).

Les analyses de spectrométrie de masse ont ensuite été réalisées avec les ligands de la série n°2 (cyclam C-éthylènehydroxy et ses dérivés) et présentent des résultats très similaires (Figure 143).

Les spectres ESI-MS obtenus pour les échantillons contenant le **cyclam-E**, le **DMC-E** et le **TMC-E** montrent une importante diminution du signal correspondant au complexe A β -Cu ([A β ₄₂ + Cu(II) + 2H]⁴⁺ - en bleu), l'apparition d'un signal pour l'adduit A β -Cu(L) ([A β ₄₂ + Cu(II) + L + 2H]⁴⁺) ainsi que des signaux compris entre m/z = 200 et 500 correspondant aux complexes [Cu(L)]²⁺. Un signal de forte intensité est observé pour le ligand tétraméthylé libre (ici le **TMC-E**), indiquant que celui-ci a une cinétique de complexation du Cu²⁺ plus lente que le **cyclam-E** et le **DMC-E**. Enfin, les ligands **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E** ne forment pas les complexes de cuivre dans les conditions utilisées.

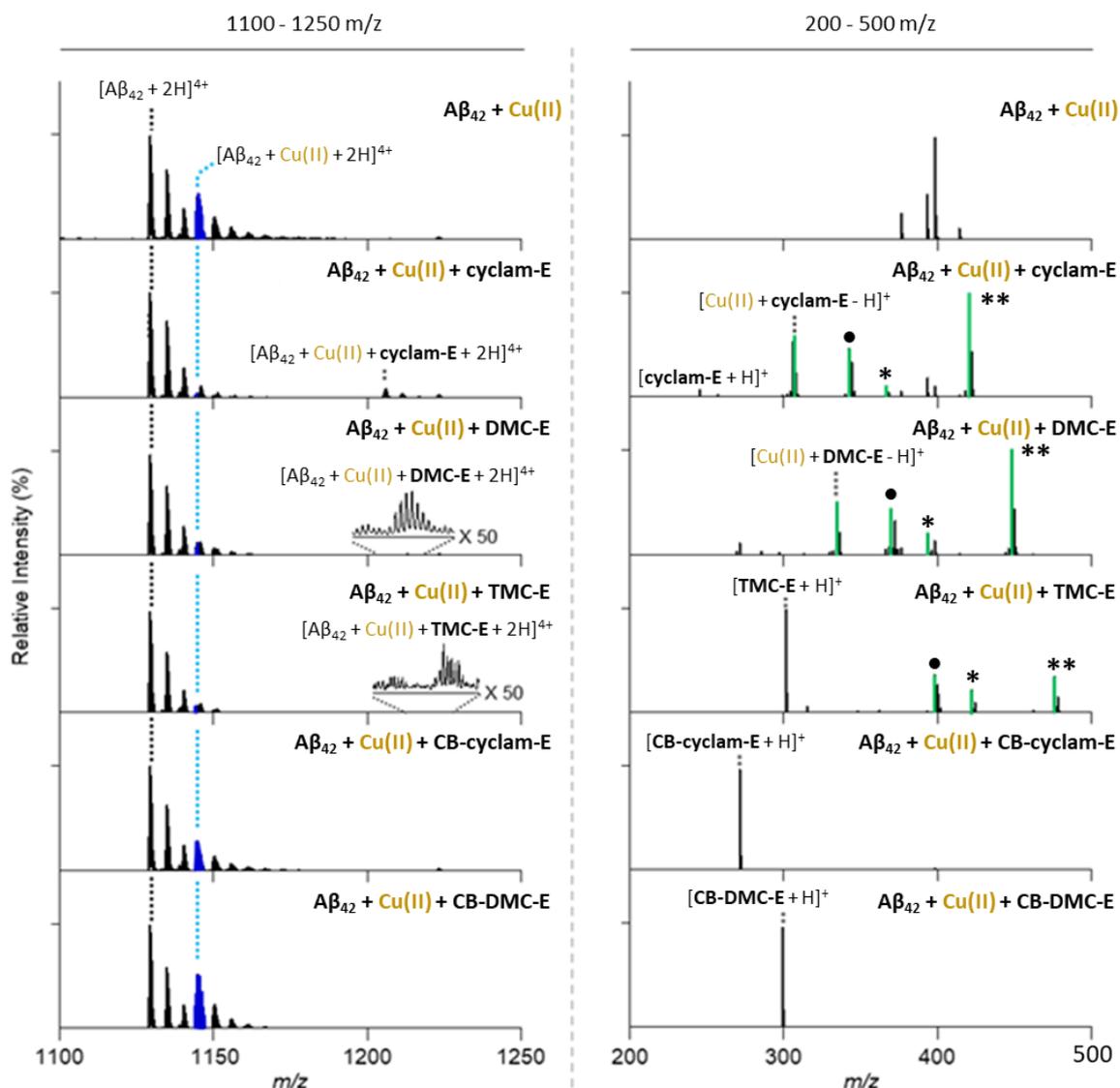


Figure 143. Interactions entre l'Aβ₄₂-Cu et les ligands de la série n°2, détectées par ESI-MS. La ligne bleue en pointillée correspond au pic [Aβ₄₂ + Cu(II) + 2H]⁴⁺. Les pics en vert correspondent aux adduits Cu(II)(L) : • = [Cu(II) + L + Cl]⁺ ; * = [Cu(II) + L + CH₃COO]⁺ ; ** = [Cu(II) + L + CF₃COO]⁺. Conditions : [Aβ₄₂] = 25 μM ; [CuCl₂] = 25 μM ; [ligand] = 25 μM ; 20 mM NH₃⁺CH₃COO⁻, pH 7,3 ; 37 °C ; incubation 3 h. L'intensité relative des pics de chaque spectre a été normalisée à partir du pic de plus grande intensité.

Ainsi, après trois heures d'incubation de l'Aβ-Cu en présence des ligands, le **cyclam**, le **DMC**, le **TMC**, le **cyclam-E**, le **DMC-E** et le **TMC-E** sont capables d'extraire le cuivre de l'Aβ₄₂ pour former les complexes [Cu(L)]²⁺ tandis que les ligands à cinétique très lente, **CB-cyclam**, **CB-DMC**, **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E**, ne montrent aucune activité. La présence des adduits du complexe [Cu(L)]²⁺ avec l'Aβ₄₂, met en avant une intercalation du complexe [Cu(L)]²⁺ dans le peptide. Cela souligne l'importance de former des complexes de cuivre dont la sphère de

coordination est incomplète pour permettre l'interaction avec les acides aminés du peptide sur le/les sites laissés libres.

1.3 Modulation de l'agrégation de l'A β en présence de métaux

L'impact des ligands sur l'agrégation de l'A β ₄₂-Cu et de l'A β ₄₂-Zn a été étudié à l'aide de deux techniques d'analyse : l'électrophorèse sur gel et la microscopie électronique en transmission (MET).

L'électrophorèse sur gel permet de séparer les espèces d'un échantillon en fonction de leur masse moléculaire et de leur charge. Les gels utilisés permettent de faire migrer les espèces ayant une masse comprise entre 4 kDa et 270 kDa ($M_{A\beta} \approx 4,5$ kDa). Ainsi, il est possible d'observer les différents agrégats présents dans un échantillon de référence (A β ₄₂ seule) et de les comparer avec les espèces présentes lors de l'ajout de ligands. La présence d'un grand nombre de nouvelles espèces révélerait une modulation de l'agrégation.

La structure des fibrilles, dont la masse est supérieure à 270 kDa est, quant à elle, étudiée par microscopie électronique en transmission. Dans ce cas, l'effet de la chélation des métaux sera clairement révélé par une modification de la structure fibrillaire de l'A β ₄₂-Cu et de l'A β ₄₂-Zn lorsque les échantillons sont en présence des ligands.

Les expériences d'inhibition de l'agrégation ont été réalisées en préparant des échantillons d'A β ₄₂ avec ou sans métal puis en y ajoutant rapidement les ligands. Après 3 h d'agitation à 37 °C, les échantillons sont déposés sur un gel afin de séparer les espèces par électrophorèse et une faible quantité est analysée par MET.

Une fois l'électrophorèse effectuée, les gels sont transférés sur des membranes en nitrocellulose et les espèces d'A β sont fixées à l'aide d'albumine de sérum bovin. Les membranes sont ensuite incubées avec un anticorps anti-A β (A β 6E10), puis avec un anticorps anti-A β -6E10 conjugué à une peroxydase. Ce procédé permet de révéler les espèces d'A β à l'aide de luminol en utilisant un système d'imagerie (« ChemiDoc MP imaging system »); cette technique s'appelle le « Western Blot » (Figure 144).

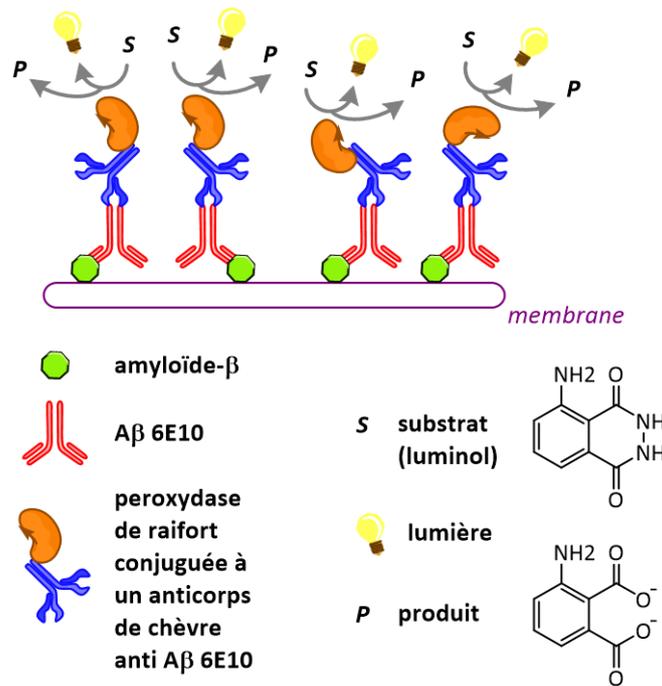
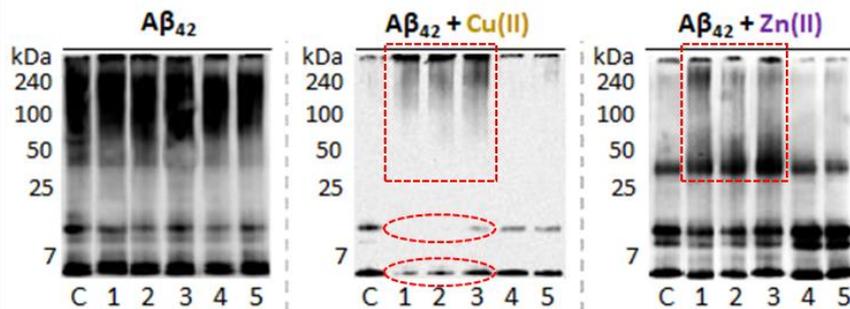
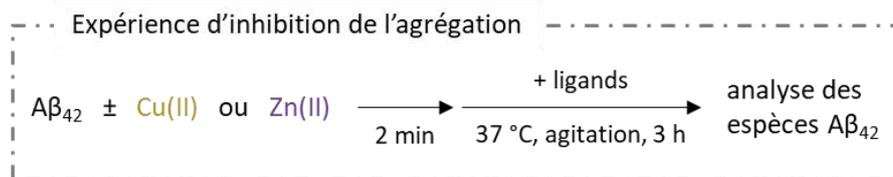


Figure 144. Procédé de révélation utilisé après l'électrophorèse sur gel (« Western Blot »).

Les images obtenues pour les échantillons d'A $\beta_{42} \pm M(II)$ ($M = \text{Zn}$ ou Cu), en présence de la série n°1 de ligands, sont présentées dans la Figure 145. Chaque colonne correspond à un échantillon (un puits) et la distribution des espèces se fait de haut en bas lors de la décroissance de la masse moléculaire. L'intensité des taches noires est proportionnelle à la quantité d'espèces d'A β_{42} présente sur la membrane. Les espèces dont le poids moléculaire est supérieur à 270 kDa (agrégats de grande taille / fibrilles), ne pouvant pas pénétrer le gel utilisé, ne sont pas visibles.



C : $A\beta_{42} \pm M(II)$ 1 : + cyclam 2 : + DMC 3 : + TMC 4 : + CB-cyclam 5 : + CB-DMC

Figure 145. Influence des dérivés **cyclam**, **DMC**, **TMC**, **CB-cyclam** et **CB-DMC** sur l'agrégation de l' $A\beta_{42}$ avec ou sans métal. Distribution des espèces d' $A\beta_{42}$ en fonction de leur masse moléculaire après séparation par électrophorèse sur gel et « western blot ». Conditions : $[A\beta_{42}] = 25 \mu\text{M}$; $[MCl_2] = 25 \mu\text{M}$; $[\text{ligand}] = 25 \mu\text{M}$; pH 7,4.

- Les échantillons ne contenant pas de métal ($A\beta_{42}$ seule) servent à vérifier l'absence d'activité des ligands. Chacune des colonnes est très semblable à la colonne de référence (C) ce qui indique que les ligands n'ont pas d'effet sur l'agrégation de l' $A\beta_{42}$ seule.

- L'échantillon de référence contenant l' $A\beta_{42}$ -Cu (C) présente très peu de taches : une en dessous de 7 kDa, une comprise entre 7 et 25 kDa et une faible autour de 270 kDa (limite de détection). Lors de l'ajout des ligands, les échantillons additionnés de **cyclam**, de **DMC** ou de **TMC** présentent une traînée noire entre 50 et 270 kDa (carré rouge en pointillés - Figure 145) indiquant la présence de nombreuses espèces dans cette gamme de masse moléculaire. Ainsi, ces trois composés modulent l'agrégation de l' $A\beta_{42}$ -Cu en piégeant le cuivre. Cette conclusion est confirmée avec les échantillons contenant les ligands **CB-cyclam** et **CB-DMC** à cinétique très lente qui ne présentent bien aucune différence avec la référence. Les échantillons contenant du **cyclam**, du **DMC** ou du **TMC** présentent deux autres différences intéressantes : les taches comprises entre 7 et 25 kDa disparaissent presque totalement et celles en dessous de 7 kDa diminuent en intensité (ovales rouges en pointillés - Figure 145). Ces observations suggèrent une inhibition de la formation des espèces de faibles masses moléculaires, potentiellement due à des interactions entre les complexes $[\text{Cu(L)}]^{2+}$ et l' $A\beta_{42}$.

- L'échantillon de référence contenant l' $A\beta_{42}$ -Zn (C) présente un profil de taches différent de celui obtenu en présence de cuivre : une en dessous de 7 kDa, une entre 7 et 25 kDa, une entre 25 et 50 kDa et une de faible intensité autour de 270 kDa (limite de détection). Lors de l'ajout du **cyclam**, du **DMC** ou du **TMC** une traînée noire est observée entre 50 et 270 kDa (carré rouge en pointillés), indiquant une modulation de l'agrégation de l' $A\beta_{42}$ -Zn suite à la chélation du zinc par les ligands. En comparaison de ce qui est observé colonne C, la tache plus intense entre 25 et 50 kDa semble indiquer que la présence de $[Zn(L)]^{2+}$ dans l'échantillon favorise la formation des agrégats dans cette zone de masses. Une nouvelle fois, les ligands « contrôle » **CB-cyclam** et **CB-DMC**, qui ne complexent pas le zinc dans ces conditions, ne modulent pas l'agrégation.

Les mêmes expériences d'inhibition de l'agrégation ont été réalisées avec les ligands C-fonctionnalisés de la série n°2. Les images obtenues après l'électrophorèse sur gel et le « western blot » sont présentées dans la Figure 146. Les résultats sont très similaires aux précédents, néanmoins, quelques différences sont à noter.

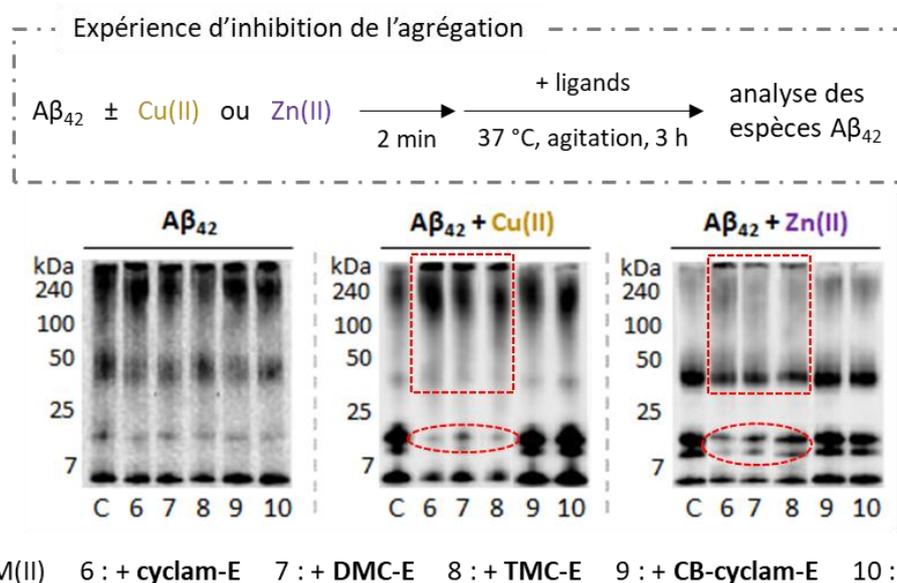


Figure 146. Influence des dérivés **cyclam-E**, **DMC-E**, **TMC-E**, **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E** sur l'agrégation de l' $A\beta_{42}$ avec ou sans métaux. Distribution des espèces d' $A\beta_{42}$ en fonction de leur masse moléculaire après séparation par électrophorèse sur gel et « western blot ». Conditions : $[A\beta_{42}] = 25 \mu M$; $[MCl_2] = 25 \mu M$; $[ligand] = 25 \mu M$; pH 7,4.

- Les échantillons ne contenant pas de métal ($A\beta_{42}$ seule) servent à vérifier l'absence d'activité des ligands. Chacune des colonnes est très semblable à la colonne de référence (**C**), ce qui indique que les ligands n'ont pas d'effet sur l'agrégation de l' $A\beta_{42}$ en l'absence de métal.

- Les échantillons d' $A\beta_{42}$ -Cu contenant le **cyclam-E**, le **DMC-E** ou le **TMC-E** présentent une traînée noire plus intense que celle de la référence (**C**) indiquant une modulation de l'agrégation. Comme observé pour la série n°1, les colonnes correspondant à la présence de ces trois ligands montrent une faible intensité de la tache comprise entre 7 et 25 kDa (ovale rouge en pointillés - Figure 146), signe que les agrégats de cette masse moléculaire se forment très peu.

- Les échantillons d' $A\beta_{42}$ -Zn contenant le **cyclam-E**, le **DMC-E** ou le **TMC-E** présentent un effet moins marqué que leurs analogues de la série n°1. Néanmoins, l'intensité de la traînée noire entre 50 et 270 kDa est plus importante que pour la référence (**C**), indiquant que ces composés modulent l'agrégation. Leur effet sur les espèces dont la masse est comprise entre 7 et 25 kDa est plus marqué (ovale rouge en pointillés - Figure 146), comme le démontrent la présence des taches de très faibles intensité.

Les expériences d'électrophorèse sur gel et « western blot » réalisées mettent en évidence la modulation de l'agrégation de l' $A\beta$ -M(II) par le **cyclam**, le **cyclam-E** et leurs dérivés diméthylés et tétraméthylés. Les dérivés renforcés "cross-bridged" n'ont pas d'effet sur l'agrégation de l' $A\beta$ -M, démontrant bien que l'activité provient d'une chélation du métal par les ligands.

Afin d'observer la morphologie des fibrilles formées, les échantillons de référence ainsi que ceux contenant les ligands **TMC**, **TMC-E**, **CB-DMC** ou **CB-DMC-E** ont été analysés par microscopie électronique (Figure 147). L'idée était de comparer la structure fibrillaire des échantillons de référence à ceux contenant un ligand démontré actif (**TMC** ou **TMC-E**) et à ceux contenant un dérivé inactif (**CB-DMC** ou **CB-DMC-E**).

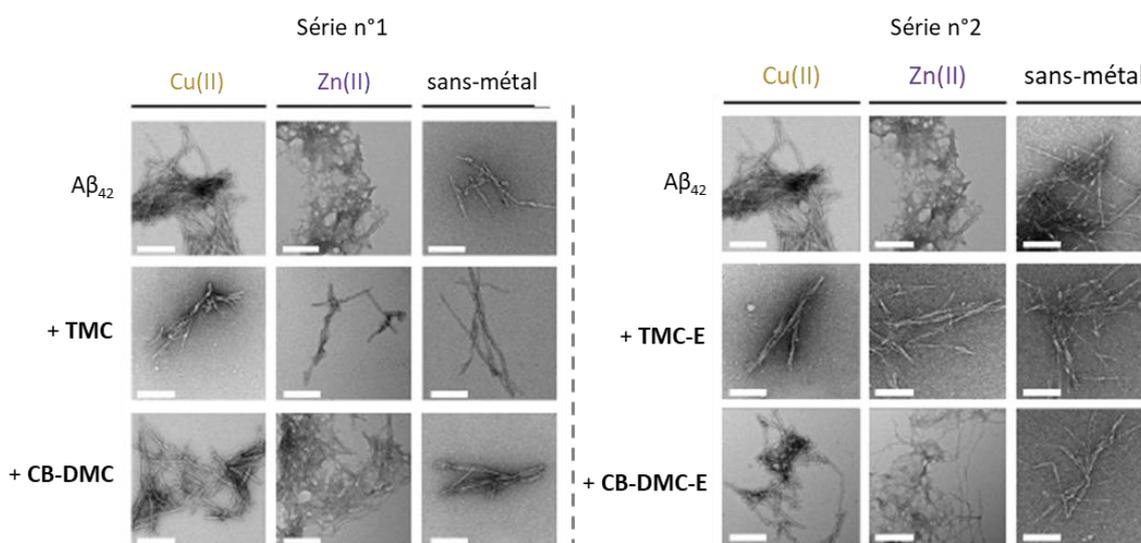


Figure 147. Morphologies des fibrilles formées après incubation de l'Aβ₄₂ avec ou sans métal et lors de l'ajout de **TMC**, **CB-DMC**, **TMC-E** ou **CB-DMC-E**, observées en MET. Conditions : [Aβ₄₂] = 25 μM ; [CuCl₂ ou ZnCl₂] = 25 μM ; [ligand] = 25 μM ; pH 7,4. Echelle = 200 nm.

En présence de **cuivre(II)**, l'Aβ₄₂ forme de nombreuses fibrilles de petite taille enchevêtrées, alors qu'en présence de **zinc(II)** elles sont plus grandes et ramifiées. En revanche, en l'absence de métal, l'Aβ₄₂ forme des fibrilles simples de petite taille. Les résultats obtenus sont identiques pour les composés des séries n°1 et n°2. Lors de l'ajout de **TMC** ou de **TMC-E** dans les échantillons d'Aβ₄₂-M, les fibrilles reprennent une morphologie identique à celle de l'Aβ₄₂ en l'absence de métal. Les deux ligands parviennent donc à piéger le cuivre et le zinc pour former les complexes [Cu(L)]²⁺ et [Zn(L)]²⁺ et à rendre aux fibrilles d'Aβ₄₂ leur structure originelle ; il s'agit bien d'un effet d'inhibition de l'agrégation de l'Aβ₄₂-M. Sur ces images, la présence des complexes [Cu(L)]²⁺ et [Zn(L)]²⁺ formés *in situ* ne semble pas influencer la structure fibrillaire de l'Aβ₄₂. Lors de l'ajout de **CB-DMC** ou de **CB-DMC-E**, qui ne complexent pas les métaux, les fibrilles conservent des structures identiques à celles des références Aβ₄₂-Cu et Aβ₄₂-Zn, confirmant bien l'activité positive des deux autres ligands.

1.4 Impact des ligands sur la production de ROS

Comme nous l'avons vu au cours du Chapitre I, la toxicité de l'Aβ-Cu provient principalement de son implication dans la production de ROS. En effet, le **Cu(II)** peut être réduit en **Cu(I)** en présence d'ascorbate (Asc) et des espèces toxiques sont alors produites (Schéma 75).

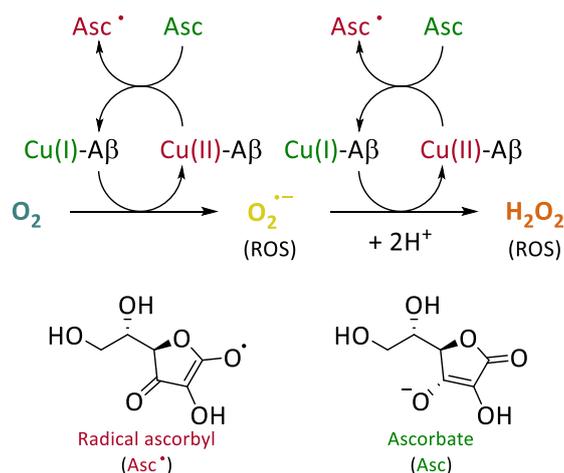


Schéma 75. Réaction de production de H₂O₂ par l'Aβ-Cu(I/II) en présence d'ascorbate (Asc).

L'influence des ligands sur la production de ROS a ainsi été étudiée en mesurant la quantité de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produite au cours de la réaction précédemment décrite. Des échantillons de Cu(II) ou d'Aβ-Cu(II), additionnés d'ascorbate, ont été incubés pendant une heure à 37 °C seuls ou après ajout des ligands, puis la quantité de H₂O₂ formée a été mesurée à l'aide d'un test de fluorescence (kit Amplex™ Red commercial). L'absence d'effet des ligands sur la quantité de H₂O₂ a été vérifiée en amont.

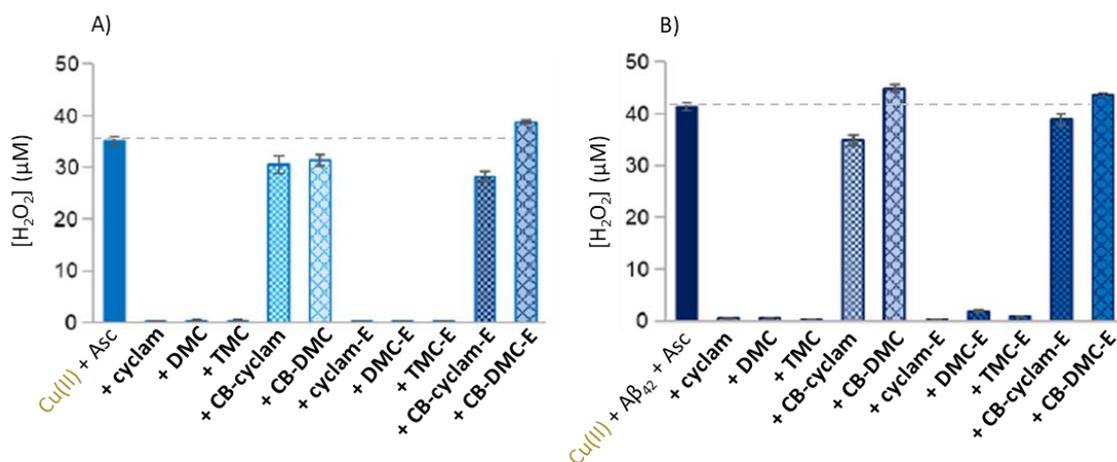


Figure 148. Effet du cyclam et de ses dérivés sur la production de H₂O₂. Quantité de H₂O₂ formée par **A) Cu(II)** en présence de L-ascorbate (Asc) et **B) Cu(II)-Aβ₄₂** en présence de L-ascorbate (Asc), seuls ou après ajout des ligands. Conditions : [Aβ₄₂] = 12,5 μM ; [CuCl₂] = 12,5 μM ; [Asc] = 500 μM ; [ligand] = 50 μM ; 37 °C ; incubation 1 h. Mesures réalisées par un test Amplex™ Red H₂O₂/peroxydase. La barre d'erreur représente l'erreur standard sur la moyenne de trois expériences indépendantes.

- Les résultats de l'expérience **A** révèlent que les ligands ayant précédemment montré une activité sur l'Aβ₄₂-Cu (**cyclam**, **cyclam-E**, **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E**) inhibent totalement la production de H₂O₂ par le Cu en présence d'ascorbate. Ces résultats signifient que le Cu est rapidement complexé par les chélates et que le potentiel de réduction des complexes [Cu(L)]²⁺ formés ne permet pas une réaction d'oxydoréduction. En effet, le potentiel standard du couple Cu(I)/Cu(II) est de 0,159 V, tandis que les potentiels de réduction des complexes de cuivre qui ont été mesurés sont inférieurs à -0,600 V. Les ligands **CB-cyclam**, **CB-DMC** et **CB-cyclam-E** montrent de façon surprenante une légère réduction de la production de H₂O₂ ce qui signifie qu'une petite quantité de Cu est tout de même complexée au cours de l'heure d'incubation. Le **CB-DMC-E**, quant à lui, ne montre bien aucun effet.

- Les résultats de l'expérience **B**, en présence d'Aβ₄₂-Cu, montrent une inhibition totale de la production de H₂O₂ pour le **cyclam**, le **DMC**, le **TMC**, le **cyclam-E** et quasi-totale pour le **DMC-E** et le **TMC-E**. L'ajout de **CB-cyclam** et de **CB-cyclam-E** conduit à une légère diminution de la concentration finale en H₂O₂ tandis que l'ajout de **CB-DMC** et de **CB-DMC-E** n'a aucun effet, ce qui confirme les résultats précédents.

La différence d'activité observée entre les deux expériences, **A** et **B**, met en avant l'importance de la cinétique de complexation sur l'inhibition de la production de ROS. De plus, elle confirme que la cinétique est plus lente lorsque le ligand doit « extraire » le Cu préalablement complexé par l'Aβ. L'expérience **A** montre que les ligands renforcés ont une légère activité d'inhibition, tandis que dans l'expérience **B**, leur effet est diminué voire inexistant. Une légère augmentation de production de H₂O₂ est également visible pour le **DMC-E** et le **TMC-E**, qui avaient montré des cinétiques de complexation plus lentes que les autres ainsi que les pCu les plus faibles lors des études de potentiométrie (pCu_{DMC-E} = 14,1 et pCu_{TMC-E} = 14,2). Il est possible que ces valeurs correspondent, pour cette application, à une limite basse à ne pas dépasser dans le développement d'agents séquestrants. L'expérience **B** apporte également des informations intéressantes sur l'inertie cinétique des complexes [Cu(L)]²⁺ formés. Le complexe [Cu(TMC)]²⁺, dont l'inertie cinétique était pourtant la plus faible, parvient à inhiber totalement la production de ROS malgré la présence de l'Aβ, qui est un ligand compétiteur.

1.5 Effet des ligands sur la toxicité de l'Aβ, l'Aβ-Zn et l'Aβ-Cu en milieu cellulaire

Les résultats prometteurs des expériences précédentes nous ont incité à réaliser des tests de toxicité en milieu biologique pour évaluer la potentielle utilisation in vivo des chélates. Des cellules de neuroblaste (SH-SY5Y) ont été incubées pendant vingt-quatre heures en présence d'Aβ₄₂, d'Aβ₄₂-Cu ou d'Aβ₄₂-Zn, seule ou après ajout des ligands. La viabilité cellulaire a été mesurée par un test de fluorescence à l'aide du sel de tétrazolium MTT (« MTT assay » en anglais) puis normalisée par rapport à des cellules de référence, simplement traitées avec de l'eau (Figure 149).

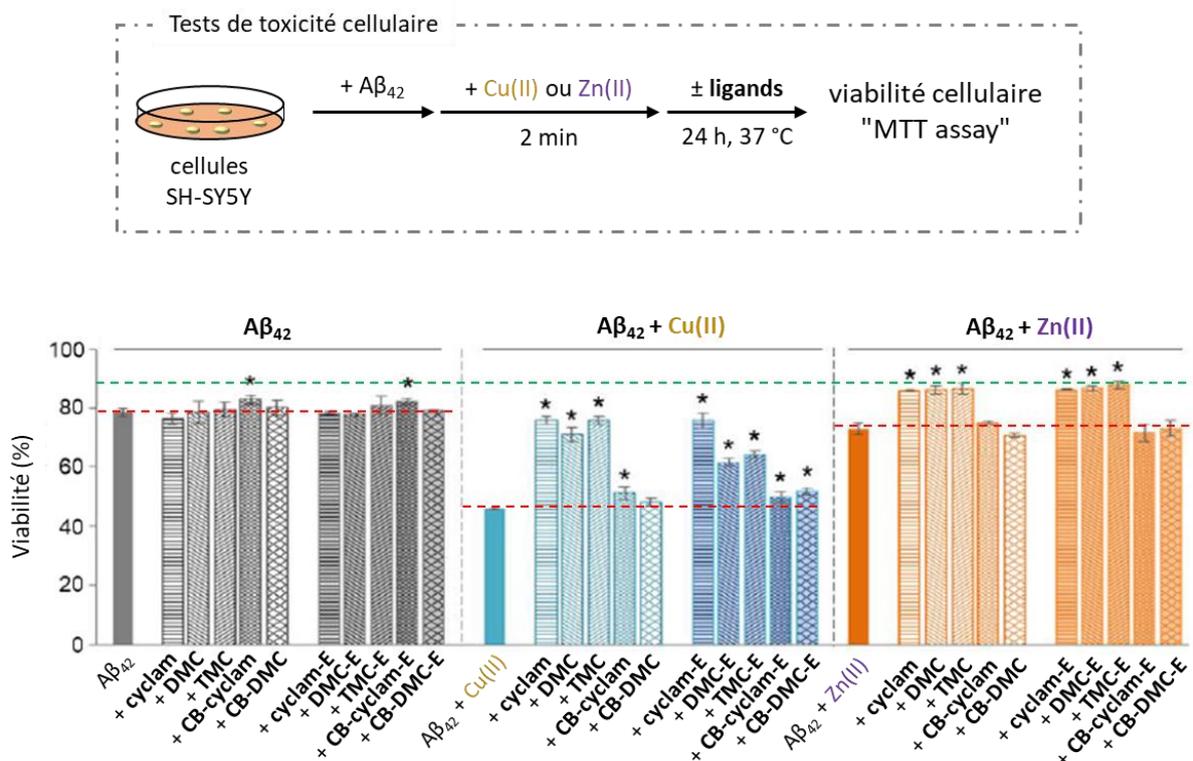


Figure 149. Toxicité cellulaire induite par l'Aβ₄₂, l'Aβ₄₂-Cu et l'Aβ₄₂-Zn seule ou en présence des ligands, mesurée par un test MTT. La viabilité cellulaire a été normalisée par rapport à des cellules traitées avec H₂O. Conditions : [Aβ₄₂] = 50 μM ; [MCl₂] = 50 μM ; [ligand] = 50 μM. *p < 0,05.

- Les cellules ayant été traitées avec de l'Aβ₄₂ (en gris) ont un taux de survie d'environ 80 %. L'ajout des ligands n'apporte pas de modification significative à ce taux, ils ne sont donc pas toxiques pour les cellules mais n'interagissent pas avec l'Aβ₄₂.

- Les cellules ayant été traitées avec de l'Aβ₄₂ et du Cu(II) (en bleu) ont un taux de survie qui chute à 50 % en raison de la toxicité des agrégats conséquemment formés qui produisent des ROS. L'ajout des ligands ayant précédemment montré la formation des complexes [Cu(L)]²⁺ en présence d'Aβ, permet d'améliorer la viabilité des cellules. Un retour à environ 80 % a ainsi été observé pour le **cyclam**, le **DMC**, le **TMC** ou le **cyclam-E** contre environ 60 % pour le **DMC-E** ou le **TMC-E**. Ceci confirme les observations faites lors des tests d'inhibition de la production de ROS où ces deux ligands présentaient des performances moins élevées que les autres. L'ajout des dérivés "cross-bridged", inactifs sur la production de ROS, ne conduit à aucune modification du taux de survie.

- Les cellules ayant été traitées avec de l'Aβ₄₂ et du Zn(II) (en orange) ont une viabilité d'environ 70 %, qui remonte à 90 % lors de l'ajout des dérivés **cyclam**, **DMC**, **TMC**, **cyclam-E**, **DMC-E** ou **TMC-E**. Il est intéressant de noter que la viabilité des cellules en présence de ces ligands (90 %) est supérieure à celle en présence d'Aβ₄₂ seule (80 %). Ces résultats sont significatifs et suggèrent une activité des complexes [Zn(L)]²⁺ sur l'Aβ₄₂ ou un potentiel effet neuroprotecteur.

1.6 Conclusion

Les ligands **cyclam**, **DMC**, **TMC** et **cyclam-E**, **DMC-E**, **TMC-E** ont montré une activité d'inhibition de l'agrégation de l'Aβ₄₂-M permettant de réduire la toxicité cellulaire grâce à la chélation du cuivre(II) et du zinc(II). Dans le cas de l'Aβ₄₂-Cu, la formation du complexe [Cu(L)]²⁺ empêche la production de ROS et par conséquent inhibe la toxicité de l'Aβ₄₂-Cu. Cependant, les ligands **DMC-E** et **TMC-E** ont montré un effet limité. Dans le cas de l'Aβ₄₂-Zn, la viabilité cellulaire en présence de ces six ligands est supérieure à celle observée en présence d'Aβ₄₂ seule ; la chélation du zinc est efficace et les complexes [Zn(L)]²⁺ formés *in situ* ont un effet inhibiteur sur la toxicité de l'Aβ₄₂. Enfin, les ligands **CB-cyclam**, **CB-DMC**, **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E** confirment grâce à ces tests que leur cinétique de complexation du cuivre ou du zinc déjà coordonnés par l'Aβ₄₂ est trop lente et ne permet pas de diminuer la toxicité cellulaire de l'Aβ-M. Ils démontrent également que l'effet des dérivés non-renforcés est bien dû à la chélation des ions métalliques et valident ainsi notre approche.

2. Etude de l'activité de complexes de cobalt $[\text{Co}(\text{L})]^{2+}$ vis-à-vis de l' $\text{A}\beta_{40/42}$

Le cobalt n'étant pas un métal endogène, l'étude de l'activité biologique a été réalisée selon une autre stratégie, c'est à dire, à partir des complexes $[\text{Co}(\text{L})]^{2+/3+}$ synthétisés et caractérisés en amont. Tous les complexes ont été préparés au sein du laboratoire du Pr. Lim au cours de la mobilité que j'ai effectuée en Corée du Sud. Pour les tests biologiques et dans le but de s'assurer de l'état d'oxydation des composés formés ($\text{Co}(\text{II})$ ou $\text{Co}(\text{III})$), de la nature des contre-ions et de la pureté, seuls les complexes ayant été cristallisés puis caractérisés par diffraction des rayons-X et analyse élémentaire ont été utilisés. Dans un premier temps, l'objectif a été d'étudier les complexes stables de $\text{Co}(\text{II})$ et dans un second temps ceux de $\text{Co}(\text{III})$. Cette distinction entre les deux degrés d'oxydation visait à conserver une homogénéité dans une série de complexe $[\text{M}(\text{L})]^{2+}$ ($\text{M} = \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Co}$) et à traiter séparément les complexes de $\text{Co}(\text{III})$ qui ont, généralement, une toxicité cellulaire plus élevée.

A l'heure actuelle, seuls les complexes $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ ont été isolés et caractérisés, le **cyclam** et le **CB-cyclam**, qui complètent la série n°1 de ligands, forment spontanément des complexes de $\text{Co}(\text{III})$ à l'air libre. Les premiers tests d'activité vis-à-vis de l'amyloïde- β ont été réalisés avec les complexes de $\text{Co}(\text{II})$ et sont rapportés ci-après. Le complexe $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$, dont les résultats ont déjà été rapportés par l'équipe du Pr. Lim (et à l'origine de la collaboration), a été joint à certains tests à des fins de comparaison.

L'activité des trois complexes (Figure 150) a été évaluée au travers d'expériences d'inhibition de l'agrégation puis de désagrégation. Elles ont été menées sur l' $\text{A}\beta_{40}$ ainsi que sur l' $\text{A}\beta_{42}$ afin d'étudier si une spécificité vis-à-vis du peptide existe. Les trois complexes $[\text{Co}(\text{L})]^{2+}$ ont ensuite été soumis à des tests de toxicité cellulaire.

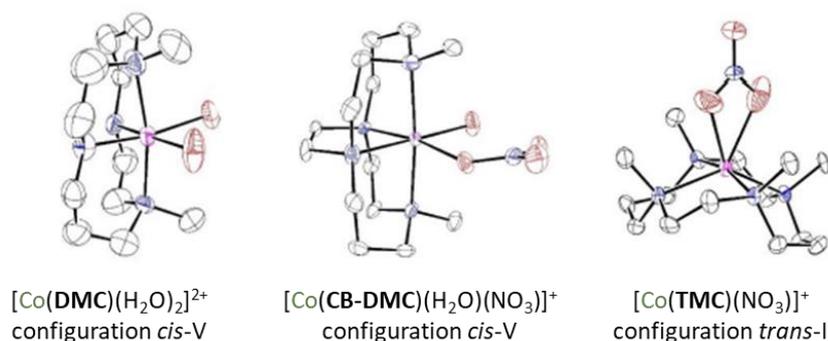


Figure 150. Structures cristallographiques des complexes $[\text{Co}(\text{L})]^{2+}$ étudiés. Les contre-ions non-coordinants et les atomes d'hydrogène ont été omis pour plus de clarté. Les ellipsoïdes sont tracés à 30 % de probabilité.

Les structures cristallographiques de ces complexes montrent que le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et le $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ adoptent tous les deux une configuration *cis-V* à l'état solide, différente de la *trans-I* du $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$. L'isomère *trans-I* permet, normalement, la coordination axiale d'une seule espèce (NO_3^- est ici un cas particulier) tandis que le *cis-V* peut en accueillir deux. Aucune hypothèse n'a, jusqu'ici, été formulée quant à l'influence de la structure des complexes sur l'activité biologique. Toutefois, une hypothèse sur la capacité d'hydrolyse des complexes peut déjà être émise à ce stade. La constante de formation du complexe métal-hydroxo mesurée pour le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ est légèrement plus basse que celle rapportée pour le $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$, respectivement $\log K_{[\text{Co}(\text{DMC})(\text{OH})]^+} = 8,0$ et $\log K_{[\text{Co}(\text{TMC})(\text{OH})]^+} = 8,2$. Par conséquent, si les deux complexes présentent une activité d'hydrolyse peptidique, alors celle du $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ pourrait être supérieure à celle du $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$. Cependant, la constante de formation du complexe $[\text{Co}(\text{L})(\text{OH})]^+$ n'est pas l'unique caractéristique à considérer, les interactions du complexe avec l'A β et la géométrie du composé sont également des paramètres non négligeables et dont l'influence reste à déterminer.

2.1 Expérience d'inhibition de l'agrégation

Les échantillons destinés à étudier l'inhibition de l'agrégation ont été préparés de façon à ajouter les complexes $[\text{Co}(\text{L})]^{2+}$ avant que le processus d'agrégation de l'A β ne soit à un stade trop avancé. Ils ont ensuite été incubés à 37 °C pendant vingt-quatre heures avant d'être séparés par électrophorèse sur gel et révélés par « western blot » (Figure 151). Les images s'analysent selon la même méthodologie de lecture que celles présentées précédemment dans le cas de l'interaction des ligands libres avec l'A β -Cu et l'A β -Zn.

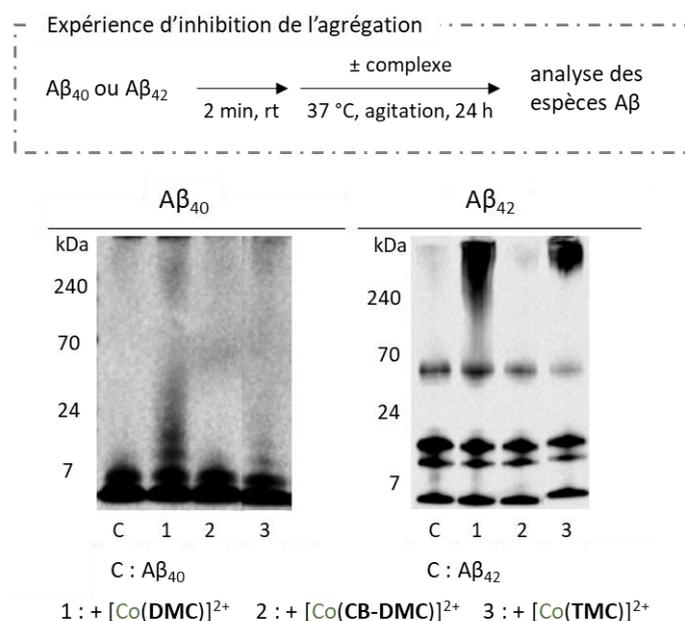


Figure 151. Expérience d'inhibition de l'agrégation de l' $A\beta$ par les complexes $[Co(L)]^{2+}$. Distribution des espèces d' $A\beta$ en fonction de leur masse moléculaire après séparation par électrophorèse sur gel et « western blot ». Conditions : $A\beta$:complexe = 1:1 ($[A\beta]$ = 25 μ M) ; tampon HEPES·Na dilué ; pH = 7,4.

- Les résultats obtenus sur l' $A\beta_{40}$ montrent une traînée noire plus intense, entre 7 et 270 kDa, lors de l'ajout du $[Co(DMC)]^{2+}$. Aucun changement n'apparaît dans le cas de l'ajout du $[Co(CB-DMC)]^{2+}$ et une traînée noire de très faible intensité est visible pour l'échantillon contenant du $[Co(TMC)]^{2+}$.

- Les résultats obtenus avec l' $A\beta_{42}$ sont plus nets : une traînée noire très intense est observée au-dessus de 240 kDa en présence du $[Co(DMC)]^{2+}$, alors qu'aucun changement n'est noté dans le cas du $[Co(CB-DMC)]^{2+}$ et que seule une tache noire proche de la limite de détection est visible lors de l'ajout du $[Co(TMC)]^{2+}$.

Le $[Co(DMC)]^{2+}$ présente ainsi une modulation de l'agrégation plus intense que le $[Co(TMC)]^{2+}$ tandis que le $[Co(CB-DMC)]^{2+}$ ne montre pas d'effet. A ce stade, aucune indication quant à la nature de l'interaction entre les complexes et les peptides $A\beta$ ne peut être donnée (intercalation, hydrolyse, oxydation, etc...).

Des spectres de masse des échantillons d' $A\beta_{42}$ additionnés de $[Co(L)]^{2+}$ ont été effectués (MALDI-MS) mais n'ont révélé la présence d'aucun fragment de peptide, ce qui aurait été attendu dans le cas d'une activité d'hydrolyse. Il est important de préciser que les fragments n'ont pas non plus été retrouvés dans l'analyse des échantillons contenant le $[Co(TMC)]^{2+}$, dont l'activité d'hydrolyse a pourtant déjà été démontrée. Il est possible que ce phénomène

soit dû aux conditions expérimentales utilisées. Néanmoins, les spectres de masse ESI-MS des échantillons ont montré la formation des adduits $[\text{A}\beta_{42} + \text{Co}(\text{DMC}) + 3\text{H}]^{5+}$ et $[\text{A}\beta_{42} + \text{Co}(\text{CB-DMC}) + 3\text{H}]^{5+}$, ce qui suggère, au moins, une intercalation de ces deux complexes de cobalt dans le peptide.

Pour tenter de mieux comprendre l'effet de ces complexes sur l' $\text{A}\beta$, des analyses par spectrométrie de mobilité ionique couplée à un spectromètre de masse (IM-MS) ont été réalisées. Cette technique permet de séparer les espèces en fonction de leur mobilité dans la phase gazeuse avant d'entrer en collision avec le détecteur, donnant ainsi accès à un temps de dérive pour chaque espèce ionique. Le temps de dérive dépend principalement de la masse de l'ion et de sa structure. Dans notre cas, les adduits observés présentent des masses relativement proches, par conséquent, leur structure est la variable principale. Les spectres obtenus par IM-MS pour des échantillons d' $\text{A}\beta_{42}$ additionnés de $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ puis incubés trois heures sont présentés Figure 152.

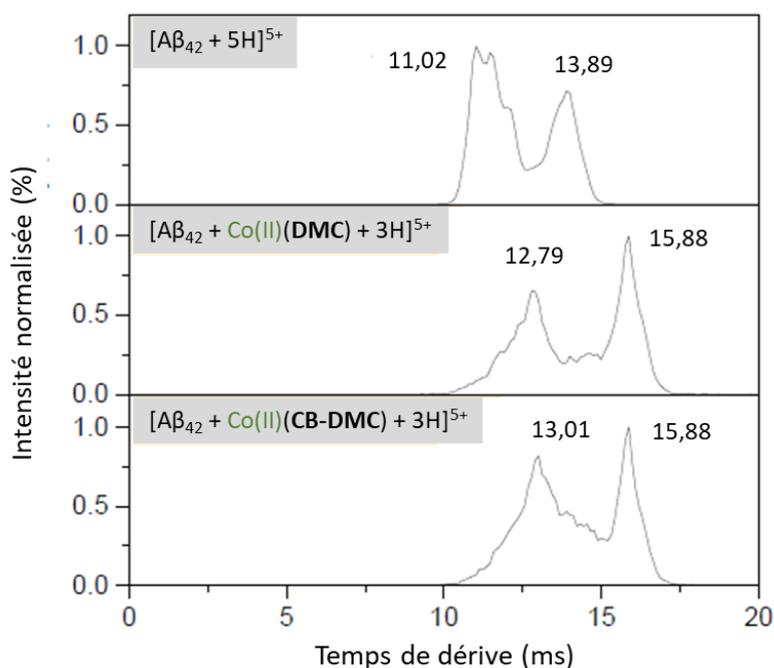


Figure 152. Spectres IM-MS d' $\text{A}\beta_{42}$ incubée seule ou en présence des complexes $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$. Conditions : $\text{A}\beta$:complexe = 1:1 ($[\text{A}\beta] = 100 \mu\text{M}$) ; 20 mM acétate d'ammonium ; incubation 3 h ; dilué 10 fois avant injection.

L'espèce $[\text{A}\beta_{42} + 5\text{H}]^{5+}$, qui sert de référence, présente un spectre sous la forme d'un massif, la protéine adopte donc plusieurs formes conduisant à des temps de dérive compris

entre 11,02 ms et 13,89 ms. Lors de l'ajout de $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et de $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ l'aspect du massif est modifié par rapport à l' $\text{A}\beta_{42}$ seule mais est très similaires pour les deux composés. Deux pics larges sont principalement observés, avec des temps de dérive de 12,79 ms et 15,88 ms dans le cas du $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ et de 13,01 ms et 15,88 ms dans celui du $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$. Ces analyses suggèrent que les structures adoptées par ces adduits sont relativement similaires mais différentes de celle de l' $\text{A}\beta_{42}$ seule. Les deux complexes ont visiblement un effet d'intercalant de l' $\text{A}\beta_{42}$ induisant sa modification structurelle.

Ces expériences d'IM-MS ne permettent toujours pas de porter des conclusions sur les résultats précédemment obtenus avec l'électrophorèse sur gel. En effet, le $[\text{Co}(\text{CB-DMC})]^{2+}$ ne montre aucun effet de modulation de l'agrégation tandis que le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ a une activité relativement intense et les spectres IM-MS montrent un effet équivalent des deux complexes sur la structure de l' $\text{A}\beta_{42}$. Ainsi, il semble que les deux complexes s'intercalent de façon similaire dans le peptide mais que le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ a un effet supplémentaire. D'autres analyses sont nécessaires afin de déterminer si l'activité du $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ est due à une réaction d'hydrolyse, d'oxydation ou de réduction du peptide.

2.2 Expérience de désagrégation

L'activité des complexes de cobalt a également été étudiée vis-à-vis de la désagrégation des peptides. Pour réaliser ces expériences, des échantillons d' $\text{A}\beta_{40}$ ou d' $\text{A}\beta_{42}$ ont été préparés et incubés durant vingt-quatre heures à 37 °C afin de former des agrégats. Les complexes de cobalt y ont ensuite été ajoutés et les échantillons obtenus ont de nouveau été incubés vingt-quatre heures à 37 °C. Les images des membranes après séparation sur gel d'électrophorèse et « western blot » sont présentées Figure 153.

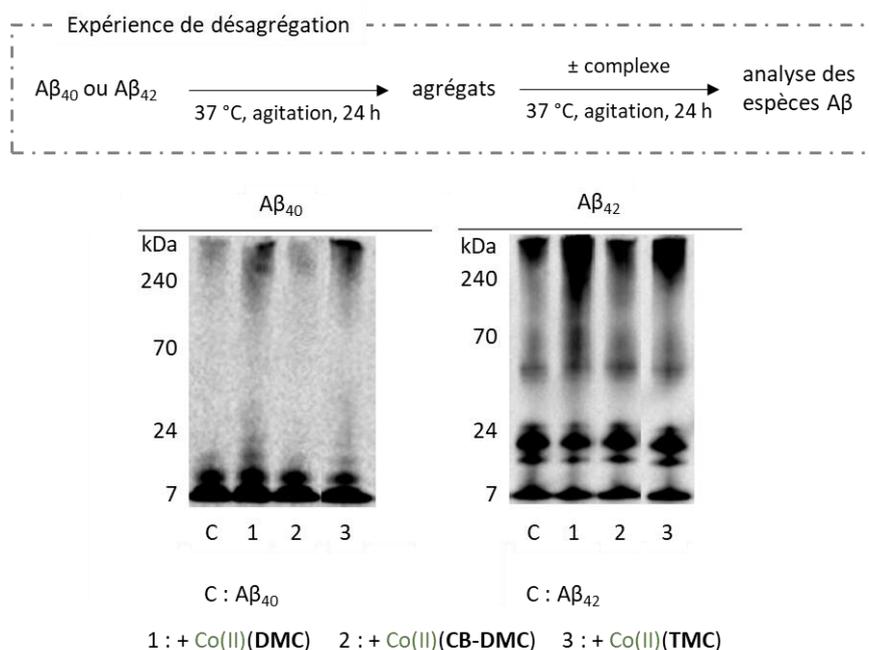


Figure 153. Expériences de désagrégation de l' $A\beta$ par les complexes $[\text{Co(L)}]^{2+}$. Distribution des espèces d' $A\beta$ en fonction de leur masse moléculaire après séparation par électrophorèse sur gel et « western blot ». Conditions : $A\beta$:complexe = 1:1 ($[A\beta] = 25\ \mu\text{M}$) ; tampon HEPES·Na dilué ; pH = 7,4.

Les résultats obtenus pour l'activité de désagrégation des complexes $[\text{Co(L)}]^{2+}$ sont similaires à ceux de l'inhibition de l'agrégation. En effet, pour l' $A\beta_{40}$, les échantillons contenant les complexes $[\text{Co(DMC)}]^{2+}$ et $[\text{Co(TMC)}]^{2+}$ présentent une traînée noire légèrement plus intense que celle observée pour la référence **C**, signe d'une modulation des agrégats. Le complexe $[\text{Co(CB-DMC)}]^{2+}$ n'a, quant à lui, aucun effet. Les expériences réalisées avec l' $A\beta_{42}$ montrent également une traînée noire plus intense en présence du $[\text{Co(DMC)}]^{2+}$ ou du $[\text{Co(TMC)}]^{2+}$ et aucun changement significatif lors de l'ajout de $[\text{Co(CB-TMC)}]^{2+}$.

L'intensité des traînées suggère, une nouvelle fois, que le complexe $[\text{Co(DMC)}]^{2+}$ est plus actif que le $[\text{Co(TMC)}]^{2+}$. Ces deux composés montrent une activité plus importante sur l' $A\beta_{42}$ que sur l' $A\beta_{40}$, aussi bien dans l'expérience d'inhibition de l'agrégation que dans celle de désagrégation, ce qui soulève plusieurs remarques. Tout d'abord, l' $A\beta_{42}$ s'agrège plus que l' $A\beta_{40}$, ce qui induit naturellement des espèces possédant une masse moléculaire plus élevée. Ensuite, il est possible que les complexes $[\text{Co(L)}]^{2+}$ interagissent mieux avec les petits oligomères, plus présents dans les échantillons d' $A\beta_{42}$ (taches noires entre 7 et 24 kDa et proche de 70 kDa). Enfin, les deux peptides adoptent des structures tridimensionnelles différentes ; il n'est pas à exclure que celle de l' $A\beta_{42}$ ait une meilleure affinité avec les complexes. Ces deux dernières hypothèses suggèreraient une spécificité de l'activité des

complexes vis-à-vis de l'Aβ₄₂, ce qui serait particulièrement intéressant dans le développement d'une stratégie thérapeutique.

2.3 Toxicité cellulaire des complexes [Co(L)]²⁺

Afin d'envisager des tests sur des cellules neuronales en présence d'Aβ et des complexes, il a été nécessaire de tester au préalable la toxicité des complexes [Co(L)]²⁺ seuls. Pour cela, des cellules de neuroblaste (SH-SY5Y) ont été incubées durant vingt-quatre heures avec les complexes à différentes concentrations. Ces expériences sont nécessaires afin de déterminer et comparer le seuil de toxicité cellulaire de chaque composé. Les résultats sont regroupés dans les graphiques de la Figure 154. La viabilité cellulaire a été mesurée à l'aide d'un test de fluorescence au MTT et chaque valeur a été normalisée par rapport à des cellules de contrôle, simplement traitées avec de l'eau.

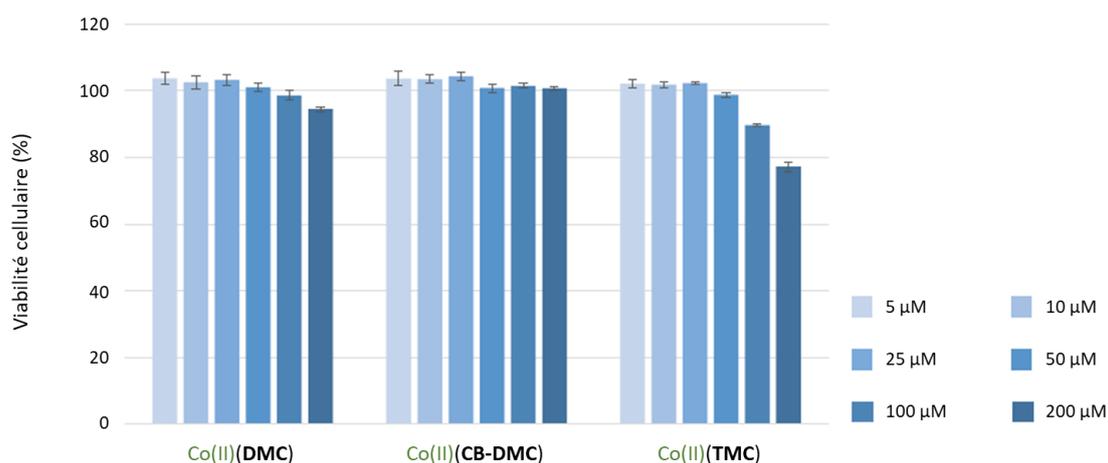


Figure 154. Tests de cytotoxicité des complexes [Co(L)]²⁺. Conditions : [complexe] = 5, 10, 25, 50, 100, 200 μM ; incubation 24 h ; cellules SH-SY5Y ; 37 °C.

Les résultats du complexe [Co(CB-DMC)]²⁺, qui n'a précédemment montré aucune activité d'inhibition de l'agrégation ou de désagrégation, montrent qu'il n'est pas toxique pour les cellules SH-SY5Y jusqu'à une concentration d'au moins 200 μM. Les complexes [Co(DMC)]²⁺ et [Co(TMC)]²⁺, qui ont une activité significative sur l'Aβ, ne présentent pas de toxicité jusqu'à une concentration de 50 μM. Au-delà de cette valeur, les deux complexes deviennent toxiques pour les cellules. Cependant, le [Co(DMC)]²⁺, qui conduit à moins de 10 % de mort cellulaire à 200 μM, se révèle moins toxique que le [Co(TMC)]²⁺ qui va au-delà de 20 % de taux de

mortalité. Ces résultats sont très encourageants car le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ semble être le complexe ayant le plus d'efficacité lors des tests d'activité biologique.

Conclusion du chapitre IV

L'étude des trois séries de composés suit actuellement son cours et n'a pas pu être terminée avant la fin de ce travail de doctorat. Toutefois les résultats obtenus permettent de tirer des premières conclusions intéressantes. L'activité biologique est évaluée selon deux stratégies. La première consiste à utiliser les dérivés de cyclam sous forme de ligands libres afin de piéger le cuivre et le zinc impliqués dans l'agrégation et la toxicité de l'A β . La seconde vise à étudier l'activité des complexes de cobalt de ces mêmes ligands vis-à-vis des peptides et de leurs agrégats, le complexe $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ ayant auparavant démontré une activité d'hydrolyse peptidique particulièrement intéressante.^[4]

A l'heure actuelle, la première stratégie a clairement mis en avant l'activité de modulation de l'agrégation, d'inhibition de la production de ROS et de diminution de la toxicité cellulaire pour les ligands **cyclam**, **DMC**, **TMC**, **cyclam-E**, **DMC-E** et **TMC-E**. Les études réalisées ont confirmé deux limitations à considérer dans le développement de bons agents séquestrants : la cinétique de complexation et l'affinité métal-ligand. Comme cela a été illustré avec la non-activité des ligands **CB-cyclam**, **CB-DMC**, **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E**, la cinétique de complexation doit être suffisamment rapide, de surcroît lorsqu'elle est ralentie par la compétition avec l'A β . La baisse d'efficacité des ligands **DMC-E** et **TMC-E** pour inhiber la production de ROS et la toxicité cellulaire de l'A β -Cu suggère que leur affinité métal-ligand ($p\text{Cu}_{\text{DMC-E}} = 14,1$ et $p\text{Cu}_{\text{TMC-E}} = 14,2$) constitue une limite basse à ne pas dépasser, sous peine de ne plus être en mesure de piéger efficacement le cuivre. L'affinité avec le zinc ($p\text{Zn}$), mesurée au cours du chapitre précédent, semble pour sa part, suffisante pour les six ligands actifs. La C-fonctionnalisation éthylènehydroxy n'a pas conduit à une amélioration significative de l'activité en milieu biologique par rapport aux composés analogues de la série n°1. Ce résultat, au premier abord décevant, pourra cependant être mis à profit de façon très novatrice. Comme cela a déjà été fait pour d'autres applications au laboratoire, la C-fonctionnalisation permettra le développement d'une nouvelle génération d'agents

séquestrants utilisant la fonction alcool pour introduire un groupement de ciblage spécifique de l'A β , sans nuire aux propriétés de base du ligand.

L'étude de l'activité des ligands de la série n°3, dérivés de cyclam *N*-éthylènehydroxy, est, quant à elle, actuellement en cours.

La seconde stratégie a d'ores et déjà apporté une innovation importante par rapport à l'état de l'art. Cependant, comme elle nécessite la préparation préalable des complexes [Co(L)]^{2+/3+}, seule l'étude des complexes [Co(DMC)]²⁺ et [Co(CB-DMC)]²⁺ a pu être abordée à ce jour. Les premiers résultats mettent en avant le complexe [Co(DMC)]²⁺ qui est plus actif et moins toxique pour les cellules que ne l'est le [Co(TMC)]²⁺, complexe de référence à la base de ce projet. Le [Co(CB-DMC)]²⁺ n'a, quant à lui, pas montré d'effet sur l'agrégation des peptides. Ces résultats très positifs et prometteurs restent difficiles à rationaliser et pour l'heure, aucune analyse n'a permis de déterminer le mécanisme d'action du [Co(DMC)]²⁺. D'autres expériences, visant à rechercher si l'activité est due à des réactions d'hydrolyse peptique, seront réalisées par l'équipe du Pr. Lim.

L'étude de l'activité des complexes de Co(II) issus des ligands des série 2 et 3 sont en cours et celle des complexes de Co(III) sera faite par la suite. Parmi les résultats à venir, notre attente se porte sur deux points :

- L'effet de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy sur les interactions entre le complexe et les peptides. Si sa présence ne conduit pas à une amélioration de l'activité, celle-ci pourra avantageusement être utilisée pour la vectorisation des complexes avec un groupement ciblant spécifiquement l'A β .

- L'effet du groupement *N*-éthylènehydroxy, qui conduit à des complexes cobalt-alcoolate ([Co(L-H)]^{+/2+}), sur la réaction d'hydrolyse peptidique. Nous espérons fortement que ces complexes soient en mesure de générer localement des ions hydroxyde en milieu biologique.

Si de nombreuses questions restent en suspens, plusieurs avancées ont été faites au travers de ces premières études qui laissent beaucoup d'espoirs quant aux résultats en attente, mais aussi de nombreuses perspectives.

Conclusion Générale

La maladie d'Alzheimer est une maladie multifactorielle particulièrement complexe. Au cours du chapitre I, nous avons présenté en détail deux lésions admises dans la littérature comme étant au centre du développement de cette maladie : les enchevêtrements neurofibrillaires de protéines tau et les agrégats de peptides amyloïde- β . Dans les travaux rapportés nous nous sommes intéressés à la cascade d'événements causée par l'augmentation de la concentration en peptide A β dans le milieu extracellulaire et le déséquilibre entre ses différentes formes A β_{40} et A β_{42} . La toxicité cellulaire est étroitement liée à la présence anormalement élevée d'ions Cu^{2+} et Zn^{2+} endogènes qui forment des espèces A β -M (M = Cu^{2+} et Zn^{2+}), accélérant le processus d'agrégation et produisant des espèces réactives de l'oxygène. Au regard des nombreuses stratégies thérapeutiques développées au cours des dernières décennies, notre projet de recherche s'est basé sur deux d'entre elles qui nous ont semblé particulièrement importantes. Il s'agit, d'une part, de la thérapie par chélation, qui vise à utiliser des ligands du Cu^{2+} et du Zn^{2+} afin d'inhiber la formation des espèces toxiques A β -M et d'autre part, de l'utilisation de complexes métalliques [M(L)] (M = Cu^{2+} , Zn^{2+} , $\text{Co}^{2+/3+}$) capables de moduler l'agrégation et la toxicité des peptides A β par intercalation ou protéolyse. L'efficacité de ces deux stratégies repose sur la conception de ligands possédant des propriétés de coordination adéquates vis-à-vis des métaux ciblés : une stabilité thermodynamique supérieure à celle de l'A β -M, une inertie cinétique suffisante pour ne pas « relarguer » les cations métalliques piégés dans le milieu, mais également une sphère de coordination incomplète pour pouvoir interagir avec les peptides. Les exemples de ligands mis en avant dans ce premier chapitre ont montré que les macrocycles azotés comme le cyclam présentent des propriétés particulièrement adaptées à ce type d'application.

Cette thèse, financée par Brest Métropole, s'est appuyée sur une collaboration naissante entre notre équipe à l'Université de Bretagne Occidentale et celle du Pr. M. H. Lim au « Korean Advanced Institute of Science and Technology ». En 2017, le laboratoire coréen a démontré l'activité originale des complexes du tétraméthyle-cyclam, [M(TMC)]²⁺ (M = Cu^{2+} , Zn^{2+} et plus particulièrement Co^{2+}) capables d'hydrolyser les peptides A β . L'activité de ces complexes repose sur leur géométrie, leurs interactions avec l'A β ainsi que sur leur capacité à former des complexes métal-hydroxo, [M(TMC)(OH)]⁺, indispensables à l'activité de protéolyse. Dans la continuité de ces travaux, le projet de recherche présenté dans ce

manuscrit visait à étudier d'autres dérivés du cyclam en y apportant des modifications structurales afin de moduler ses propriétés de coordination des cations métalliques et par conséquent son activité biologique. Au total, 14 ligands ont été ciblés et regroupés en 3 séries selon un design bien établi. Il s'agissait tout d'abord de faire varier le nombre et la position des groupements méthyle (**cyclam**, **DMC**, **TMC**) puis de renforcer la structure macrocyclique avec un pont éthylène "cross-bridged" (**CB-cyclam**, **CB-DMC**). Ces modifications devaient permettre de faire varier la géométrie des complexes métalliques formés pour étudier l'influence de celle-ci sur les propriétés de complexation et l'activité biologique. Ensuite, une C-fonctionnalisation éthylènehydroxy a été introduite afin de constituer une série de composés analogues à la première (**cyclam-E**, **DMC-E**, **TMC-E**, **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E**) mais possédant de nouvelles propriétés. Nous devons démontrer que ce groupement supplémentaire n'impactait pas les propriétés chélatantes des ligands et menait seulement à une augmentation de leur hydrophilie grâce à une fonction alcool non-coordinante apportant un atome donneur et un accepteur de liaisons hydrogène. Enfin, nous avons envisagé une série de composés portant un groupement éthylènehydroxy N-fonctionnel (**TE1EtOH**, **TE3MeEtOH**, **CB-TE1EtOH**, et **CB-TEMeEtOH**). Dans cette position, l'alcool a été décrit dans la littérature comme un groupement coordonnant, susceptible de conduire à la formation d'un complexe métal-**alcoolate** avec le zinc et le cobalt. Il s'agit donc de ligands pentadentates, ayant une sphère de coordination incomplète et dont les propriétés pourraient se rapprocher de celles des complexes métal-**hydroxo** recherchés. L'ensemble de ces modifications structurales devaient permettre, au terme du projet, de mieux appréhender le rapport entre structure/géométrie, propriétés physicochimiques et activité biologique.

L'obtention de ces ligands a nécessité la mise au point de voies de synthèses pour les deux séries C- et N-fonctionnalisées par un groupement éthylènehydroxy. Nous avons ainsi mis à profit diverses stratégies en s'appuyant sur les outils développés au laboratoire en chimie macrocyclique (cyclisation, protection/fonctionnalisation régiospécifique...) associés à des méthodologies classiques de la chimie organique. La préparation des dérivés méthylés et renforcés du cyclam-EtOH avait déjà été initiée par Nathalie Camus lors de sa thèse au laboratoire, cependant, elle n'avait jamais été réalisée en grande quantité. Ses recherches avaient également mis en avant la formation de plusieurs isomères avec les composés "cross-bridged" C-fonctionnels, sans que ceux-ci n'aient pu être clairement identifiés. La synthèse

des dérivés mono-*N*-éthylènehydroxy de la série 3 reposait, elle aussi, sur une stratégie de fonctionnalisation régiospécifique mais peut-être plus abordable sans la *C*-fonctionnalisation. Leur structure laissait cependant supposer que la manipulation de ces ligands, très polaires, serait particulièrement laborieuse, ce qui a été l'un des principaux défis à relever.

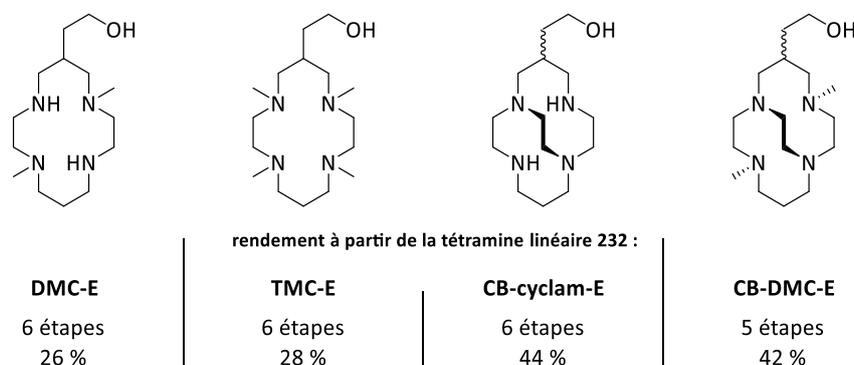


Figure 155. Bilan des voies de synthèse des ligands de la série n°2 à partir de la tétramine linéaire 232 commerciale.

Parmi les ligands *C*-fonctionnels (Figure 155), les ligands **DMC-E** et **TMC-E** ont été obtenus avec succès en 6 étapes à partir de la tétramine linéaire commerciale grâce à l'adaptation au **cyclam-E** des voies de synthèse habituellement utilisées avec le **cyclam** basées sur la chimie des bisaminals. La préparation des ligands **CB-cyclam-E** et **CB-DMC-E**, elle aussi mettant à profit les intermédiaires bisaminals, a conduit à l'obtention de deux diastéréoisomères, *syn* et *anti*, définis par la position relative du pont éthylène "cross-bridged" et de la *C*-fonctionnalisation. Les analyses RMN de ces deux composés ont permis d'identifier les deux configurations et aucune isomérisation de l'une en l'autre n'a été observée.

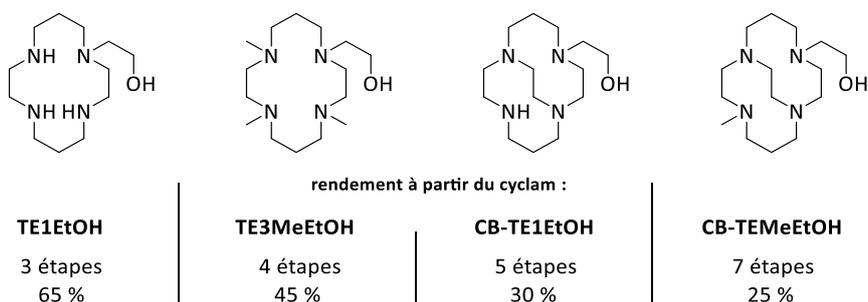


Figure 156. Bilan des voies de synthèse des ligands de la série n°3 à partir du cyclam.

Dans la famille des ligands *N*-fonctionnalisés (Figure 156), le **TE1EtOH** a été obtenu en 3 étapes *via* la protection du cyclam avec trois groupements butoxycarbone (Boc), puis la fonctionnalisation de l'amine secondaire restée libre par le 2-bromoéthanol. La méthylation

conduisant au **TE3MeEtOH** a été réalisée par une réaction de Eschweiler-Clarke. L'obtention difficile de ce ligand triméthylé a révélé la formation de liaisons hydrogène entre l'alcool et les amines du macrocycle, ralentissant la réaction. Les voies de synthèse des deux ligands renforcés, **CB-TE1EtOH** et **CB-TEMeEtOH**, ont nécessité plusieurs améliorations successives pour aboutir à des rendements convenables. En effet, la complexité de ces ligands réside dans leur très forte polarité, rendant leur purification sur colonne chromatographique particulièrement laborieuse. Pour pallier cette difficulté, l'insertion du groupement éthylènehydroxy a dû être réalisée à partir d'un alcool protégé par un groupement hydrophobe (TBDMS). Au terme de nos recherches, le **CB-TEMeEtOH** a été obtenu selon une voie de synthèse originale basée sur une succession de réactions d'alkylation régiospécifiques ne nécessitant qu'une seule purification sur colonne chromatographique lorsque la fonction alcool est encore protégée.

Finalement, excepté pour le **CB-TE1EtOH** dont la synthèse doit encore être améliorée, les chemins réactionnels développés permettent à présent la préparation de chacun des ligands ciblés à l'échelle du gramme.

Dans le but d'utiliser les ligands comme potentiels agents séquestrants pour la chélation du Cu^{2+} et du Zn^{2+} en milieu biologique, l'ensemble des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ et $[\text{Zn}(\text{L})]^{2+}$ a été synthétisé et leurs propriétés physicochimiques caractérisés au sein de notre laboratoire, en amont des tests biologiques. Nous avons étudié leur structure pour mesurer l'effet des différents groupements introduits sur leurs propriétés thermodynamiques afin de s'assurer qu'ils possèdent des constantes de formation supérieures à celles de l'A β -M et qu'ils forment des complexes métal-**hydroxo**. Enfin leur inertie cinétique a été évaluée pour contrôler que les complexes métalliques ne dissocient pas en milieu biologique après avoir été formés.

Les complexes métalliques des dérivés du cyclam peuvent adopter plusieurs configurations, *trans*-I, *trans*-III et *cis*-V ainsi que plusieurs géométries octaédrique, pyramidale à base carrée, bipyramidale à base triangulaire. Nous avons ainsi cherché à identifier pour chacun des composés les configurations et géométries formées après complexation des métaux ciblés. Les complexes $[\text{Zn}(\text{L})]^{2+}$ ont fait l'objet d'analyses de RMN combinées aux calculs de DFT qui ont permis de distinguer et de quantifier les configurations

présentent en solution. Le $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$ et le $[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$ ont été obtenus sous la forme de deux diastéréoisomères, *syn* et *anti*, identifiés grâce à l'obtention d'une structure par diffraction des rayons-X et confortée par des calculs de DFT.

La géométrie des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ a, quant à elle, été déterminée à l'aide d'analyses de RPE et de spectroscopie UV-Visible. Les complexes des ligands renforcés "cross-bridged", qui ne peuvent adopter qu'une configuration *cis-V*, ont montré une particularité. Deux géométries différentes de type ML_5 ont été observées selon la nature du contre-ion complétant la sphère de coordination : pyramidale à base carrée lorsqu'il s'agit d'un ion chlorure et bipyramidale à base triangulaire dans le cas d'une molécule d'eau. Dans l'ensemble, les analyses structurales ont permis de démontrer que les complexes métalliques des ligands C-fonctionnalisés possèdent des caractéristiques relativement proches de leurs analogues dérivés du cyclam.

Après des études structurales, les complexes de Cu^{2+} et Zn^{2+} du **DMC**, **DMC-E**, **TMC** et **TMC-E** ont été étudiés par potentiométrie afin de déterminer leurs constantes de stabilité thermodynamique et de calculer leur affinité métal-ligand (pM). En combinant les études rapportées dans la littérature à celles réalisées au cours de nos travaux, l'ensemble des données thermodynamiques des ligands non-renforcés avec le Cu^{2+} et le Zn^{2+} a pu être regroupé pour permettre une étude de tendance.

Pour tous les ligands, la stabilité thermodynamique des complexes de cuivre est très supérieure à celle des complexes de zinc. Cet effet était attendu puisque le cyclam et ses dérivés ont une cavité macrocyclique particulièrement bien adaptée au rayon ionique du Cu^{2+} . Dans le cas des ligands tétradentates, la méthylation et la présence de la C-fonctionnalisation ont pour effet de diminuer l'affinité métal-ligand en raison de la diminution de la basicité des amines et de la déformation géométrique du complexe. Pour les deux ligands *N*-éthylènehydroxy, pentadentate, la méthylation conduit de façon assez inattendue à l'augmentation de l'affinité métal-ligand. Les valeurs de $p\text{Cu}$ sont comprises entre 20,4 (**cyclam**) et 11,2 (**TE1EtOH**) et celles de $p\text{Zn}$ entre 9,2 (**cyclam**) et 6,1 (**TE1EtOH**). Ces valeurs de pM sont satisfaisantes puisque nous recherchions des ligands dont l'affinité métal-ligand soit supérieure à celles métal- $\text{A}\beta$ ($p\text{Cu}_{\text{A}\beta} \approx 11$ et $p\text{Zn}_{\text{A}\beta} \approx 6$).

En plus des constantes de stabilité thermodynamique, les études de potentiométrie ont permis de mesurer les constantes de formation des complexes métal-hydroxo, lorsqu'ils ont été observés. Les complexes de cuivre présentent des valeurs thermodynamiques élevées, $\log K_{\text{Cu(L)(OH)}} > 10,5$, par conséquent il y a peu de chance qu'ils se forment en milieu biologique à pH 7,4. Cependant, les complexes de zinc ont montré des valeurs de $\log K$ plus proches du pH physiologique (7,4), comprises entre 8,1 et 8,7. Les espèces $[\text{Zn(L)(OH)}]^+$ sont donc susceptibles de se former en milieu biologique une fois le Zn^{2+} complexé.

Les quatorze complexes $[\text{Cu(L)}]^{2+}$ ont ensuite fait l'objet d'études cinétiques au travers d'un suivi de dissociation en milieu acide assisté par spectroscopie UV-Visible afin de déterminer leur temps de demi-vie ($t_{1/2}$). Les macrocycles azotés sont reconnus pour leur grande inertie cinétique, cependant, celle-ci est généralement diminuée lors de leur *N*-alkylation, en raison de l'effet engendré par l'encombrement stérique. L'influence de la C-fonctionnalisation du cyclam en position β des atomes d'azote sur le temps de demi-vie n'avait, quant à lui, jamais été étudié. Les analyses ont permis de démontrer que la présence du groupe C-fonctionnel conduit, dans notre cas, à une augmentation de l'inertie cinétique des complexes. Une fois di-*N*-méthylé et tétra-*N*-méthylé la diminution de leur inertie a été confirmée. Comme cela avait déjà été rapporté dans la littérature, la rigidification du ligand avec un pont éthylène "cross-bridged" apporte une importante amélioration de l'inertie cinétique ; celle-ci est tellement importante qu'elle n'est que très peu impactée par la présence de la C-fonctionnalisation ou des groupements *N*-méthyle. Enfin, les composés *N*-fonctionnalisés par un groupement éthylènehydroxy, **TE1EtOH** et **TE3MeEtOH**, ont montré une inertie cinétique plus faible que le **cyclam** alors que celle des composés renforcés, **CB-TE1EtOH** et **CB-TE3MeEtOH** est largement supérieure à tous les autres composés étudiés. Toutes les valeurs de $t_{1/2}$ obtenues pour nos ligands sont supérieures à celle du $[\text{Cu(TMC)}]^{2+}$ dont l'inertie cinétique s'est révélée suffisante lors des tests *in vitro*, par conséquent, aucun problème de relargage des cations métalliques ne devrait être rencontré lors des tests biologiques.

L'activité biologique des ligands des séries 1 et 2 a été étudiée sur l' $\text{A}\beta_{42}$ -M ($\text{M} = \text{Cu}^{2+}$ et Zn^{2+}). Les quatre dérivés "cross-bridged" ont été utilisés en tant que « contrôles », en effet, nous avons anticipé que leur cinétique de complexation serait trop lente pour aboutir à un effet en milieu biologique. Leur passivité, observée au cours des différentes expériences, a

confirmé l'importance de la cinétique et a validé que l'activité des autres dérivés est bien due à la chélation des métaux qui été recherchée. Ainsi, les ligands non-renforcés, **cyclam**, **DMC**, **TMC** et **cyclam-E**, **DMC-E**, **TMC-E** ont montré leur capacité à piéger le cuivre et le zinc complexés par le peptide, pour former les complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ et $[\text{Zn}(\text{L})]^{2+}$. Cela a pour effet d'inhiber l'agrégation de l' $\text{A}\beta_{42}$ -M en rendant aux fibrilles leur structure initiale. La formation des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ conduit à une inhibition de la production de ROS et par conséquent une inhibition de la toxicité cellulaire de l' $\text{A}\beta$ -Cu. Les ligands **DMC-E** et **TMC-E** présentent une moins bonne efficacité que les autres ligands ; elle peut être logiquement corrélée à leur valeur plus basse d'affinité métal-ligand pCu. L'affinité pZn des six ligands est, quant à elle, satisfaisante ; aucune différence n'a été observée entre les dérivés du cyclam et ceux C-fonctionnalisés. La formation des complexes $[\text{Zn}(\text{L})]^{2+}$ conduit à une inhibition totale de la toxicité de l' $\text{A}\beta$ -Zn mais également à une diminution de la toxicité de l' $\text{A}\beta$.

L'absence d'effet émanant de la C-fonctionnalisation éthylènehydroxy offre de nouvelles perspectives pour la conception des ligands dans cette stratégie de thérapie par chélation. En effet, les propriétés physicochimiques des complexes des ligands C-fonctionnalisés sont relativement proches de celles des complexes issus de la série n°1. Par conséquent, le laboratoire envisage d'ores et déjà d'utiliser la C-fonctionnalisation pour introduire un groupement ciblant spécifiquement l' $\text{A}\beta$ pour des études *in vivo*. Les petites molécules telles que celles présentées dans le chapitre I (dérivés du PIB, du stilbènes ou encore de la curcumine) pourraient être conjuguées au ligand afin de renforcer les interactions avec l' $\text{A}\beta$, tout en conservant, comme démontré, les propriétés de chélation des métaux. Deux options sont actuellement à l'étude au laboratoire (Figure 157).

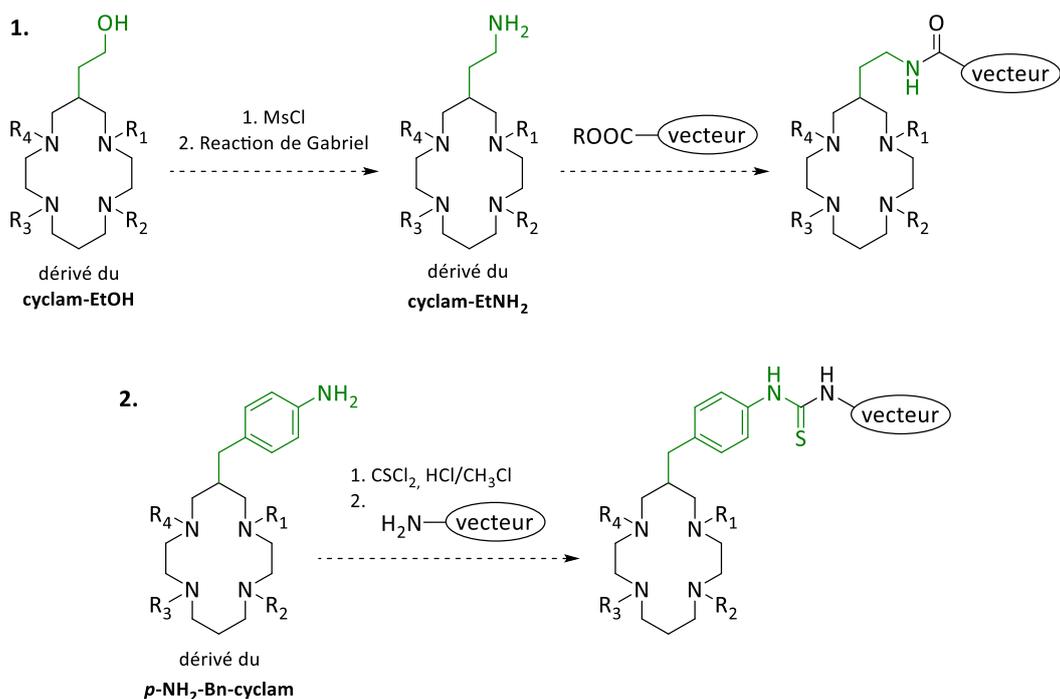


Figure 157. Technique de vectorisation des ligands C-fonctionnalisés envisagés.

La première stratégie repose sur la transformation de la fonction alcool en fonction amine primaire, qui peut être utilisée pour la conjugaison avec une molécule dérivée d'acide carboxylique. La voie de synthèse du **cyclam-EtNH₂** a été mise au point par le Dr. N. Camus au cours de sa thèse et nous l'avons synthétisé à l'échelle du gramme au cours de ce projet.^[204]

Le principal défi de synthèse réside dans le fait que la conversion de la fonction alcool en amine primaire ne peut pas être réalisée en présence de n'importe quels groupements R_i.

La seconde stratégie vise à utiliser un autre cyclam C-fonctionnalisé, le ***p*-NH₂-Bn-cyclam**, dont le groupement C-fonctionnel est déjà largement employé au laboratoire pour les applications en thérapie et diagnostic du cancer. Le ***p*-NH₂-Bn-cyclam** a été obtenu et caractérisé au cours de nos travaux et une voie de synthèse permettant d'obtenir le dérivé diméthyle a d'ores et déjà été développée. La présence d'une fonction réactive sur le groupement C-fonctionnel (aniline) ne nous a, pour l'instant, pas permis d'obtenir le dérivé tétraméthylé.

Les 3 séries de ligands étudiées au cours cette thèse vont également être associées au Co²⁺ et au Co³⁺ afin de tester l'activité biologique de leurs complexes sur l'agrégation des peptides Aβ₄₀ et Aβ₄₂. A l'heure actuelle, seule l'étude des complexes [Co(DMC)]²⁺ et [Co(CB-DMC)]²⁺ a pu être abordée. Les premiers résultats viennent conforter l'intérêt que le laboratoire porte à cette stratégie thérapeutique innovante. En effet, le complexe

$[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ présente une meilleure activité et une plus faible toxicité cellulaire que le complexe de référence, le $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$. Aucune analyse n'a permis de déterminer les mécanismes mis en jeu dans cette activité biologique, cependant, les études de chimie de coordination de ces deux composés laissent supposer un premier rapport entre structure, propriétés et activité. Les deux composés présentent des configurations stables différentes, *trans-I* pour le $[\text{Co}(\text{TMC})]^{2+}$ et *cis-V* pour le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$, ainsi que des constantes de formation du complexe métal-hydroxo légèrement différentes, $\log K_{\text{Co}(\text{TMC})(\text{OH})} = 8,2$ et $\log K_{\text{Co}(\text{DMC})(\text{OH})} = 8,0$. La possibilité pour le $[\text{Co}(\text{DMC})]^{2+}$ d'accueillir deux atomes coordinants supplémentaires ainsi que le pKa plus bas son complexe métal-hydroxo pourraient expliquer sa meilleure efficacité.

Cette stratégie thérapeutique étant peu développée, l'étude de l'activité biologique des complexes de cobalt soulève actuellement plus d'interrogations qu'elle n'apporte de réponses. Néanmoins, les résultats préliminaires sont très prometteurs et laissent présager que des découvertes intéressantes sont encore à venir. Les perspectives sur ce projet sont nombreuses, il est possible d'envisager, ici aussi, la vectorisation des complexes par la C-fonctionnalisation. Cependant, il est indispensable de pouvoir rationaliser les résultats avant d'envisager la conception de nouveaux ligands au laboratoire.

Experimental Section

Reagent and solvents.

All the reagents used for the synthesis were purchased from SIGMA-ALDRICH®, TCI chemicals®, ACROS ORGANICS®, and used without further purification. 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane was purchased from Chematec®. Water was deionized before used and the organic solvents were obtained from a purification system.

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.

¹H, ¹³C and 2D NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 500 (500 MHz for ¹H and 125 MHz for ¹³C), Bruker Avance III HD 500 (500 MHz for ¹H and 125 MHz for ¹³C), Jeol JNM-LA400 (400 MHz for ¹H and 100 MHz for ¹³C) or a Bruker DRX 300 (300 MHz for ¹H and 75 MHz for ¹³C) spectrometers, in the deuterated solvent indicated purchased from Eurisotop®. The δ scales are relative to TMS and chemical shifts are reported in ppm. Splitting patterns are designated as follow: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet), br (broad).

Mass Spectrometry.

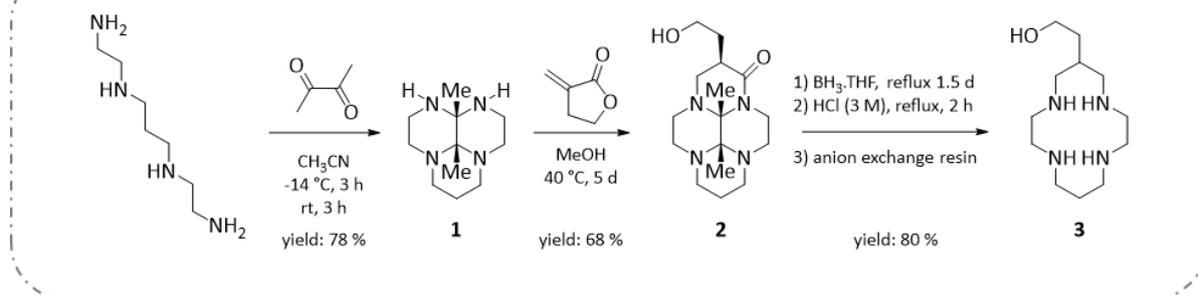
(Orléans) High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS) analyses were performed by Cyril Colas from the Institute of Organic and Analytic Chemistry (ICOA Orléans) on a HRMS Q-ToF MaXis, sources ESI, APCI, APPI, nano-ESI.

(Brest) Mass Spectrometry analyses were performed by Nelly Kervarec from the “Services communs” of the University of Brest on a Waters Synapt XS, source ESI.

Electronic Paramagnetic Resonance.

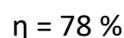
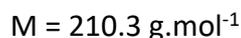
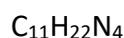
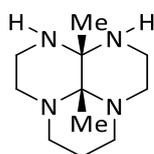
Spectra of frozen solutions were acquired between 140 and 150 K on a Bruker EMX 300 spectrometer operating in the X band and equipped with a continuous-flow cryostat for liquid nitrogen, at a microwave power of 2.0 mW and a frequency of 9.31 GHz. Simulations of the experimental spectra were performed with the SpinCount software (R. Delgado - Lisbon)^[257] or Easyspin^[255] and Simultispin^[256] software (Brest).

Synthesis of cyclam-EtOH (3)



Compound 1.

***cis*-232-butanedione**

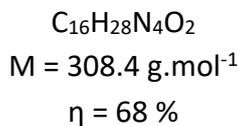
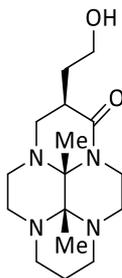


9a,9b-cis-dimethyloctahydro-1H,4H,7H-1,3a,6a,9-tetraazaphenalene

General procedure: a solution of butanedione (2.68 g, 2.74 mL, 31.2 mmol) in 30 mL of CH_3CN is added dropwise to a solution of 232-tetramine (*N,N'*-bis(2-aminoethyl)-1,3-propanediamine) (5.00 g, 31.2 mmol) in 170 mL of CH_3CN at $-14^\circ C$. The mixture was stirred 3 h at this temperature and then 3 h at room temperature. After concentrating to 70 % of initial volume in vacuo, resulting precipitate was filtered out and washed with cold CH_3CN . This process has been repeated 3 times. The precipitate was dried under vacuum. **Compound 1** was obtained as a white powder (5.10 g, 78 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 298 K): $\delta = [73.3, 68.1]$ ($N-C(CH_3)-N$), [51.1, 49.0, 46.6, 45.6, 42.0, 39.2] ($CH_2-\alpha-N$), 23.6 (CH_3), 18.3 ($CH_2-\beta-N$), 10.7 ppm (CH_3).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, 298 K): $\delta = 3.56-3.51$ (m, 1H), 3.29-3.06 (m, 3H), 2.87-2.85 (m, 1H), 2.71-2.64 (m, 1H), 2.56-2.15 (m, 9H), 1.34 (s, 3H, CH_3), 1.26 (s, 3H, CH_3), 1.14-1.11 ppm (m, 1H).

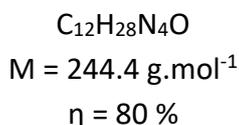
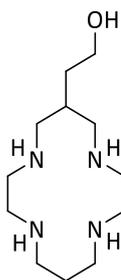
Compound 2.***cis/syn-oxo-cyclam-EtOH-butanedione***

2-(2-hydroxyethyl)-10b,10c-cis-dimethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren-1-one

General procedure: a solution of α -methylene- γ -butyrolactone (3.00 mL, 3.60 g, 36.4 mmol) in 30 mL of MeOH was added dropwise to a solution of **compound 1** (5.10 g, 24.3 mmol) in 120 mL of MeOH at rt. The mixture was stirred 5 d at 40 °C. Solvent was removed under reduced pressure. 50 mL of NaOH (3 M) was added on the brown oil obtained and the mixture was stirred at rt overnight. Aqueous layer was extracted with CHCl_3 (4 x 60 mL) and combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered and dried under reduced pressure. The resulting solid was recrystallized in toluene/hexane 1:1 to obtain **compound 2** as off white crystals (5.00 g, 68 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 173.7$ (C=O), [76.2, 73.4] (N-C(CH₃)-N), 61.7 (CH₂- α -OH), [51.1, 49.4, 49.0, 46.8, 46.2, 43.7, 38.7] (CH₂- β -N), 34.2 (CH- β -N), 32.6 (CH₂- β -OH), 25.2 (CH₃), 17.8 (CH₂- β -N), 11.1 ppm (CH₃).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 4.82$ (br s, 1H), 4.39-4.34 (m, 1H), 3.81-3.70 (m, 2H), 3.67-3.62 (m, 1H), 3.31-3.21 (m, 3H), 2.91-2.79 (m, 3H), 2.72-2.49 (m, 5H), 2.40-2.34 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 1H), 1.93-1.83 (m, 1H), 1.55 (s, 3H, CH₃), 1.49-1.43 (m, 1H), 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.21-1.17 ppm (m, 1H).

Compound 3.***cyclam-EtOH***

2-(1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-6-yl)ethanol

General procedure: under nitrogen atmosphere, a solution of $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (1 M, 50.00 mL, 50.0 mmol) was added dropwise to a solution of **compound 2** (4.00 g, 13.0 mmol) in 30 mL of THF. The solution was stirred 2 h at rt and then 1.5 d at reflux. After cooling down, EtOH was added to quench excess of BH_3 . Solvent was evaporated under reduced pressure, HCl (3 M, 60 mL) was added on the residue obtained and the mixture was heated at reflux for 2 h. Aqueous layer was washed with CH_2Cl_2 (5 x 20 mL) and evaporated under reduced pressure. MeOH was then added and the solution was evaporated (3 x 25 mL) to remove methyl borane. Solid obtained was finally wash with EtOH and dried under vacuum to obtain hydrochloride salt of compound 3 as white powder. To obtain free base, the salt was dissolved in small amount of water and subjected to an anion exchange resin (Dowex® 1X2, 100-200 mesh). **Compound 3** is obtained as white powder (2.54 g, 80 %).

Hydrochloride salt:

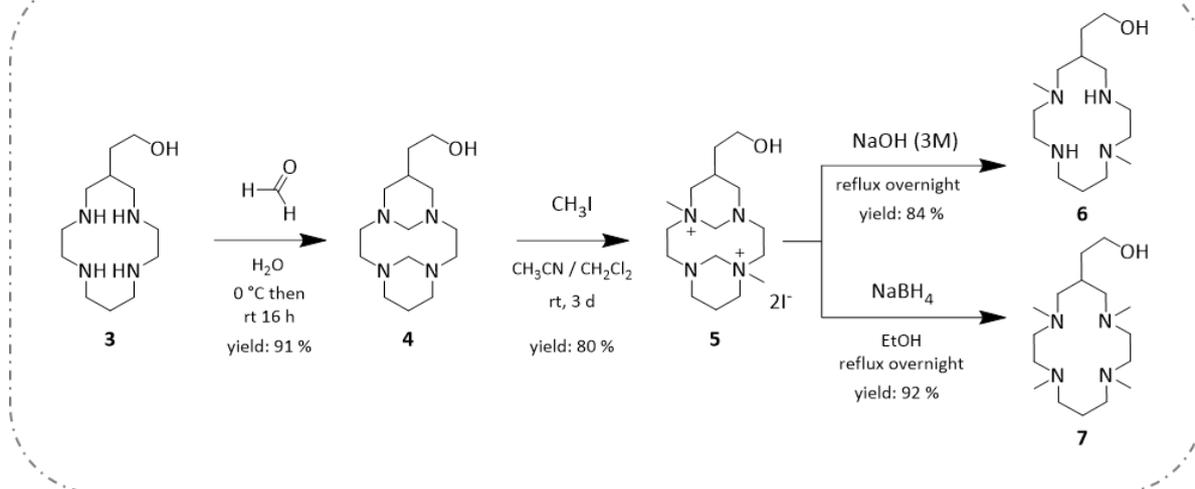
^{13}C Jmod NMR (75 MHz, D_2O , 298 K): $\delta = 61.4$ ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), [50.4, 45.0, 43.0, 42.4] ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$), 35.4 ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$), 31.9 ($\text{CH-}\beta\text{-N}$), 22.2 ppm ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$). **^1H NMR (300 MHz, D_2O , 298 K):** $\delta = 3.72$ (t, $J = 3.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), 3.51-3.44 (m, 8H), 3.36 (t, $J = 1.8$ Hz, 5.4 Hz, 4H), 3.28 (d, $J = 5.1$ Hz, 4H), 2.51-2.48 (m, 1H), 2.18-2.15 (m, 2H), 1.75 ppm (q, $J = 4.5$ Hz, 2H).

Free base:

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 58.9$ ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), [53.9, 49.8, 48.4] ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$), 35.4 ($\text{CH-}\beta\text{-N}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$), 28.5 ppm ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$). **^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 298 K):** $\delta = 3.65\text{-}3.61$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), 2.82-2.59 (m, 21H), 2.01 (m, 1H), 1.77-1.70 (m, 2H), 1.70-1.64 ppm (m, 2H).

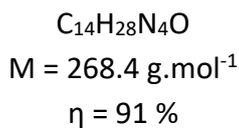
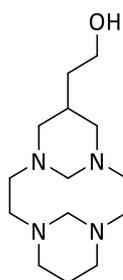
HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}^+$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 245.2336, found 245.2339, calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}^+$ [$\text{M}+2\text{H}$] $^{2+}$ 123.1204, found 123.1209.

Synthesis of DMC-EtOH (6) & TMC-EtOH (7)



Compound 4.

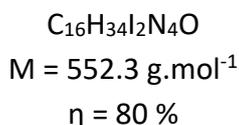
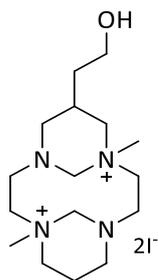
cyclam-EtOH-bisformyle



2-(1,4,8,11-tetraazatricyclo[9.3.1.1]^{4,8}hexadec-6-yl)ethanol

General procedure: at 0 °C, a solution of formaldehyde 37 % in H₂O (0.72 mL, 9.8 mmol) was quickly added to a solution of **compound 3** (1.00 g, 4.1 mmol) in 30 mL of H₂O. The temperature was slowly warmed up to room temperature and the mixture was stirred overnight. The solution was concentrated under vacuo and NaOH pellets were added until pH > 12. Aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 30 mL). The combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and dried under reduced pressure to give **compound 4** as brown oil (1.00 g, 91 %).

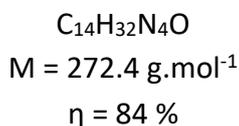
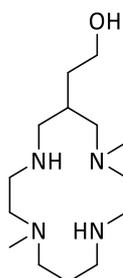
¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [68.6, 68.4]$ (N-CH₂-N), [60.0, 59.2, 53.5, 49.5, 49.1] (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 35.3 (CH₂- β -OH), 25.9 (CH- β -N), 20.0 ppm (CH₂- β -N). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K):** $\delta = 5.46$ (d, J = 12.0 Hz, 1H, N-CH₂-N), 5.38 (d, J = 12.0 Hz, 1H, N-CH₂-N), 3.62 (t, J = 6.0 Hz, 2H, CH₂OH), 3.20-3.08 (m, 5H), 2.91-2.80 (m, 7H), 2.62 (td, J = 12.0, 3.0 Hz, 2H), 2.47-2.33 (m, 5H), 2.27-2.17 (m, 3H), 1.35-1.29 (m, 2H), 1.21-1.16 ppm (m, 1H).

Compound 5.**2Me-cyclam-EtOH-bisformyle.2I**

2-(1,8-dimethyl-4,11-diaza-1,8-diazoniatricyclo[9.3.1.1^{4,8}]hexadec-6-yl)ethanol diiodide

General procedure: compound 4 (1.40 g, 5.2 mmol) was dissolved in an anhydrous mixture of CH₃CN/CH₂Cl₂ 2:1 (30 mL) and methyl iodide (1.30 mL, 20.9 mmol) was quickly added. The solution was stirred at rt 3 d. The white precipitate formed was then filtered, washed with a small quantity of the same mixture of CH₃CN/CH₂Cl₂ and dried under vacuum to give **compound 5** as a white powder (2.30 g, 80 %).

¹³C Jmod NMR (75 MHz, D₂O, 298 K): δ = [79.4, 79.2] (N-CH₂-N), [70.6, 66.5, 61.3, 59.3, 54.3, 53.5, 53.4, 49.9, 49.8] (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 50.7 (2 CH₃), 35.1 (CH₂- β -OH), 30.1 (CH- β -N), 22.4 ppm (CH₂- β -N). ¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K): δ = 5.41-5.32 (m, 2H), 4.56-4.43 (m, 2H), 3.70-3.62 (m, 5H), 3.51-3.38 (m, 6H), 3.19 (s, 3H, CH₃), 3.18 (s, 3H, CH₃), 3.12-3.02 (m, 3H), 2.97-2.87 (m, 3H), 2.79-2.71 (m, 1H), 2.66-2.47 (m, 2H), 2.37-2.25 (m, 1H), 1.93-1.88 (m, 1H), 1.59-1.53 ppm (m, 2H).

Compound 6.**DMC-EtOH**

2-(1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-6-yl)ethanol

General procedure: compound 5 (1.70 g, 3.7 mmol) was dissolved in 25 mL of NaOH solution (3 M). The mixture was stirred overnight at reflux. After cooling down, the aqueous layer was

extracted with CHCl_3 (4 x 50 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO_4 , filtered and dried under reduced pressure to give **compound 6** as yellow oil (0.85 g, 84 %).

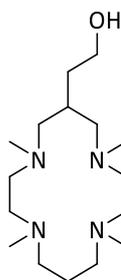
^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = [60.5, 58.7, 57.4, 56.5, 56.3, 52.0, 49.2, 47.0, 46.3] (CH_2 - α -N, CH_2 - α -OH), [42.7, 41.6] (CH_3), 35.5 (CH_2 - β -OH), 32.9 (CH - β -N), 25.7 ppm (CH_2 - β -N).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = 3.41 (br s, 3H, NH, OH), 3.71-3.55 (m, 2H, CH_2 - α -OH), 2.94 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H), 2.78-2.28 (m, 15H), 2.23 (s, 3H, CH_3), 2.19 (s, 3H, CH_3), 1.98 (dd, J = 12.0, 3.0 Hz, 1H), 1.86-1.79 (m, 1H), 1.72-1.61 (m, 2H), 1.57-1.48 ppm (m, 1H).

HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 273.2649, found 273.2650, calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ 137.1361, found 137.1364.

Compound 7.

TMC-EtOH



$\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}$
 $M = 300.5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 $\eta = 92 \%$

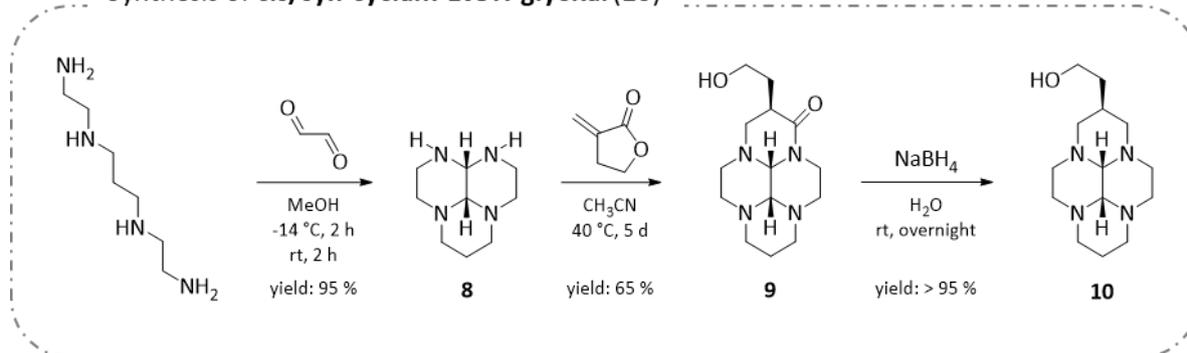
2-(1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-6-yl)ethanol

General procedure: **compound 5** (1.10 g, 2.0 mmol) was dissolved in a mixture of EtOH/ H_2O 95/5 (100 mL). NaBH_4 (0.76 g, 20 mmol) was added and the mixture was stirred 30 min at rt then overnight at reflux. The solvent was removed under reduced pressure and the obtained residue was dissolved in 20 mL of H_2O . NaOH pellets was added until $\text{pH} > 12$ and aqueous layer was extracted with CHCl_3 (4 x 50 mL). Combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered and dried under reduced pressure to give **compound 7** as colorless oil (0.55 g, 92 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): δ = [61.9, 61.1, 53.9, 53.6, 52.5] (CH_2 - α -N, CH_2 - α -OH), 43.4 (2 CH_3), 38.1 (CH_2 - β -OH), 34.9 (CH - β -N), 24.1 ppm (CH_2 - β -N). **^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 298 K):** δ = 3.61-3.58 (m, 2H, CH_2 - α -OH), 2.70-2.44 (m, 11H), 2.32-2.22 (m, 4H), 2.26 (s, 6H, CH_3), 2.18 (s, 6H, CH_3), 2.09-2.03 (m, 2H), 1.90-1.84 (m, 1H), 1.67-1.57 (m, 2H), 1.49-1.43 ppm (m, 2H).

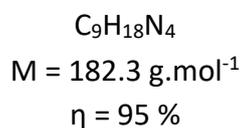
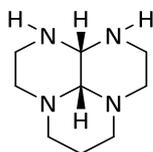
HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 301.2962, found 301.2963, calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ 151.1517, found 151.1522.

Synthesis of *cis/syn*-cyclam-EtOH-glyoxal (**10**)



Compound 8.

cis-232-glyoxal



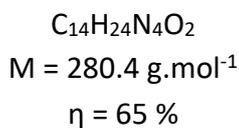
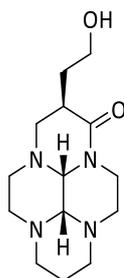
cis-octahydro-1H,4H,7H-1,3a,6a,9-tetraazaphenalene

General procedure: *N,N'*-bis(2-aminoethyl)-1,3-propanediamine (10.00 g, 62.4 mmol) was solubilized in MeOH (350 mL). The solution was cooled to -14 °C and glyoxal (37% in water, 9.05 g, 62.4 mmol) in MeOH (50 mL) was added very slowly. Once the addition was achieved (about 2 h), the reaction mixture was stirred at rt for 2 h. Solvent evaporation under reduced pressure at rt gave a clear oil which was dissolved in ethyl acetate (80 mL) to precipitate polymers. The filtrate was evaporated under vacuum at rt. Traces of water were removed by azeotropic distillation with EtOH to give **compound 8** as a white solid (10.80 g, 95 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = [77.0, 66.9]$ (N-CH-N), 19.4 ppm (CH_2 - β -N).

(coalescence phenomenon in the range of CH_2 - α -N signals).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 3.57$ (d, $J = 3$ Hz, 1H), 3.06-2.99 (m, 3H), 2.83-2.45 (m, 8H), 2.15-2.09 (m, 3H), 1.87 (br s, 2H), 1.13-1.09 ppm (m, 1H).

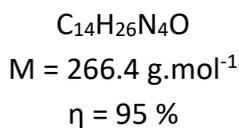
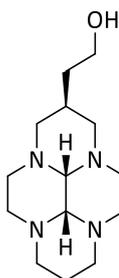
Compound 9.***cis/syn-oxo-cyclam-EtOH-glyoxal***

2-(2-hydroxyethyl)-10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren-1-one

General procedure: A solution of α -methylene- γ -butyrolactone (0.42 mL, 5.1 mmol) in CH_3CN (5 mL) was added dropwise to a solution of **compound 8** (0.89 g, 4.9 mmol) in CH_3CN (30 mL) and the reaction mixture was heated at 40 °C for 4 d. Then the white precipitate was isolated by filtration. The solid was washed with CH_3CN (2 x 5 mL) then with Et_2O (2 x 5 mL) and finally dried under vacuum. The filtrate was concentrated under vacuum again to recover more material. The obtained white powder was dried under vacuum to give **compound 9** (0.89 mg, 65 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 172.9$ (CO), [75.9, 70.9] (N-CH-N), [61.1, 55.8, 55.1, 53.1, 53.0, 44.3, 43.9, 40.5] (CH_2 - α -N, CH_2 - α -OH), 35.2 (CH- β -N), 32.0 (CH_2 - β -OH), 19.5 ppm (CH_2 - β -N).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 4.57$ (br s, 1H, OH), 4.48 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 4.35 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H, N-CH-N), 3.82-3.74 (m, 1H), 3.69-3.61 (m, 1H), 3.46 (td, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H), 3.21 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H, N-CH-N), 3.18-3.06 (m, 2H), 3.0-2.96 (m, 4H), 2.87-2.77 (m, 2H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.54-2.50 (m, 1H), 2.44-2.41 (m, 1H), 2.29 (td, $J = 12.0, 3$ Hz, 1H), 2.22-2.19 (m, 2H), 1.95-1.93 (m, 1H), 1.49-1.44 (m, 1H), 1.29-1.25 ppm (m, 1H).

Compound 10.***cis/syn-cyclam-EtOH-glyoxal***

2-(10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren-2-yl)ethanol

General procedure: Sodium borohydride (1.35 g, 35.7 mmol) was added to a solution of **compound 9** (1.00 g, 3.6 mmol) in H₂O (10 mL). The solution was stirred overnight at rt and then NaOH pellets was added up to pH > 12. Aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 20 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄, filtrated and then evaporated under reduced pressure to give *cis/syn* isomer of **compound 10** as a white solid (0.90 g, 95 %).

Isomer *cis/syn*:

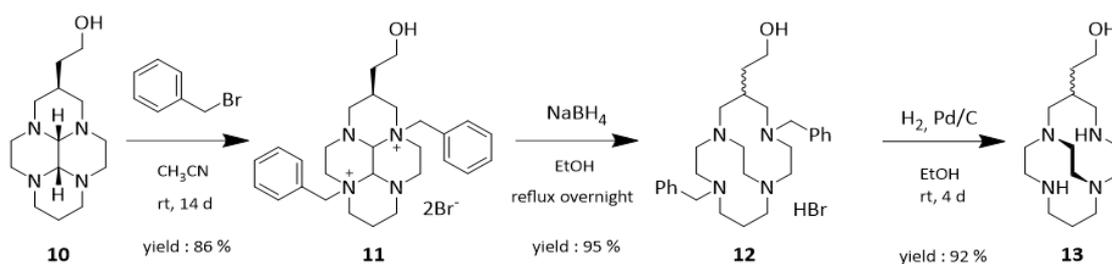
¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [76.7, 76.6] (N-CH-N), 59.7 (CH₂- α -OH), [62.0, 58.6, 55.8, 54.1, 54.0, 52.3, 45.4, 44.5] (CH₂- α -N), 34.7 (CH₂- β -OH), 25.5 (CH- β -N), 19.4 ppm (CH₂- β -N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 3.64 (t, J = 6 Hz, 2H, CH₂- α -OH), 3.57-3.41 (m, 2H), 3.12-3.11 (m, 1H), 3.02-3.01 (m, 1H), 2.95-2.94 (m, 4H), 2.77-2.70 (m, 2H), 2.61-2.53 (m, 1H), 2.38-2.05 (m, 8H), 1.76-1.69 (m, 1H), 1.61 (br s, 1H), 1.33 (q, J = 6 Hz, 2H, CH₂- β -OH), 1.25-1.20 ppm (m, 1H).

Complementary Information**Isomer *cis/anti*:**

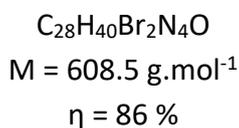
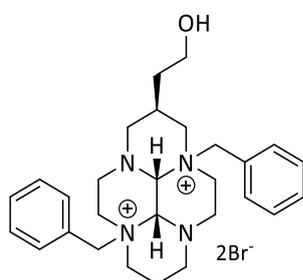
¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [77.2, 76.6] (N-CH-N), 61.1 (CH₂- α -OH), [62.0, 58.6, 55.8, 54.1, 54.0, 52.3, 45.4, 44.5] (CH₂- α -N), 38.2 (CH₂- β -OH), 30.9 (CH- β -N), 19.7 ppm (CH₂- β -N).

Synthesis of cross-bridged cyclam-EtOH (**13**)



Compound 11.

cis/syn-2Bn-cyclam-EtOH-glyoxal.2Br

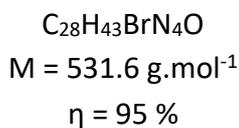
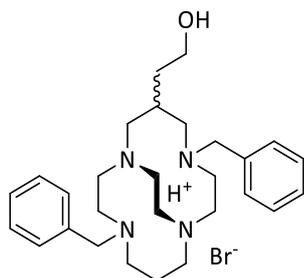


2-(3a,8a-dibenzyl-10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren-2-yl)ethanol diiodide

General procedure: A solution of benzyl bromide (6.20 mL, 51.8 mmol) in distilled CH_3CN (20 mL) was added dropwise to a solution of **compound 10** (1.38 g, 5.2 mmol) in distilled CH_3CN (25 mL). The solution was stirred at rt for 14 d, then the precipitate was isolated by filtration. The solid was washed with Et_2O (2 x 10 mL) then with CH_3CN (2 x 10 mL) and finally dried under vacuum to give **compound 11** as a white powder (2.70 g, 86 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, D_2O , 298 K): $\delta = [136.0, 134.2, 132.2]$ (CH-Ar), [127.5, 127.4] (C-Ar), [79.6, 79.3] (N-CH-N), [67.1, 65.2, 65.1, 63.3, 61.0, 59.5, 54.0, 49.6, 49.4, 48.8, 45.2] (CH_2 - α -N, CH_2 - α -OH), 34.8 (CH_2 - β -OH), 28.5 (CH- β -N), 20.7 ppm (CH_2 - β -N).

1H NMR (300 MHz, D_2O , 298 K): $\delta = 7.61$ -7.52 (m, 10H, CH-Ar), 5.30 (d, $J = 12$ Hz, 1H, N- CH_2 -Ph), 5.26 (d, $J = 12$ Hz, 1H, N- CH_2 -Ph), 5.10 (d, $J < 2.0$ Hz, 1H, N-CH-N), 5.09 (d, $J < 2.0$ Hz, 1H, N-CH-N), 4.74 (in water peak, 2H, N- CH_2 -Ph), 4.46-4.36 (m, 2H), 3.74 (td, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H), 3.62-3.39 (m, 9H), 3.30-3.19 (m, 4H), 2.83 (td, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 1H), 2.60-2.48 (m, 2H), 2.32-2.20 (m, 1H), 1.91-1.86 (m, 1H), 1.52-1.47 ppm (m, 2H).

Compound 12.**CB-2Bn-cyclam-EtOH.HBr**

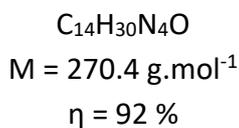
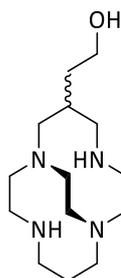
2-(4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol

General procedure: Sodium borohydride (1.24 g, 32.9 mmol) was slowly added to a solution of **compound 11** (2.00 g, 3.3 mmol) in 95 % EtOH (80 mL). The mixture was refluxed for 18 h. Then the solvent was evaporated under reduced pressure. A precipitate was formed after addition of CH₂Cl₂ (50 mL) and eliminated by filtration. The filtrate was concentrated under vacuum. This process was repeated twice to recover more material. **Compound 12** was obtained as a white powder of different diastereoisomers (1.70 g, 95 %). Major product, isomer *cis/anti*, can be precipitated in CH₃CN (1.00 g, 60 %).

Major product, isomer *cis/anti*:

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [140.6, 137.9] (C-Ar), [129.4, 128.9, 128.4, 128.1, 127.3, 126.7] (CH-Ar), [64.5, 62.5, 61.4, 60.0, 59.2, 57.6, 56.6, 54.4, 53.5, 52.8, 51.9, 50.1, 43.5] (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 39.1 (CH₂- β -OH), 36.0 (CH- β -N), 25.2 ppm (CH₂- β -N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 7.32-7.08 (m, 10H, H-Ar), 4.74-4.71 (m, 1H), 3.94 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 4H), 3.61-3.55 (m, 1H), 3.37-3.33 (m, 1H), 3.25-2.89 (m, 5H), 2.61-2.36 (m, 8H), 2.26-2.08 (m, 6H), 1.64-1.53 (m, 3H), 1.26-1.23 ppm (m, 1H).

Compound 13.**CB-cyclam-EtOH**

2-(1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol

General procedure: Isomers mixture of **compound 12** (1.70 g, 3.2 mmol) was dissolved in EtOH absolute (80 mL). 20% Pd(OH)₂/C (0.35 g) was added and the reaction mixture was stirred under a hydrogen atmosphere at rt for 4 d. The mixture was then filtered through celite and the solvent was evaporated under reduced pressure. The resulting oil was dissolved in KOH (3 M) solution (20 mL) and the aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 40 mL). Combined organic layers were dried over MgSO₄, filtered and concentrated under vacuum to give two isomers of **compound 13** as a yellow oil (0.80 g, 92 %).

Isomer 1:

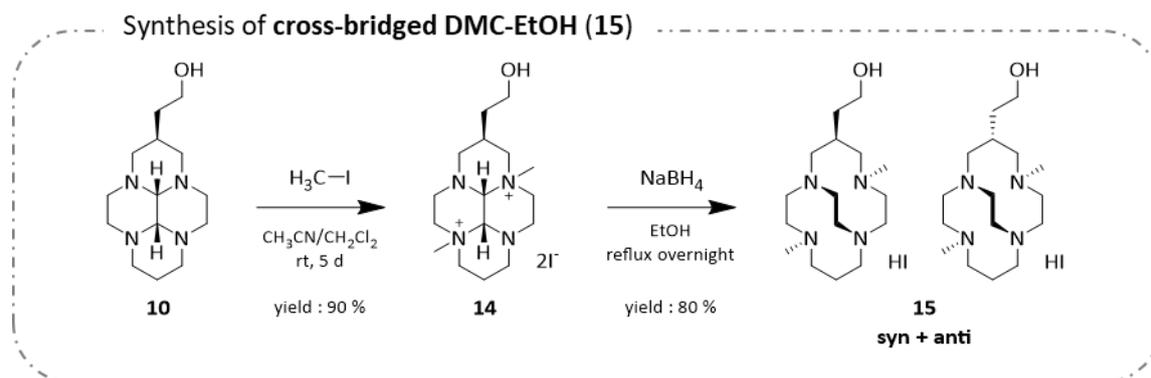
¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [66.3, 59.3, 58.5, 58.5, 57.5, 54.7, 51.6, 50.8, 49.5, 44.5, 44.4]$ (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 34.8 (CH₂- β -OH), 27.6 (CH- β -N), 22.5 ppm (CH₂- β -N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = 3.75\text{-}3.63$ (m, 3H), 3.25-3.17 (m, 2H), 3.02-2.46 (m, 19H), 2.20-2.13 (m, 2H), 1.82-1.75 (m, 2H), 1.56-1.44 ppm (m, 3H).

Isomer 2:

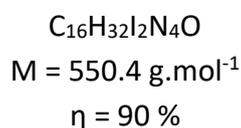
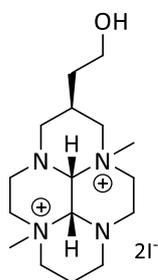
¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [63.5, 59.2, 59.1, 57.8, 52.7, 52.3, 51.7, 50.9, 49.6, 49.1, 47.1]$ (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 35.0 (CH₂- β -OH), 33.5 (CH- β -N), 25.5 ppm (CH₂- β -N).

HRMS (ESI): m/z calcd for C₁₄H₃₂N₄O₂⁺ [M+H]⁺ 271.2498, found 271.2492, calcd for C₁₄H₃₂N₄O₂⁺ [M+2H]²⁺ 136.1283, found 136.1288.



Compound 14.

cis/syn-2Me-cyclam-EtOH-glyoxal.2I

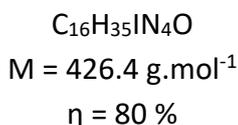
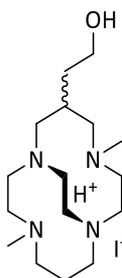


2-(3a,8a-dimethyl-10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren-2-yl)ethanol diiodide

General procedure: **Compound 10** (1.07 g, 4.0 mmol) was dissolved in a mixture of dried $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 2:1 (30 mL). Methyl iodide (0.75 mL, 12.0 mmol) was quickly added and the mixture was stirred at rt for 5 d. The precipitate formed was filtered, washed with the same solvent mixture and dried under vacuum to give **compound 14** as white powder (1.98 g, 90 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, D_2O , 298 K): $\delta = [76.3, 75.9]$ (N-CH-N), [68.5, 64.6, 57.7, 56.2, 50.6, 50.1, 49.2, 45.7, 45.6] (CH_2 - α -N, CH_2 - α -OH), [47.7, 47.6] (CH_3), 31.4 (CH_2 - β -OH), 25.2 (CH - β -N), 17.9 ppm (CH_2 - β -N).

^1H NMR (300 MHz, D_2O , 298 K): $\delta = 4.74$ (s, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.57-5.48 (m, 2H), 3.88-3.78 (m, 3H), 3.71-3.67 (m, 3H), 3.41 (s, 3H, CH_3), 3.40 (s, 3H, CH_3), 3.44-3.21 (m, 8H), 2.83-2.66 (m, 2H), 2.55-2.41 (m, 2H), 1.98-1.92 (m, 1H), 1.61-1.55 ppm (m, 2H).

Compound 15.**CB-DMC-EtOH.HI**

2-(4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol

General procedure: Sodium borohydride (0.90 g, 23.7 mmol) was added quickly to a suspension of **compound 14** (1.30 g, 2.3 mmol) in EtOH (50 mL). The mixture was stirred at reflux overnight. After cooling down, solvent was removed under reduced pressure. Obtained residue was dissolved in KOH (3 M) solution (15 mL) and stirred at rt 2 h. Aqueous layer was extracted with CHCl_3 (4 x 40 mL), combined organic layers were dried over MgSO_4 , filtered and dried under vacuo. **Compound 15** was obtained as white powder with 2 diastereoisomers forms (0.85 g, 85 %). Isomers were separated on alumina column ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 99:2).

Isomer 1:

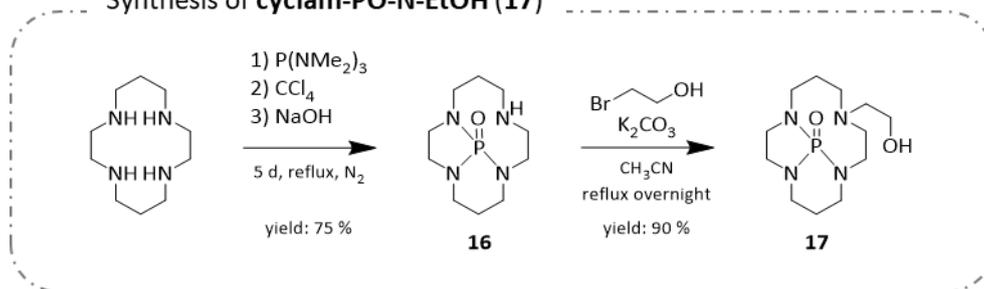
^{13}C Jmod NMR (125 MHz, CD_3CN , 298 K): $\delta = [64.5, 59.3, 58.9, 55.5, 53.7, 52.4, 51.7]$ ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$, other peaks are not visible at 298 K), $[43.2, 42.7]$ (CH_3), 34.7 ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$), 32.9 ($\text{CH-}\beta\text{-N}$), 24.1 ppm ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$). **^1H NMR (500 MHz, CD_3CN , 298 K):** $\delta = 11.37$ (br s, 1H_{acide}), 3.54-3.52 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), 3.3 (br s, 1H), 3.15 (br s, 1H) 3.11-3.06 (m, 1H), 3.04-2.98 (m, 2H), 2.92-2.60 (m, 11H), 2.60-2.55 (m, 2H), 2.50-2.47 (m, 2H), $[2.31, 2.30]$ (s, 2 CH_3), 1.96 (br s, 1H), 1.76-1.71 (m, 1H), 1.64-1.59 (m, 1H), 1.30-1.26 ppm (m, 2H).

Isomer 2:

^{13}C Jmod NMR (125 MHz, CD_3CN , 298 K): $\delta = [64.5, 61.6, 61.4, 59.3, 57.7, 54.8, 53.8, 51.1, 53.0, 52.7, 52.5]$ ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), $[45.6, 44.1]$ (CH_3), 34.8 ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$), 28.7 ($\text{CH-}\beta\text{-N}$), 27.6 ppm ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$). **^1H NMR (500 MHz, CD_3CN , 298 K):** $\delta = 11.37$ (br s, 1H_{acide}), 3.63-3.61 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), 3.42-3.36 (m, 1H), 3.19-2.99 (m, 8H), 2.89-2.80 (m, 5H), 2.73-2.63 (m, 3H), 2.57-2.52 (m, 3H), $[2.47, 2.41]$ (s, 2 CH_3), 2.31-2.26 (m, 1H), 1.70-1.62 (m, 1H), 1.58-1.52 (m, 1H), 1.47-1.43 ppm (m, 2H).

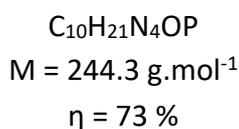
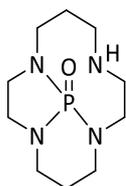
HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M-I}]^+$ 299.2805, found 299.2806, calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}^+$ $[\text{M-I+H}]^{2+}$ 150.1439, found 150.1442.

Synthesis of cyclam-PO-N-EtOH (**17**)



Compound 16.

cyclam-phosphoramidate

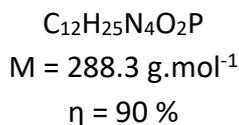
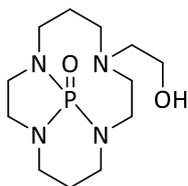


3H-2a,5a,8,11a-tetraaza-11b-phosphacyclonon[cd]indene,decahydro-,11b-oxide

General procedure: A suspension of cyclam (1.00 g, 5.0 mmol) in toluene (170 mL) was reflux under N_2 atmosphere in a flask equipped with a Dean-Stark apparatus to remove water. Tris(dimethylamino)phosphine (0.82 g, 0.91 mL, 5.0 mmol) was then added and the mixture was refluxed under N_2 . Reaction was followed by dosing HNMe_2 released in HCl trap with phenolphthalein. When the reaction was ended, 20 mL of CCl_4 was added in the flask at 0°C and stirred 2h at rt. The mixture was evaporated under reduced pressure and 20 mL of NaOH solution (4 M) was added on the residue. The phosphoramidate compound precipitate and was recovered by extraction with CHCl_3 (3 x 50 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO_4 and evaporated. **Compound 16** was obtained as a white powder (0.90 g, 73 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = [51.6, 46.6, 46.3$ (d, $J_{\text{C-P}} = 15$ Hz), 46.0, 44.4 (d, $J_{\text{C-P}} = 11$ Hz), 42.5, 42.4, 41.8] (CH_2 - α -N), [28.4, 22.1] ppm (CH_2 - β -N).

^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3 , 298 K): $\delta = 26.6$ ppm.

Compound 17.***cyclam-PO-N-EtOH***

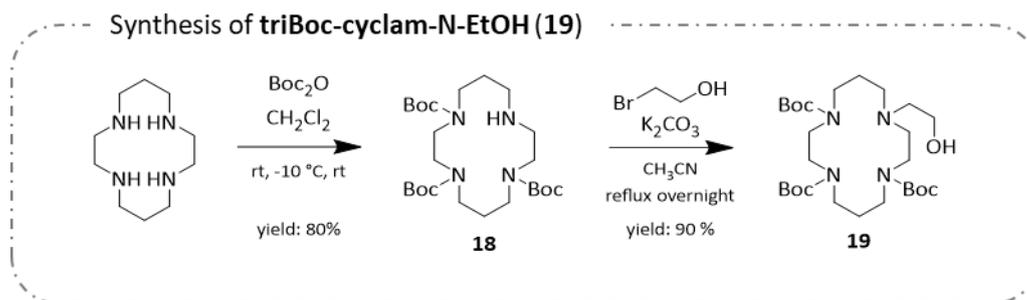
H-2a,5a,8,11a-tetraaza-11b-phosphacyclonon[cd]indene-8(9H)-propanol,octahydro-,11b-oxide

General procedure: Compound 16 (1.35 g, 5.5 mmol) was dissolved in CH₃CN (50 mL) with K₂CO₃ (2.29 g, 16.6 mmol). 2-bromoethanol (2.76 g, 22.1 mmol) was rapidly added and the mixture was stirred at reflux overnight. The solution was filtered and solvent was removed under reduced pressure. Colorless oil obtained was dissolved in 15 mL of NaOH solution (4 M) and stirred 3h at rt. Aqueous layers was extracted with CHCl₃ (4 x 40 mL). Organics layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated. **Compound 17** was dried under vacuum to obtain white powder (1.45 g, 90 %).

¹³C Jmod NMR (125 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [60.4, 55.9, 55.0, 53.8, 52.5, 47.4 (d, $J_{\text{C-P}}$ = 15 Hz), 43.8 (d, $J_{\text{C-P}}$ = 11 Hz), 42.3, 42.0, 41.8] (CH₂- α -N), [26.0, 22.1] ppm (CH₂- β -N). (*by-product* at 36.8 ppm: O=P(NMe₂)₃).

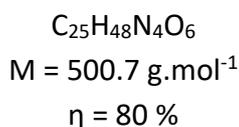
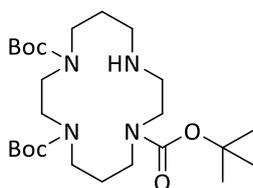
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 3.84-3.76 (m, 1H), 3.70-3.66 (m, 1H), 3.51-3.46 (m, 2H), 3.38-3.31 (m, 1H), 3.30-3.22 (m, 2H), 3.16-3.10 (m, 1H), 3.08-3.01 (m, 2H), 2.98-2.82 (m, 2H), 2.79-2.72 (m, 1H), 2.70-2.65 (m, 2H), 2.56-2.43 (m, 4H), 2.27-2.25 (m, 1H), 1.91-1.83 (m, 1H), 1.80-1.72 (m, 1H), 1.65-1.51 ppm (m, 2H). (*by-product* at 2.63 and 2.61 ppm: O=P(NMe₂)₃)

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 29.5 ppm.



Compound 18.

TE3Boc



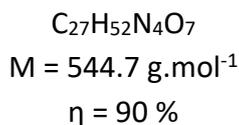
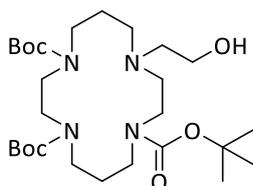
4,8,11-tricarboxylic acid tri-tert-butyl ester-1,4,8,11 tetraazacyclotetradecane

General procedure: Cyclam (1.00 g, 5.0 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (100 mL) with triethylamine (2.53 g, 3.50 mL, 25.0 mmol). A solution of Boc_2O (1.96 g, 9.0 mmol) in CH_2Cl_2 (80 mL) was added dropwise over a period of 40 min at room temperature. The mixture was cooled down to -15°C and a second solution of Boc_2O (1.31 g, 6 mmol) was added dropwise. The mixture was slowly warmed to rt and stirred overnight. Solvent was removed under vacuum and AcOEt was added on colorless oil. Precipitate was removed by filtration and filtrate was evaporated. Crude product was purified on silica column with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 70/30 to release tetraBoc-cyclam then AcOEt/MeOH 95/5 to recover triBoc-cyclam. **Compound 18** was obtained as white foam (2.00 g, 80 %).

^{13}C Jmod NMR (75MHz, CD_3CN , 343 K): $\delta = [157.2, 156.7]$ ($\text{C}_q=\text{O}$), $[80.1, 80.0]$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), $[51.6, 51.2, 48.7, 48.0, 47.8, 47.6, 47.3, 45.6]$ ($\text{CH}_2-\alpha\text{-N}$), $[30.9, 30.6]$ ($\text{CH}_2-\beta\text{-N}$), 29.2 ppm ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

^1H NMR (300 MHz, CD_3CN , 298K): $\delta = 3.32\text{-}3.20$ (m, 12H, $\text{CH}_2-\alpha\text{-N}$), 2.73-2.70 (m, 2H $\text{CH}_2-\alpha\text{-N}$), 2.57-2.54 (m, 2H, $\text{CH}_2-\alpha\text{-N}$), 1.96-1.92 (m, 2H, $\text{CH}_2-\beta\text{-N}$), 1.68-1.62 (m, 2H, $\text{CH}_2-\beta\text{-N}$), 1.43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.42 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.42 ppm (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$). (column solvent at 4.05 (q), 1.97 (s), 1.20 (t) = AcOEt)

HRMS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{49}\text{N}_4\text{O}_6^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 501.3647, found 501.3644.

Compound 19.**TE3BocEtOH**

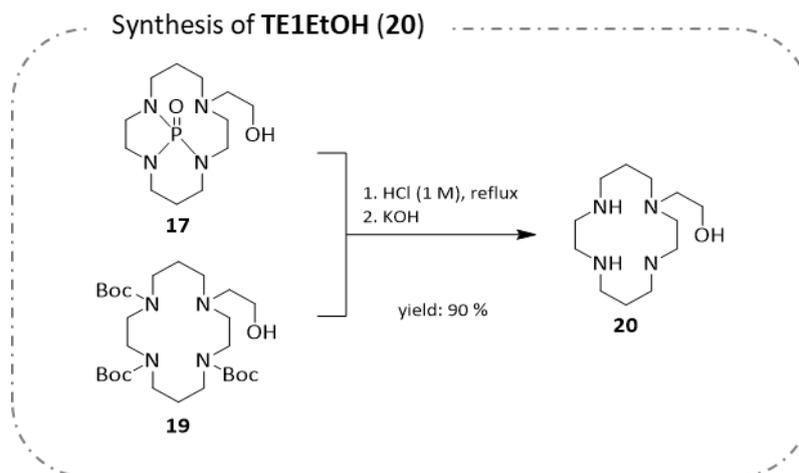
2-(4,8,11-tricarboxylic acid tri-tert-butyl ester-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol

General procedure: BrEtOH (2.25 g, 1.28 mL, 18.0 mmol) was rapidly added on a solution of **compound 18** (1.80 g, 3.6 mmol) in CH₃CN (50 mL) with K₂CO₃ (1.00 g, 7.2 mmol) and the mixture was stirred at reflux overnight. The solution was filtered and solvent was removed under reduced pressure. White foam obtained was dissolved in NaOH solution (4 M, 15 mL) and stirred 3 h at rt. Aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 40 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated. **Compound 19** was purified on silica column (CH₂Cl₂/AcOEt 50/50 then AcOEt) and was obtained as a white powder (1.76 g, 90 %).

¹³C Jmod NMR (125 MHz, CD₃CN, 343 K): δ = [156.9, 156.8, 156.7] (C_q=O), [80.3, 80.2, 80.1] (C(CH₃)₃), [60.7, 58.7, 55.7, 53.8, 49.1, 48.7, 48.4, 48.3, 47.9, 47.2] (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), [29.9, 28.3] (CH₂- β -N), 29.0 ppm (C(CH₃)₃).

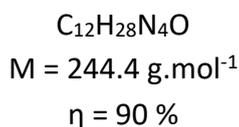
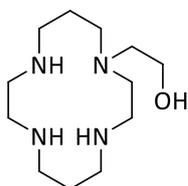
¹H NMR (500 MHz, CD₃CN, 298K): δ = 3.53-3.48 (m, 2H), 3.33-3.27 (m, 10H), 3.22-3.20 (m, 2H), 2.60-2.58 (m, 2H), 2.52-2.49 (m, 2H), 2.45-2.43 (m, 2H), 1.86-1.81 (m, 2H), 1.66-1.63 (m, 2H), 1.43 ppm (s, 27H, C(CH₃)₃).

HRMS (ESI): m/z calcd for C₂₇H₅₃N₄O₇⁺ [M+H]⁺ 545.3909, found 545.3910.



Compound 20.

TE1EtOH



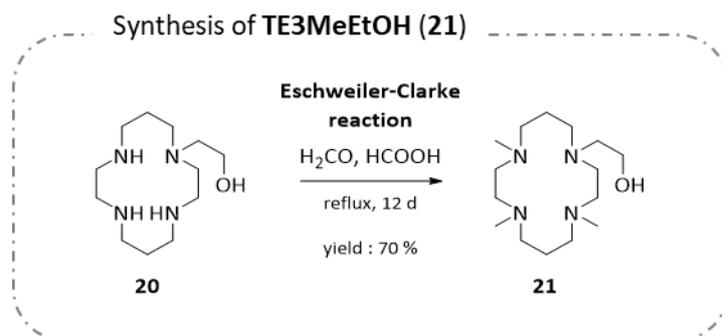
2-(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol

General procedure: Compound 19 (or compound 17) (3.70 g, 6.8 mmol) was stirred at reflux 4 h in HCl solution (1 M, 20 mL). After cooling down, aqueous layer was washed with Et₂O to remove organic impurities. At 0 °C, NaOH pellets were added till pH > 12 and aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 50 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated. Compound 20 was obtained as white solid (1.49 g, 90 %).

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [62.4, 58.0, 57.9, 57.4, 51.5, 50.5, 50.3, 48.9, 48.4, 48.0]$ (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), [28.7, 26.5] ppm (CH₂- β -N).

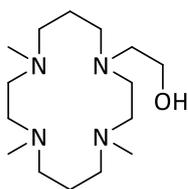
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): $\delta = 3.59\text{-}3.56$ (m, 2H, CH₂- α -OH), 3.50 (br s, 3H, N-H), 2.81-2.70 (m, 8H), 2.64-2.53 (m, 10H), 1.85-1.69 ppm (m, 4H, CH₂- β -N).

HRMS (ESI): m/z calcd for C₁₂H₂₉N₄O⁺ [M+H]⁺ 245.2336, found 245.2333, calcd for C₁₂H₃₀N₄O²⁺ [M+2H]²⁺ 123.1204, found 123.1202.



Compound 21.

TE3MeEtOH



C₁₅H₃₄N₄O
M = 286.5 g.mol⁻¹
η = 70 %

2-(4,8,11-trimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol

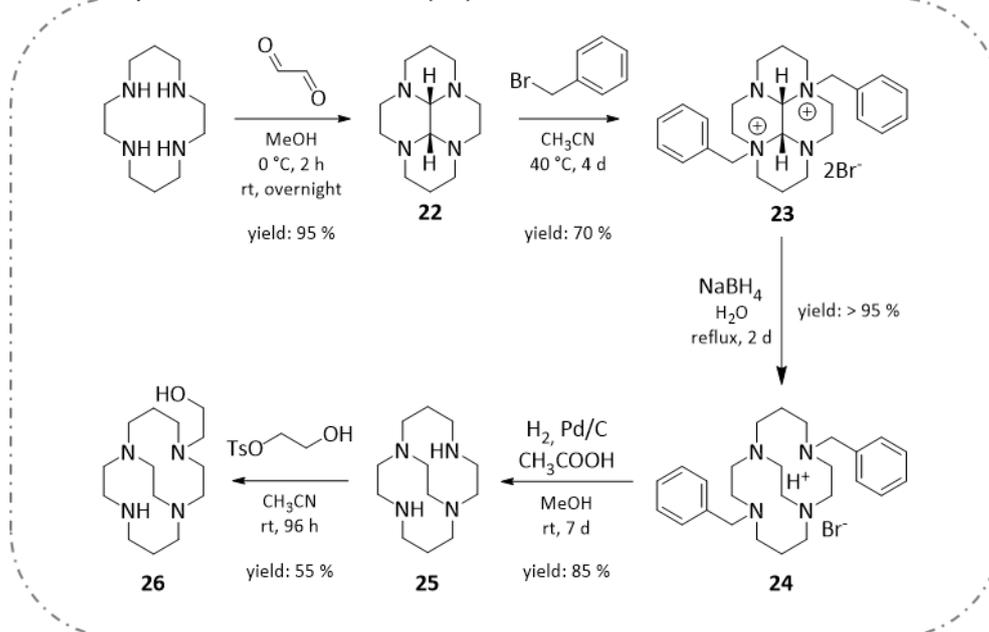
General procedure: **Compound 20** (1.00 g, 4.1 mmol) was dissolved in 37 % formaldehyde in water (5.00 mL, 1.50 g, 49.9 mmol) and formic acid (5.00 mL, 6.10 g, 132.0 mmol). The solution was stirred at reflux for 12 days, 1.00 mL of formic acid was added after 4 d and 8 d. The mixture was evaporated under reduced pressure and NaOH solution (4 M, 10 mL) was added. This solution was stirred at reflux for 2 h and alkaline aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 40 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated under reduced pressure. **Compound 21** was purified on silica column (CH₂Cl₂/iPr-NH₂ 98/2 to 98/4) and was obtained as a colorless oil (0.82 g, 70 %).

¹³C Jmod NMR (125 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [61.2, 56.1, 55.8, 55.7, 55.2, 54.6, 52.5, 52.2, 52.1, 49.9] (CH₂-α-N, CH₂-α-OH), [43.9, 43.1, 42.6] (N-CH₃), [25.4, 24.8] ppm (CH₂-β-N).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 3.46-3.44 (m, 2H, CH₂-α-OH), 2.52-2.32 (m, 18H, CH₂-α-N), 2.17 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.12 (m, 3H), 1.64-1.54 ppm (m, 4H, CH₂-β-N).

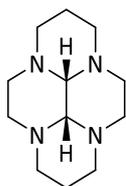
HRMS (ESI): m/z calcd for C₁₅H₃₅N₄O⁺ [M+H]⁺ 287.2805, found 287.2803, calcd for C₁₅H₃₆N₄O²⁺ [M+2H]²⁺ 144.1439, found 144.1435.

Synthesis of CB-TE1EtOH (26)



Compound 22.

cis-cyclam-glyoxal



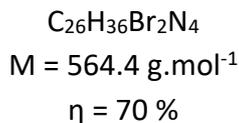
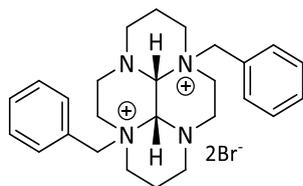
$C_{12}H_{22}N_4$
 $M = 222.3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 $\eta = 95 \%$

10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyrene

General procedure: To a solution of cyclam (4.40 g, 22.0 mmol) in MeOH (100 mL) at 0 °C, 40 % glyoxal in water (2.78 mL, 3.50 g, 24.2 mmol) was added dropwise and the mixture was stirred at rt overnight. Solvent was removed under reduced pressure. Et₂O (50 mL) was added on the colorless oil obtained and the precipitate was filtered out. Solution was evaporated under reduced pressure and CH₃CN (25 mL) was added and precipitate was filtered out. The solvent was evaporated and **compound 22** was obtained as white solid (4.70 g, 95 %).

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = 76.9$ (N-CH-N), [55.9, 54.2, 52.3, 44.6] (CH₂- α -N), 19.5 ppm (CH₂- β -N).

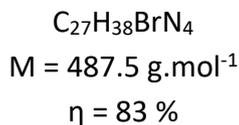
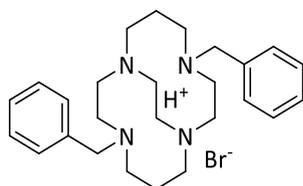
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): $\delta = 3.57$ -3.49 (m, 2H), 3.08 (s, 2H, N-CH-N), 2.93 (m, 6H), 2.75-2.71 (m, 2H), 2.33-2.06 (m, 8H), 1.24-1.19 ppm (m, 2H).

Compound 23.***cis-2Bn-cyclam-glyoxal.2Br***

3a,8a-Dibenzyl-10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren dibromide

General procedure: To a solution of **Compound 22** (8.30 g, 37.3 mmol) in CH₃CN (250 mL) benzyl bromide (31.90 g, 22.20 mL, 186.6 mmol) was quickly added and the solution was stirred at 40 °C for 4 d. The mixture was concentrated under reduced pressure and precipitate was recovered by filtration. White powder was washed with cold CH₃CN and dried under vacuum to give **compound 23** (14.50 g, 70 %).

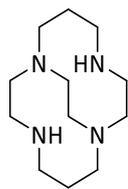
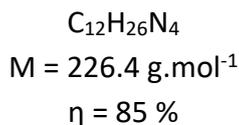
¹³C Jmod NMR (75MHz MHz, D₂O, 298 K): $\delta = [136.1, 134.3, 132.4]$ (CH_{ar}), 127.6 (C_{q, ar}), 79.7 (N-CH-N), [65.2, 63.4, 54.1, 49.6, 58.9] (CH₂- α -N), 20.9 ppm (CH₂- β -N).

Compound 24.***CB-2Bn-cyclam-glyoxal.HBr***

4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane bromide

General procedure: To a solution of **compound 23** (14.50 g, 25.7 mmol) in ethanol (250 mL), NaBH₄ (9.70 g, 256.5 mmol) was slowly added and the mixture was stirred at reflux 2 days. Solvent was evaporated under reduced pressure and white residue was dissolved in water (80 mL). The aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 150 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated. **Compound 24** was obtained as white solid (12.50 g, quantitative).

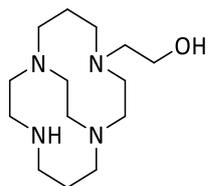
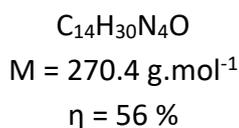
¹³C Jmod NMR (125 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = 140.9$ (C_{q, ar}), [128.9, 128.0, 126.5] (CH_{ar}), [60.0, 57.6, 57.1, 56.5, 54.2, 52.0] (CH₂- α -N), 28.0 ppm (CH₂- β -N).

Compound 25.**CB-cyclam**

1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane

General procedure: **Compound 24** (12.50 g, 25.7 mmol) was dissolved in methanol (100 mL) with Pd(OH)₂/C 20% (1.65 g, 3.0 mmol) and acetic acid (2.00 mL) then was stirred at rt under H₂ atmosphere for 7 d. The palladium was removed by filtration on celite and the solvent was evaporated to give **compound 25** as an oily solid (5.00 g, 85 %).

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [59.0, 56.5, 50.7, 50.4, 45.4]$ (CH₂- α -N), 23.5 ppm (CH₂- β -N). **¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298K):** $\delta = 3.60\text{-}3.43$ (m, 4H), 2.37-3.05 (m, 9H), 2.96-2.93 (m, 5H), 2.71-2.66 (m, 2H), 2.60-2.49 (m, 2H), 2.42-2.26 (m, 2H), 1.76-1.70 ppm (m, 2H).

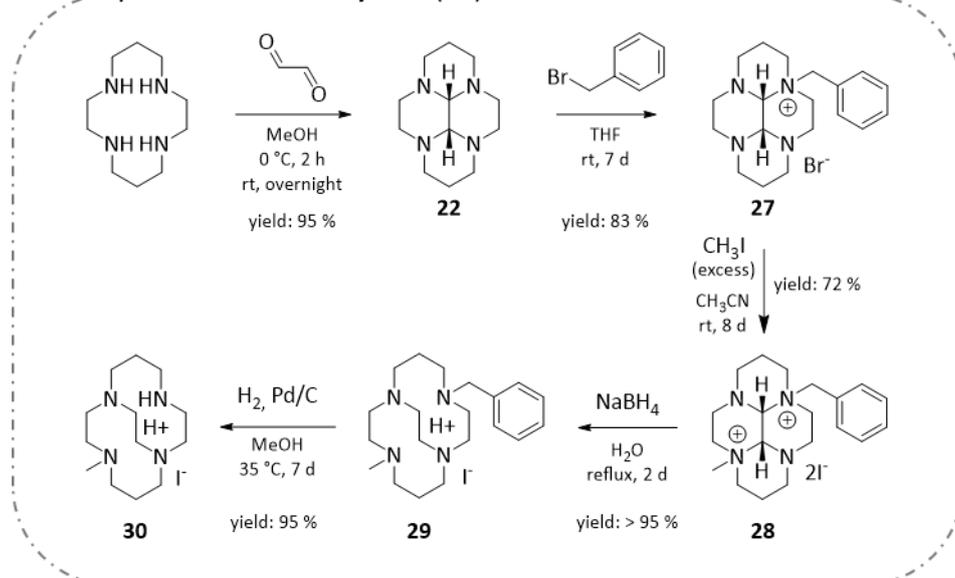
Compound 26.**CB-TE1EtOH**

2-(1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecan-4-yl)ethan-1-ol

General procedure: **Compound 33** (0.22 mg, 1.0 mmol) in CH₃CN (10 mL) was slowly added (20 h with syringe driver) to a solution of **compound 25** (0.23 mg, 1.0 mmol) in CH₃CN (200 mL). The mixture was stirred 4 days till all the **compound 33** was consumed. Reaction progress was tracked by silica TLC. Solvent was evaporated under reduced pressure, 10 mL of NaOH solution (4 M) was added and aqueous layer was extracted with CHCl₃ (4 x 20 mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄ and solvent was evaporated. **Compound 26** was purified on alumina column (CH₂Cl₂ / MeOH 99/1 to 95/5) to obtain beige oil (0.15 mg, 55 %).

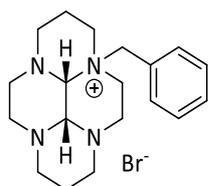
¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [61.2, 58.6, 58.6, 55.5, 55.0, 54.4, 53.6, 53.2, 51.7, 50.6, 46.6, 44.8]$ (CH₂- α -N), [28.3, 22.2] ppm (CH₂- β -N). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K):** $\delta = 3.68\text{-}3.64$ (m, 2H, CH₂- α -OH), 3.38-3.30 (m, 1H), 3.11-3.05 (m, 1H), 2.87-2.27 (m, 20H), 1.74-1.70 (m, 2H), 1.57-1.52 ppm (m, 2H). **HRMS (ESI):** m/z calcd for C₁₄H₃₁N₄O⁺ [M+H]⁺ 271.2492, found 271.2493, calcd for C₁₄H₃₂N₄O²⁺ [M+2H]²⁺ 136.1283, found 136.1283.

Synthesis of CB-Me-cyclam (30)



Compound 27.

cis-Bn-cyclam-glyoxal.Br



$$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{BrN}_4$$

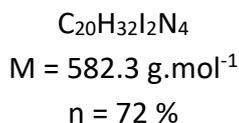
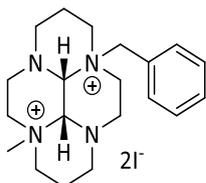
$$M = 393.4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\eta = 83 \%$$

3a-benzyl-10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren bromide

General procedure: To a solution of **Compound 22** (1.10 g, 5.00 mmol) in THF (15 mL) benzyl bromide (0.85 g, 0.59 mL, 5.0 mmol) was quickly added and the solution was stirred at rt for 7 d under argon atmosphere. The mixture was concentrated under reduced pressure and precipitate was recovered by filtration. White powder was washed with THF and dried under vacuum to give **compound 27** (1.62 g, 83 %).

¹³C Jmod NMR (125 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [133.6, 130.3, 128.9] (CH_{ar}), 126.3 (C_{q, ar}), 80.5 (N-CH-N⁺), 69.9 (N-CH-N), [60.6, 58.0, 54.6, 54.0, 52.1, 52.1, 49.2, 46.8, 42.6] (CH₂- α -N), [19.0, 18.7] ppm (CH₂- β -N). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K):** δ = 7.71-7.70 (m, 2H_{ar}), 7.45-7.40 (m, 3H_{ar}), 5.57-5.43 (q, J = 15 Hz, 2H), 4.27 (m, 2H), 4.11 (m, 1H), 4.04-3.91 (m, 2H), 3.67 (d, J = 15 Hz, 1H), 3.55 (td, J = 15 Hz, 2.4 Hz, 1H), 3.18 (q, J = 15 Hz, 1H), 3.08 (d, J = 12 Hz, 2H), 2.96-2.85 (m, 4H), 2.69 (t, J = 12 Hz, 1H), 2.58 (td, J = 12 Hz, 3.3 Hz, 1H), 2.46 (t, J = 12 Hz, 1H), 2.34 (d, J = 12 Hz, 1H), 2.28-2.16 (m, 2H), 1.77-1.72 (m, 2H), 1.38-1.32 ppm (m, 1H).

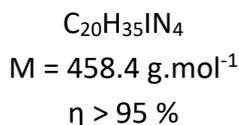
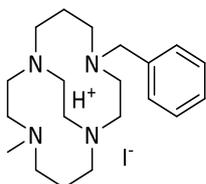
Compound 28.***cis-Me-Bn-cyclam-glyoxal.2I***

3a-benzyl-8a-methyl-10b,10c-cis-3a,5a,8a,10a-tetraazaperhydropyren diiodide

General procedure: To a solution of **Compound 27** (1.60 g, 4.1 mmol) in $\text{CH}_3\text{CN}/\text{CHCl}_3$ 3/1 (20 mL) methyl iodide (2.28 g, 1.00 mL, 16.3 mmol) was quickly added and the solution was stirred at rt for 8 d. The mixture was concentrated under reduced pressure and precipitate was recovered by filtration. White powder was washed with same mixture of solvent and dried under vacuum to give **compound 28** (1.70 g, 72 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, D_2O , 298 K): $\delta = [133.9, 132.1, 130.2]$ (CH_{ar}), 125.4 ($\text{C}_{\text{q,ar}}$), [77.5, 77.3] (N-CH-N^+), [65.9, 63.1, 51.1, 51.9, 51.8, 50.2, 47.1 (x3)] [$\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$], 48.8 (N-CH_3), [19.0, 18.6] ppm ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$).

^1H NMR (300 MHz, D_2O , 298K): $\delta = 7.66\text{-}7.59$ (m, 5 H_{ar}), 5.21 (d, $J = 13$ Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.84 (s, 1H), 4.72 (d, $J = 13$ Hz, 1H), 4.55 (td, $J = 12$ Hz, 4 Hz, aH), 4.42 (td, $J = 12$ Hz, 4 Hz, 1H), 3.88-3.73 (m, 3H), 3.57-3.14 (m, 9H), 3.46 (s, 3H), 2.91 (td, $J = 13$ Hz, 2Hz, 1H), 2.71 (td, $J = 13$ Hz, 2Hz, 1H), 2.55-2.41 (m, 1H), 2.33-2.20 (m, 1H), 2.03-1.86 ppm (m, 2H).

Compound 29.***CB-TEMeBn.HI***

4-benzyl-11-methyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane iodide

General procedure: To a solution of **compound 28** (1.70 g, 2.9 mmol) in ethanol (50 mL), NaBH_4 (1.10 g, 29.2 mmol) was slowly added and the mixture was stirred at reflux 2 days. Solvent was evaporated under reduced pressure and white residue was dissolved in NaOH solution (4 M, 15 mL). The aqueous layer was extracted with CHCl_3 (4 x 40 mL). Organic layers

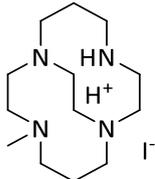
were combined, dried over MgSO₄ and evaporated. **Compound 29** was obtained as brown oil (1.35 g, quantitative).

¹³C Jmod NMR (125 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 140.8 (C_{q, ar}), [128.7, 127.9, 126.3] (CH_{ar}), [59.8, 59.2, 57.7, 56.5, 56.4, 56.0, 55.9, 54.8, 53.9, 52.0, 51.8] (CH₂-α-N), 42.7 (N-CH₃), [27.7, 26.8] ppm (CH₂-β-N).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 7.31-7.22 (m, 5H_{ar}), 4.43 (d, J = 14 Hz, 1H), 4.03 (d, J = 14 Hz, 1H), 3.43-3.29 (m, 2H), 3.22-3.14 (m, 1H), 3.10-3.01 (m, 1H), 2.99-2.80 (m, 6H), 2.66-2.57 (m, 2H), 2.50-2.41 (m, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.36-2.25 (m, 4H), 2.10-1.97 (m, 3H), 1.81-1.76 (m, 1H), 1.54-1.45 ppm (m, 2H).

HRMS (ESI): m/z calcd for C₂₀H₃₅N₄⁺ [M+H]⁺ 331.2856, found 331.2856.

m/z calcd for C₁₃H₂₈N₄⁺ [M-Bn+H]⁺ 241.2387, found 241.2386.

Compound 30.	<i>CB-TE1Me.HI</i>
	C ₁₃ H ₂₉ I N ₄ M = 368.3 g.mol ⁻¹ η = 95 %

4-methyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane iodide

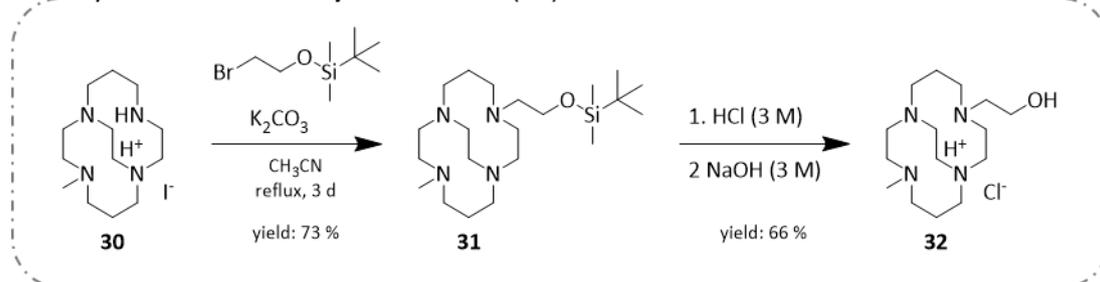
General procedure: **Compound 29** (1.45 g, 3.2 mmol) was dissolved in methanol (50 mL) with Pd/C 10 % (0.80 g, 0.8 mmol). The mixture was stirred at 35 °C under H₂ atmosphere for 7d. The palladium was removed by filtration on celite and the solvent was evaporated to give **compound 30** as brown oil (1.10 g, 95 %).

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [58.2, 56.8, 55.4, 54.7, 53.9, 53.4, 51.2, 49.9, 46.4, 44.2] (CH₂-α-N), 44.9 (N-CH₃), [26.7, 22.2] ppm (CH₂-β-N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 10.81 (br s, 1H, acidic H), 3.38-3.32 (m, 1H), 3.21-3.16 (m, 1H), 2.97-2.61 (m, 13H), 2.53-2.34 (m, 5H), 2.41 (s, 3H), 1.86-1.50 ppm (m, 4H).

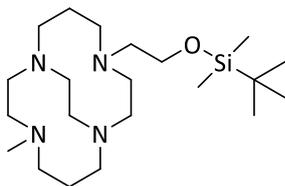
HRMS (ESI): m/z calcd for C₁₃H₂₉N₄⁺ [M+H]⁺ 241.2387, found 241.2386, calcd for C₁₃H₃₀N₄²⁺ [M+2H]²⁺ 121.1229, found 121.1230.

Synthesis of **CB-Me-cyclam-N-EtOH (32)**



Compound 31.

CB-TEMeEtOTBDMS



$C_{21}H_{46}N_4OSi$
 $M = 398.7 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 $\eta = 73 \%$

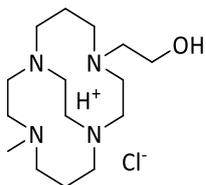
4-(2-((tert-butyl(dimethyl)silyloxy)ethyl)-11-methyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane iodide

General procedure: A solution of **compound 34** (0.24 g, 1.0 mmol) in CH_3CN (10 mL) was slowly added on a solution of **compound 30** (0.20 g, 0.5 mmol) in CH_3CN (20 mL) with K_2CO_3 (0.42 g, 3.0 mmol). Then the solution was stirred at reflux for 3 d. K_2CO_3 was filtered out and solvent was evaporated under reduced pressure. The mixture was purified on silica column ($CH_2Cl_2/MeOH.NH_3$ (7 N) 98/2 to 90/10) to give **compound 31** as a brown oil (0.16 g, 73 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 298 K): $\delta = [60.1, 58.7, 58.3, 55.9, 55.2, 54.5, 54.2, 54.1, 54.1, 52.3, 50.9, 49.9]$ (CH_2 - α -N, CH_2 - α -OH), 42.1 (N- CH_3), 25.7 ($C(CH_3)_3$), [25.1, 23.3] (CH_2 - β -N), 18.1 (Si- C_q), -5.4 ppm (Si- CH_3).

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 298K): $\delta = 3.90$ -3.82 (m, 1H), 3.78-3.67 (m, 2H), 3.49-3.33 (m, 3H), 3.25-3.20 (m, 1H), 3.17-3.12 (m, 1H), 3.09-3.05 (m, 1H), 3.03-2.92 (m, 7H), 2.86-2.76 (m, 5H), 2.68-2.64 (m, 2H), 2.59-2.55 (m, 1H), 2.34 (s, 3H, CH_3), 1.80-1.77 (m, 2H), 1.64-1.60 (m, 2H), 0.87 (s, 9H, Si- $C(CH_3)_3$), 0.04 ppm (s, 6H, Si- CH_3).

HRMS (ESI): m/z calcd for $C_{21}H_{47}N_4OSi^+$ $[M+H]^+$ 399.3514, found 399.3514, calcd for $C_{21}H_{48}N_4OSi^{2+}$ $[M+2H]^{2+}$ 200.1793, found 200.1798, calcd for $C_{15}H_{32}N_4^{2+}$ $[M-OTBDMS]^{2+}$ 134.1308, found 134.1310.

Compound 32.***CB-TEMeEtOH.HCl*** $C_{15}H_{33}ClN_4O$ $M = 320.9 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $\eta = 66 \%$

2-(4-methyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane)ethan-1-ol chloride

General procedure: Compound 31 (0.30 g, 0.8 mmol) was dissolved in HCl (3 M, 15 mL) and the mixture was stirred at reflux 2 h. The aqueous layer was washed with Et₂O (3 x 20 mL) and evaporated under reduced pressure. At 0°C, NaOH solution (3 M, 10mL) was added and the aqueous layer was extracted with CHCl₃ (3 x 30mL). Organic layers were combined, dried over MgSO₄ and evaporated under reduce pressure to give **compound 32** as brown solid (0.16 g, 66 %).

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): $\delta = [58.7, 28.6, 57.7, 56.6, 56.3, 54.3, 54.0, 53.4, 53.1, 52.7, 52.2, 50.9]$ (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 42.1 (N-CH₃), [24.5, 23.6] ppm (CH₂- β -N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): $\delta = 3.84\text{-}3.63$ (m, 3H), 3.34-3.15 (m, 4H), 3.04-2.98 (m, 5H), 2.91-2.87 (m, 1H), 2.82-2.78 (m, 2H), 2.72-2.62 (m, 9H), 2.25 (s, 3H, CH₃), 1.68-1.54 ppm (m, 4H).

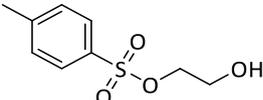
HRMS (ESI): m/z calcd for C₁₅H₃₃N₄O⁺ [M+H]⁺ 285.2649, found 285.2651, calcd for C₁₅H₃₄N₄O²⁺ [M+2H]²⁺ 143.1361, found 143.1361.

Complementary information

32.XHCl:

¹³C Jmod NMR (75 MHz, D₂O, 298 K): $\delta = [61.8, 60.3, 62.2, 58.1, 57.7, 57.4, 57.2, 57.1, 53.3, 52.3, 52.1, 51.9]$ (CH₂- α -N, CH₂- α -OH), 45.8 (CH₃), [22.6, 22.0] ppm (CH₂- β -N).

Synthesis of ethanol arm derivatives

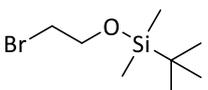
Compound 33.	<i>TsOEtOH</i>
	$C_9H_{12}O_4S$ $M = 216.3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $\eta = 83 \%$

2-hydroxyethyl 4-methylbenzenesulfonate

General procedure: After 30 min, triethylamine (2.70 mL, 20.0 mmol) was added dropwise to a solution of *p*-toluenesulfonyl chloride (3.81 g, 20.0 mmol) in 1,2-ethanediol (68 mL, 1.2 mol) and stirred overnight at rt. Water (100 mL) was then added and aqueous layer was extracted with $CHCl_3$ (4 x 50 mL). Organic layers were combined, dried over $MgSO_4$ and evaporated.

Compound 33 was purified on silica column ($CH_2Cl_2/MeOH$ 99/1) and was obtained as colorless oil (0.90 g, 83 %).

^{13}C Jmod NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 298 K): $\delta = [145.0, 132.5]$ (C_q), [129.9 (2C), 127.9 (2C)] (CH_{ar}), [71.6, 60.5] (CH_2), 21.6 ppm (CH_3). **1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 298K):** $\delta = 7.82$ -7.79 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.37-1.34 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 4.16-4.13 (m, 2H), 3.83-3.80 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.23 ppm (b s, 1H).

Compound 34.	<i>BrEtOTBDMS</i>
	$C_8H_{19}BrOSi$ $M = 239.2 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $\eta = 66 \%$

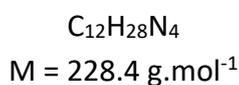
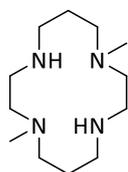
(2-bromoethoxy)(tert-butyl)dimethylsilane

General procedure: 2-bromoethanol (1.25 g, 0.44 mL, 10.0 mmol) was added dropwise on a solution of tert-butyldimethylsilyl chloride (1.50 g, 10.0 mmol) and 1H-imidazole (1.36 g, 20.0 mmol) in DMF (15 mL) and the mixture was stirred overnight at rt. Water (15 mL) was added and the solution was extracted with Et_2O (4 x 50 mL). Organic layers were combined, washed with brine (20 mL), dried over $MgSO_4$ and evaporated. **Compound 34** was purified on silica column (CH_2Cl_2) and was obtained as colorless oil (1.60 g, 67 %).

¹³C Jmod NMR (100 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 63.5 (CH₂-O-), 33.2 (CH₂-Br), 25.8 (3C, C(CH₃)₃), 18.3 (Si-C_q), -5.3 ppm (Si-CH₃). **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 298K):** δ = 3.89 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.39 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 0.90 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 0.09 ppm (s, 6H, CH₃-Si).

Synthesis of cyclam derivatives **DMC, TMC, CB-DMC**

DMC.



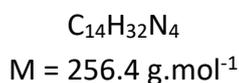
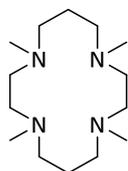
1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane

General procedure: G. Royal, V. Dahaoui-Gindrey, S. Dahaoui, A. Tabard, R. Guillard, P. Pullumbi, C. Lecomte, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1971–1975.

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [58.2, 57.1, 50.2, 47.4] (CH₂-α-N), 41.7 (N-CH₃), 26.2 ppm (CH₂-β-N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 2.91 (bs, 2H, NH), 2.68-2.59 (m, 8H), 2.44-2.38 (m, 8H), 2.16 (s, 6H, CH₃), 1.72 ppm (quint, J = 5.2 Hz, 4H).

TMC.



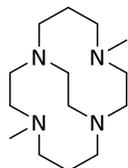
1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane

General procedure: G. Royal, V. Dahaoui-Gindrey, S. Dahaoui, A. Tabard, R. Guillard, P. Pullumbi, C. Lecomte, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1971–1975.

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [54.2, 54.0] (CH₂-α-N), 43.5 (N-CH₃), 24.5 ppm (CH₂-β-N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 2.50-2.42 (m, 16H), 2.21 (s, 12H), 1.70-1.63 ppm (m, 4H).

CB-DMC.



C₁₄H₃₀N₄
M = 254.4 g.mol⁻¹

4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane

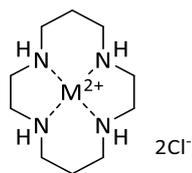
General procedure: G. R. Weisman, M. E. Rogers, E. H. Wong, J. P. Jasinski, E. S. Paight, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8604–8605.

¹³C Jmod NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = [59.0, 56.4, 55.9, 54.8, 52.0] (CH₂-α-N), 43.0 (N-CH₃), 26.8 ppm (CH₂-β-N).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298K): δ = 3.74 (m, 2H), 2.92-2.90 (m, 2H), 2.60-2.55 (m, 4H), 2.36-2.26 (m, 10H), 2.09 (s, 6H, CH₃), 2.08 (m, 2H), 1.38-1.29 ppm (m, 4H).

Synthesis of cyclam derivatives complexes with copper(II), zinc(II) and cobalt(II)

General procedure: Ligand was dissolved in pure water and the pH adjusted to 6-7 with HCl solution (1 M). 1.1 equivalent of MCl₂ was added and the mixture was stirred at reflux. The pH was readjusted to 6-7 with KOH solution (1 M) during the reaction and this process was repeated till the pH didn't move anymore. Then water was evaporated in a dry-bath at 90°C. Complex was dissolved in small amount of CH₃CN or MeOH to precipitate salts which were eliminated by filtration (repeated 3-4 times). Finally, the compound was dissolved in 1-2 mL of pure water and lyophilized.



Molecular weight : 334.8 g.mol⁻¹

Copper(II) 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane dichloride

Cyclam (39.5 mg, 0.198 mmol), CuCl₂ (29.2 mg, 0.217 mmol).

Complex was obtained as pink powder (49 mg, 74 %).

ESI-MS (positive, H₂O/CH₃CN 50/50): *m/z* found 131.552 [Cu(cyclam)]²⁺, found 262.098 [Cu(cyclam)-H]⁺, found 298.074 [Cu(cyclam)+Cl]⁺.



Molecular weight : 336.6 g.mol⁻¹

Zinc(II) 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane dichloride

Cyclam (39.5 mg, 0.198 mmol), ZnCl₂ (29.8 mg, 0.217 mmol).

Complex was obtained as a white powder (45 mg, 67 %).

ESI-MS (positive, H₂O/CH₃CN 50/50): *m/z* found 132.0530 [Zn(cyclam)]²⁺, found 299.0708 [Zn(cyc)+Cl]⁺, found 309.1017 [Zn(cyclam)+HCOO]⁺.

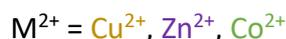
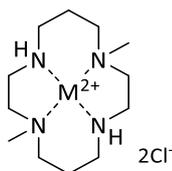
¹H NMR (300 MHz, D₂O, 298 K): *trans*-III: δ = 3.11-3.07 (m, 4H), 2.94-2.91 (m, 4H), 2.67-2.59 (m, 4H), 2.41-2.39 (m, 4H), 1.83-1.78 (m, 2H), 1.62-1.53 ppm (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, D₂O, 298 K):

trans-III: δ = 52.7 (4C, N-CH₂CH₂CH₂-N), 50.4 (4C, N-CH₂CH₂-N), 30.7 ppm (2C, CH₂-β-N).

trans-I: δ = 53.3 (4C, N-CH₂CH₂CH₂-N), 49.1 (4C, N-CH₂CH₂-N), 30.2 ppm (2C, CH₂-β-N).

cis-V: δ = 51.8 (4C, N-CH₂CH₂CH₂-N), 48.8 (4C, N-CH₂CH₂-N), 26.5 ppm (2C, CH₂-β-N).



Molecular weight : 362.8 g.mol⁻¹

Copper(II) 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane dichloride

DMC (41.1 mg, 0.180 mmol), CuCl₂ (26.6 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a purple powder (51.0 mg, 78 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈CuN₄]²⁺, 145.5799, found 145.5803 [Cu(DMC)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₇CuN₄]⁺, 290.1526, found 290.1526 [Cu(DMC)-H]⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈CuClN₄]⁺, 326.1293, found 326.1292 [Cu(DMC)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₃H₂₉CuN₄O₂]⁺, 336.1581, found 336.1581 [Cu(DMC)+HCOO]⁺.



Molecular weight : 364.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane dichloride

DMC (41.1 mg, 0.180 mmol), ZnCl₂ (26.9 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a beige powder (48.2 mg, 73 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈N₄Zn]²⁺ 146.0797, found 146.0800 [Zn(DMC)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈ClN₄Zn]⁺, 327.1289, found 327.1289 [Zn(DMC)+Cl]⁺, calc. for [C₁₃H₂₉N₄O₂Zn]⁺, 337.1576, found 337.1577 [Zn(DMC)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): too complex mixture of 3 isomers.

¹³C NMR (125 MHz, D₂O, 298 K): trans-III: δ = [62.3, 55.3, 52.2, 47.9] (CH₂-α-N), 44.7 (N-CH₃), 27.0 ppm (CH₂-β-N). trans-I: δ = [63.1, 60.8, 54.0, 47.7] (CH₂-α-N), 42.7 (CH₃), 26.6 ppm (CH₂-β-N). cis-V: δ = [62.7, 59.3, 53.7, 48.3] (CH₂-α-N), 48.3 (CH₃), 26.4 ppm (CH₂-β-N).



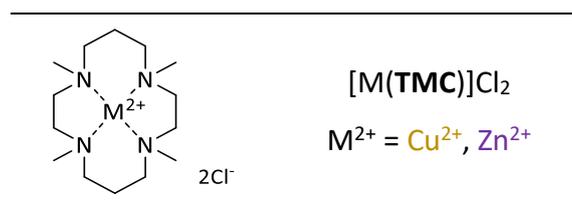
Molecular weight : 358.2 g.mol⁻¹

Cobalt(II) 1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane dichloride

DMC (41.1 mg, 0.180 mmol), CoCl₂ (25.7 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a green powder (44.8 mg, 71 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈CoN₄]²⁺, 143.5817, found 143.5820 [Co(DMC)]²⁺, calc. for [C₁₂H₂₇CoN₄]⁺, 286.1562, found 286.1558 [Co(DMC)-H]⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈ClCoN₄]⁺, 322.1329, found 322.1328 [Co(DMC)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₃H₂₉CoN₄O₂]⁺, 332.1617, found 332.1616 [Co(DMC)+HCOO]⁺.



[Cu(TMC)]Cl₂

Molecular weight : 390.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetrazacyclotetradecane dichloride

TMC (46.1 mg, 0.180 mmol), CuCl₂ (26.6 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (57.3 mg, 82 %).

ESI-MS (positive, H₂O/CH₃CN 50/50): *m/z* found 159.582 [Cu(TMC)]²⁺, found 354.129 [Cu(TMC)+Cl]⁺.

[Zn(TMC)]Cl₂

Molecular weight : 392.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetrazacyclotetradecane dichloride

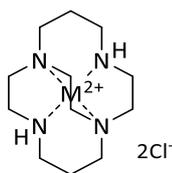
TMC (46.1 mg, 0.180 mmol), ZnCl₂ (26.9 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a white powder (50.9 mg, 72 %).

ESI-MS (positive, H₂O/CH₃CN 50/50): *m/z* found 160.0806 [Zn(TMC)]²⁺, found 355.1299 [Zn(TMC)+Cl]⁺, found 365.1583 [Zn(TMC)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, 223 K): *trans*-I: δ = 3.37-3.31 (m, 6H), 3.02-2.97 (m, 2H), 2.85-2.83 (m, 2H), 2.58 (s, 6H, CH₃), 2.53 (s, 6H, CH₃), 2.41-2.34 (m, 6H), 2.28-2.25 (m, 2H), 1.68-1.65 ppm (m, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, 223 K): *trans*-I: δ = [64.4, 58.2, 58.1, 56.4] (CH₂-α-N), [46.9, 44.5] (N-CH₃), 22.2 ppm (CH₂-β-N).



Copper(II) 1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane dichloride

CB-cyclam (39 mg, 0.172 mmol), CuCl₂ (25.4 mg, 0.189 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (35.1 mg, 54 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₆CuN₄]²⁺, 144.5721, found 144.5722 [Cu(CB-cyclam)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₆CuN₄O]²⁺, 152.5696, found 152.5694 [Cu(CB-cyclam)+O]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₆ClCuN₄]⁺, 324.1136, found 324.1132 [Cu(CB-cyclam)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₃H₂₇CuN₄O₂]⁺, calcd 334.1425, found 334.1421 [Cu(CB-cyclam)+HCOO]⁺.



Zinc(II) 1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane dichloride

CB-cyclam (39 mg, 0.172 mmol), ZnCl₂ (25.8 mg, 0.189 mmol).

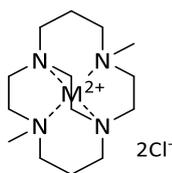
Complex was obtained as a beige powder (40.2 mg, 62 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₆N₄Zn]²⁺, 145.0719, found 145.0721 [Zn(CB-cyclam)]²⁺, calcd. for [C₁₃H₂₇N₄O₂Zn]⁺, calcd 335.1419, found 335.1420 [Zn(CB-cyclam)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): *cis-V*: δ = 3.22-3.14 (m, 4H), 3.05-2.89 (m, 14H), 2.68-2.65 (m, 2H), 2.32-2.24 (m, 2H), 1.60 ppm (dq, J = 11.7, 2.8 Hz, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, D₂O, 298 K): *cis-V*: δ = [62.1, 60.8, 53.5, 50.6, 43.5] (CH₂-α-N), 24.1 ppm (CH₂-β-N).

Equilibrium between 2 species have been observed. Only one left after heating the solution.



Molecular weight : 388.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane dichloride

CB-DMC (127 mg, 0.499 mmol), CuCl₂ (67.1 mg, 0.499 mmol).

Complex was obtained as a green powder (80.0 mg, 41 %).

ESI-MS (positive, H₂O/CH₃CN 50/50): *m/z* found 158.575 [Cu(CB-DMC)]²⁺, found 352.113 [Cu(CB-DMC)+Cl]⁺, found 362.139 [Cu(CB-DMC)+HCOO]⁺.



Molecular weight : 390.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane dichloride.

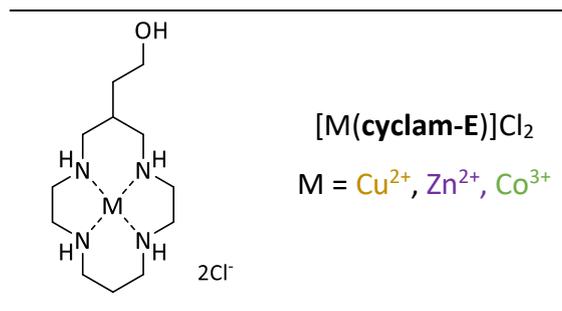
CB-DMC (80 mg, 0.314 mmol), CuCl₂ (42.7 mg, 0.314 mmol).

Complex was obtained as a white powder (60.2 mg, 50 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₀N₄Zn]²⁺, 159.0879, found 159.0875 [Zn(CB-DMC)]²⁺, calcd. for [C₁₄H₃₀ClN₄Zn]⁺, 353.1445, found 353.1445 [Zn(CB-DMC)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₅H₃₁N₄O₂Zn]⁺, 363.1734, found 363.1733 [Zn(CB-DMC)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, 223 K): *cis-V*: δ = 3.39-3.32 (m, 2H), 3.18 (dt, J = 15.6, 3 Hz, 2H), 3.00-2.95 (m, 4H), 2.85-2.83 (m, 4H), 2.57-2.50 (m, 6H), 2.26 (s, 6H, CH₃), 2.27-2.22 (m, 2H), 2.09 (dd, J = 14.5, 3 Hz, 2H), 1.54 (dt, J = 17, 3 Hz, 2H).

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, 223 K): *cis-V*: δ = [61.0, 60.7, 60.7, 52.7, 52.5] (CH₂-α-N), 49.1 (N-CH₃), 24.7 ppm (CH₂-β-N).



$[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$

Molecular weight : .378.8 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

Cyclam-E (44.0 mg, 0.180 mmol), CuCl₂ (26.6 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a pink powder (50.6 mg, 78 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈CuN₄O]²⁺, 153.5774, found 153.5777 [Cu(cyclam-E)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₇CuN₄O]⁺, 306.1465, found 342.1471 [Cu(cyclam-E)-H]⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈ClCuN₄O]⁺, 342.1242, found 342.1234 [Cu(cyclam-E)+Cl]⁺.

$[\text{Zn}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$

Molecular weight : .380.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

Cyclam-E (44.0 mg, 0.180 mmol), CuCl₂ (26.9 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a beige powder (47.6 mg, 69 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈N₄OZn]²⁺, 154.0772, found 154.0776 [Zn(cyclam-E)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈ClN₄OZn]⁺, 343.1238, found 343.1237 [Zn(cyclam-E)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₃H₂₉N₄O₃Zn]⁺, 353.1526, found 353.1527 [Zn(cyclam-E)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): trans-III: δ = 3.71 (t, J = 6.7 Hz, 2H, CH₂-α-OH), 3.26-3.19 (m, 3H), 3.15-2.98 (m, 6H), 2.84-2.76 (m, 4H), 2.61-2.57 (m, 3H), 1.97-1.94 (m, 2H, CH-β-N + CH₂-β-N), 1.76-1.71 (m, 1H, CH₂-β-N), 1.59-1.55 ppm (m, 2H, CH₂-β-OH). + minority peaks of *trans*-I and *cis*-V isomers.

¹³C NMR (125 MHz, D₂O, 298 K): trans-III: δ = 62.0 (CH₂-α-OH), [57.9, 52.8, 50.4, 50.4] (CH₂-α-N), 37.9 (CH₂-β-OH), 36.8 (CH-β-N), 30.7 ppm (CH₂-β-N). + minority peaks of *trans*-I and *cis*-V isomers.



Molecular weight : .374.2 g.mol⁻¹

Cyclam-E (44.0 mg, 0.180 mmol), CoCl₂ (25.7 mg, 0.198 mmol).

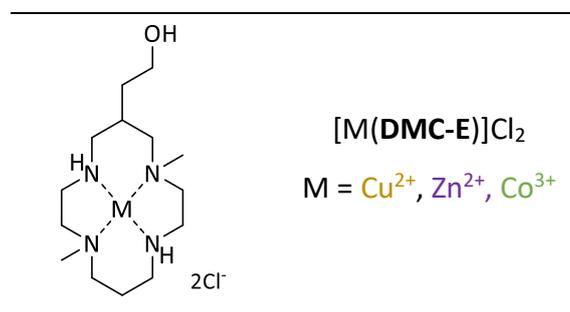
The compound was obtained as a brown powder.

ESI-MS (positive, H₂O/CH₃CN): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₇CoN₄O]²⁺, 151.0753, found 151.0757

[Co(cyclam-E)-H]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈ClCoN₄O]²⁺, 169.0636, found 169.0639

[Co(cyclam-E)+Cl]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₈Cl₂CoN₄O]⁺, 373.0967, found 373.0968

[Co(cyclam-E)+2Cl]⁺.



Molecular weight : 406.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

DMC-E (49.0 mg, 0.180 mmol), CuCl₂ (26.6 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a purple powder (58.0 mg, 79 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₂CuN₄O]²⁺, 167.5931, found 167.5934

[Cu(DMC-E)]²⁺, calcd. for [C₁₄H₃₁CuN₄O]⁺, 334.1788, found 334.1784 [Cu(DMC-E)-H]⁺, calcd.

for [C₁₄H₃₂ClCuN₄O]⁺, 370.1555, found 370.1554 [Cu(DMC-E)+Cl]⁺.



Molecular weight : 408.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(1,8-dimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

DMC-E (49.0 mg, 0.180 mmol), ZnCl₂ (26.9 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a beige powder (53.8 mg, 73 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₂N₄OZn]²⁺, 168.0928, found 168.0931

[Zn(DMC-E)]²⁺, [C₁₅H₃₃N₄O₃Zn]⁺, 381.1839, found 381.1837 [Zn(DMC-E)+HCOO]⁺.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, D_2O , 298 K): too complex mixture of 3 isomers.

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, D_2O , 298 K): isomers *trans*-III + *cis*-V: δ = [68.5, 68.3, 63.0, 62.5, 61.8, 61.7, 59.6, 59.4, 59.0, 57.5, 56.2, 55.3, 53.7, 52.3, 48.6, 48.5, 48.1, 57.9] ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-N}$, $\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-OH}$), [48.6, 48.5, 45.9, 45.4] (N-CH_3), [36.9, 36.6] ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-OH}$), [33.8, 33.2] ($\text{CH-}\beta\text{-N}$), [27.2, 26.6] ppm ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-N}$). + minority peaks of *trans*-I isomer.

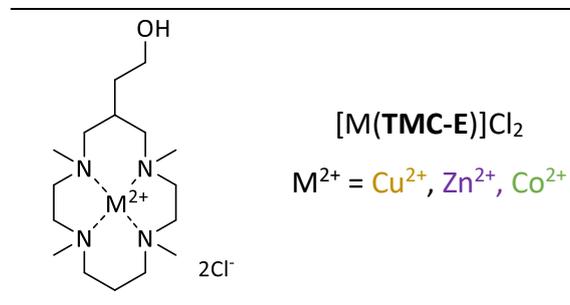


Molecular weight : 402.3 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

DMC-E (49.0 mg, 0.180 mmol), CuCl_2 (25.7 mg, 0.198 mmol).

The compound was obtained as a green powder.

ESI-HR-MS (positive, H_2O): m/z calcd. for $[\text{C}_{14}\text{H}_{31}\text{CoN}_4\text{O}]^{2+}$, 165.0909, found 165.0913
 $[\text{Co}(\text{DMC-E})\text{-H}]^{2+}$, calcd. for $[\text{C}_{15}\text{H}_{33}\text{CoN}_4\text{O}_4]^{2+}$, 196.0911, found 196.0916
 $[\text{Co}(\text{DMC-E})+\text{HCOO}+\text{O}]^{2+}$, calcd. for $[\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{CoN}_4\text{O}_4]^{2+}$, 391.1750, found 391.1751
 $[\text{Co}(\text{DMC-E})\text{-H}+\text{HCOO}+\text{O}]^+$.



Molecular weight : 434.9 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Copper(II) 2-(1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

TMC-E (54.1 mg, 0.180 mmol), CuCl_2 (26.6 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (60.2 mg, 77 %).

ESI-HR-MS (positive, H_2O): m/z calcd. for $[\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{CuN}_4\text{O}]^{2+}$, 181.6087, found 181.6092
 $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$, calcd. for $[\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{CuN}_4\text{O}]^+$, 363.2180, found 363.2179
 $[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^+$,
 $[\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{ClCuN}_4\text{O}]^+$, 398.1868, found 398.1867
 $[\text{Cu}(\text{TMC-E})+\text{Cl}]^+$.

Molecular weight : 436.8 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

TMC-E (54.1 mg, 0.180 mmol), ZnCl₂ (26.9 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a white powder (54.3 mg, 69 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₂N₄OZn]²⁺, 168.0928, found 168.0931 [Zn(TMC-E)]²⁺, calcd. for [C₁₇H₃₆ClN₄OZn]⁺, 399.1864, found 399.1869 [Zn(TMC-E)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₇H₃₇N₄O₃Zn]⁺, 409.2152, found 409.2151 [Zn(TMC-E)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD, 223 K): *trans*-I: δ = 3.66 (m, 2H, CH₂-α-OH), 3.38-3.31 (m, 4H), 3.18-3.14 (m, 2H), 3.02-2.97 (m, 2H), 2.84-2.82 (m, 1H), 2.76-2.73 (m, 1H), [2.60, 2.58, 2.54, 2.53] (4s, 12H, CH₃), 2.53-2.49 (m, 1H, CH-β-N), 2.40-2.33 (m, 4H), 2.28-2.25 (m, 3H), 1.67-1.64 (m, 1H, CH₂-β-N), 1.48-1.47 ppm (m, 2H, CH₂-β-OH).

¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD, 223 K): *trans*-I: δ = 59.7 (CH₂-α-OH), [69.7, 64.3, 63.8, 58.3, 58.1, 58.1, 56.7, 56.3] (CH₂-α-N), [47.6, 46.9, 45.2, 44.5] (N-CH₃), 35.7 (CH₂-β-OH), 27.8 (CH-β-N), 22.2 ppm (CH₂-β-N).

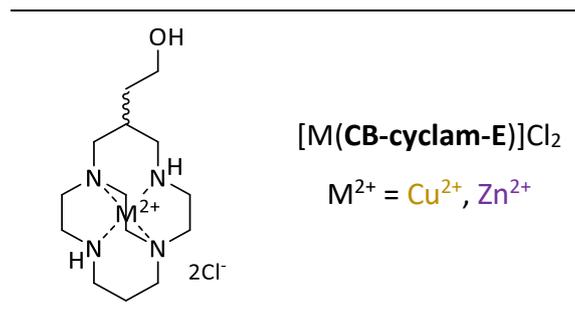
Molecular weight : 430.3 g.mol⁻¹

Cobalt(II) 2-(1,4,8,11-tetramethyl-1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl)ethanol dichloride

TMC-E (54.1 mg, 0.180 mmol), CoCl₂ (25.7 mg, 0.198 mmol).

Complex was obtained as a green powder (44 mg, 57 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₆H₃₆CoN₄O₂]⁺, 179.6105, found 179.6111 [Co(TMC-E)]²⁺, calcd. for [C₁₆H₃₆ClCoN₄O]⁺, 394.1904, found 394.1904 [Co(TMC-E)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₇H₃₇CoN₄O₃]⁺, 404.2192, found 404.2191 [Co(TMC-E)+HCOO]⁺.



$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]\text{Cl}_2$

Molecular weight : 404.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol dichloride

CB-cyclam-E (56.0 mg, 0.207 mmol), CuCl₂ (30.5 mg, 0.227 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (44.9, 52 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₀CuN₄O]²⁺, 166.5852, found 166.5857 [Cu(CB-cyclam-E)]²⁺, calcd. for [C₁₄H₃₀ClCuN₄O]⁺, 368.1399, found 368.1392 [Cu(CB-cyclam-E)+Cl]⁺, calcd. for [C₁₅H₃₁CuN₄O₃]⁺, 378.1687, found 378.1682 [Cu(CB-cyclam-E)+HCOO]⁺.

$[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]\text{Cl}_2$

Molecular weight : 406.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol dichloride

CB-cyclam-E (56.0 mg, 0.207 mmol), ZnCl₂ (31.0 mg, 0.228 mmol).

Complex was obtained as beige powder (50.1 mg, 57 %).

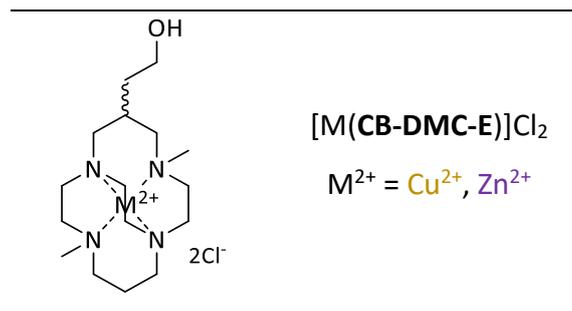
ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₀N₄OZn]²⁺, 167.0852, found 167.0850 [Zn(CB-cyclam-E)]²⁺, calcd. for [C₁₄H₃₀ClN₄OZn]⁺, 369.1394, found 369.1397 [Zn(CB-cyclam-E)+Cl]⁺, calcd for [C₁₅H₃₁N₄O₃Zn]⁺, 379.1682, found 379.1682 [Zn(CB-cyclam-E)+HCOO]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): too complex mixture of *cis-V syn* and *cis-V anti* isomers.

¹³C NMR (125 MHz, D₂O, 298 K):

cis-V syn: δ = 63.2 (CH₂-α-OH), [61.6, 61.2, 58.6, 57.4, 55.9, 55.2, 52.3, 51.6, 51.3, 44.8] (CH₂-α-N), 36.3 (CH₂-β-OH), 35.0 (CH-β-N), 25.0 ppm (CH₂-β-N).

cis-V anti: δ = 67.6 (CH₂-α-OH), [62.0, 61.8, 60.7, 60.6, 54.0, 53.3, X, 50.7, 44.4, 43.5] (CH₂-α-N), 36.8 (CH₂-β-OH), 30.2 (CH-β-N), 24.0 ppm (CH₂-β-N).



Molecular weight : 432.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol dichloride

CB-DMC-E (60 mg, 0.200 mmol), CuCl₂ (26.9 mg, 0.200 mmol).

Complex was obtained as a green powder (41.5mg, 48 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₆H₃₄CuN₄O]²⁺, 180.6009, found 180.6013

[Cu(CB-DMC-E)]²⁺, calcd. for [C₁₆H₃₄CuN₄O₃]²⁺, 196.5958, found 196.5962

[Cu(CB-DMC-E)+2O]²⁺, calcd. for [C₁₆H₃₃CuN₄O]⁺, 360.1945, found 360.1948

[Cu(CB-DMC-E)-H]⁺, calcd. for [C₁₆H₃₄ClCuN₄O]⁺, 396.1712, found 396.1713

[Cu(CB-DMC-E)+Cl]⁺.



Molecular weight : 434.8 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadec-6-yl)ethanol dichloride

CB-DMC-E (90 mg, 0.301 mmol), ZnCl₂ (41.0 mg, 0.301 mmol).

Complex was obtained as beige powder (60.2 mg, 46 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₆H₃₄N₄OZn]⁺, 181.1009, found 181.1007

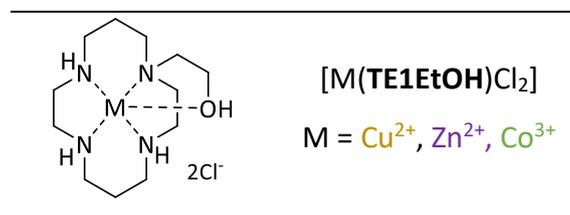
[Zn(CB-DMC-E)]²⁺, calcd. for [C₁₆H₃₄ClN₄OZn]⁺, 397.1712, found 397.1707 [Zn(CB-DMC-E)+Cl]⁺,

calcd. for [C₁₇H₃₅N₄O₃Zn]⁺, 407.1994, found 407.1995 [Zn(CB-DMC-E)+HCOO]⁺.

***cis-V anti*: ¹H NMR** (500 MHz, D₂O, 298 K): δ = 3.68 (t, J = 6.7, 2H), 3.45-3.39 (m, 2H), 3.35-3.29 (m, 2H), 3.15-3.04 (m, 4H), 2.98-2.88 (m, 4H), 2.80-2.71 (m, 3H), 2.64-2.62 (m, 3H), 2.53-2.49 (m, 1H, CH-β-N), 2.41 (s, 3H, CH₃), 2.40 (s, 3H, CH₃), 2.39-2.34 (m, 1H, CH₂-β-N), 2.30 (dd, J = 14.5, 3.1 Hz, 1H), 2.24 (dd, J = 14.7, 3.1 Hz, 1H) 1.69-1.66 (m, 1H, CH₂-β-N), 1.52-1.48 ppm (m, 2H, CH₂-β-OH). **¹³C NMR** (125 MHz, D₂O, 298 K): δ = 61.8 (CH₂-α-OH), [66.9, 66.2, 61.1,

60.8, 60.6, 60.6, 53.7, 53.6, 52.7, 52.7] (CH₂-α-N), [49.9, 49.7] (N-CH₃), 36.8 (CH₂-β-OH), 30.9 (CH-β-N), 24.8 ppm (CH₂-β-N).

cis-V syn: ¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): δ =3.70 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.66-3.59 (m, 1H), 3.50-3.42 (m, 2H), 3.33-3.28 (m, 1H), 3.25-3.20 (m, 3H), 3.17-3.07 (m, 3H), 3.04-2.99 (m, 2H), 2.96-2.93 (m, 2H), 2.90-2.86 (m, 2H), 2.72-2.69 (m, 1H), 2.58 (s, 3H, CH₃), 6.61-6.51 (m, 3H), 2.44 (s, 3H, CH₃), 2.47-2.41 (m, 1H), 2.28 (dd, J = 14.7, 3.9 Hz, 1H) 1.76-1.69 (m, 1H), 1.47 ppm (dt, J = 9.7, 6.8 Hz, 2H). ¹³C NMR (125 MHz, D₂O, 298 K): δ = 61.8 (CH₂-α-OH), [67.9, 63.4, 62.4, 61.8, 61.4, 60.6, 59.9, 59.5, 53.8, 53.8, 53.0] (CH₂-α-N), [49.9, 48.2] (N-CH₃), 37.0 (CH₂-β-OH), 34.4 (CH-β-N), 24.9 ppm (CH₂-β-N).



[Cu(TE1EtOH)]Cl₂

Molecular weight : 378.8 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol dichloride

TE1EtOH (48.9 mg, 0.200 mmol), CuCl₂ (29.6 mg, 0.220 mmol).

Complex was obtained as purple powder (47mg, 60 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈CuN₄O]²⁺, 153.5774, found 153.5776 [Cu(TE1EtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₇CuN₄O]⁺, 306.1475, found 306.1473 [Cu(TE1EtOH)-H]⁺.

[Zn(TE1EtOH)]Cl₂

Molecular weight : 380.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol dichloride

TE1EtOH (48.9 mg, 0.200 mmol), ZnCl₂ (30.0 mg, 0.220 mmol).

Complex was obtained as white powder (43 mg, 55 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈N₄OZn]²⁺, 154.0772, found 154.0772 [Zn(TE1EtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₇N₄OZn]⁺, 307.1471, found 307.1408 [Zn(TE1EtOH)-H]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): complex mixture of 3 forms δ = 3.99-3.82 (m, 2H, CH₂-α-OH), 3.33-2.43 (m, 18H, CH₂-α-N), 2.0-1.65 ppm (m, 4H, CH₂-β-N).

¹³C NMR (125 MHz, D₂O, 298 K): **Isomer 1**: δ = [63.0, 61.5, 61.3, 57.5, 53.3, 52.8, 51.8, 50.6, 50.4, 48.4] (CH₂-α-N, CH₂-α-OH), [30.6, 28.2] ppm (CH₂-β-N). **Isomer 2**: δ = [59.7, 59.0, 57.5, 54.4, 53.7, 52.8, 51.6, 50.8, 48.2, 47.5] (CH₂-α-N, CH₂-α-OH), [27.3, 26.5] ppm (CH₂-β-N). **Isomer 3**: δ = [59.9, 58.9, 54.5, 54.2, 53.7, 53.5, 51.9, 50.0, 48.7, 48.0] (CH₂-α-N, CH₂-α-OH), [29.9, 26.7] ppm (CH₂-β-N).

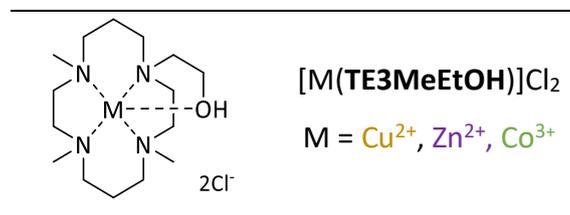


Molecular weight : 374.2 g.mol⁻¹

TE1EtOH (48.9 mg, 0.200 mmol), CoCl₂ (28.6 mg, 0.220 mmol).

Complex was obtained as green powder.

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₂H₂₈CoN₄O]²⁺, 169.0636, found 169.0638
[Co(TE1EtOH)+Cl]²⁺, calcd. for [C₁₂H₂₇CoN₄O]⁺, 337.1200, found 337.1196
[Co(TE1EtOH)-H+Cl]⁺.



Molecular weight : 420.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(4,8,11-trimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol dichloride

TE3MeEtOH (57.2 mg, 0.200 mmol), CuCl₂ (29.6 mg, 0.220 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (55.4 mg, 64 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₅H₃₄CuN₄O]²⁺, 174.6009, found 174.6014
[Cu(TE3MeEtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₅H₃₄CuN₄O]⁺, 349.2023, found 349.2018 [Cu(TE3MeEtOH)]⁺.

Molecular weight : 422.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(4,8,11-trimethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan-1-yl)ethan-1-ol dichloride

TE3MeEtOH (57.2 mg, 0.200 mmol), ZnCl₂ (30.0 mg, 0.220 mmol).

Complex was obtained as white powder (61 mg, 70 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₅H₃₄N₄OZn]²⁺, 175.1007, found 175.1014

[Zn(TE3MeEtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₅H₃₃N₄OZn]⁺, 349.1940, found 349.1942

[Zn(TE3MeEtOH)-H]⁺, calcd. for [C₁₅H₃₃ClN₄OZn]⁺, 385.1707, found 385.1707

[Zn(TE3MeEtOH)+Cl]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): δ = 4.15-4.04 (m, 2H, CH₂-α-OH), 3.45 (td, J = 13.0, 6.4 Hz, 1H), 3.29-3.20 (m, 7H), 3.12-3.07 (m, 1H), 2.94-2.92 (m, 4H), 2.61 (s, 3H, CH₃), 2.53 (s, 3H, CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃), 2.61-2.51 (m, 5H), 2.43-2.36 (m, 2H, CH₂-β-N), 1.77-1.71 ppm (m, 2H, CH₂-β-N). **¹³C NMR** (125 MHz, D₂O, 298 K): δ = [65.0, 64.0, 62.3, 60.1, 59.6, 59.5, 59.1, 53.9, 52.4] (CH₂-α-N), 59.9 (CH₂-α-OH), [48.1, 44.4, 43.6] (N-CH₃), [23.5, 23.1] ppm (CH₂-β-N).

Molecular weight : 416.3 g.mol⁻¹

TE3MeEtOH (57.2 mg, 0.200 mmol), CoCl₂ (28.6 mg, 0.220 mmol).

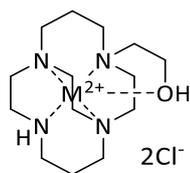
Complex was obtained as green powder.

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₅H₃₃CoN₄O]²⁺, 172.0988, found 172.0991

[Co(TE3MeEtOH)-H]²⁺, *m/z* calcd. for [C₁₅H₃₃ClCoN₄O]⁺, 379.1669, found 379.1671

[Co(TE3MeEtOH)-H+Cl]⁺, *m/z* calcd. for [C₁₆H₃₄CoN₄O₃]⁺, 389.1957, found 389.1959

[Co(TE3MeEtOH)-H+HCOO]⁺.



Molecular weight : 404.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecan-4-yl)ethan-1-ol dichloride
 CB-TE1EtOH (60.0 mg, 0.222 mmol), CuCl₂ (36.0 mg, 0.266 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (37.7 mg, 42 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₀CuN₄O]²⁺, 166.5852, found 166.5855 [Cu(CB-TE1EtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₄H₂₉CuN₄O]⁺, 332.1632, found 332.1622 [Cu(CB-TE1EtOH)-H]⁺, calcd. for [C₁₄H₃₀ClCuN₄O]⁺, 368.1399, found 368.1390 [Cu(CB-TE1EtOH)+Cl]⁺.



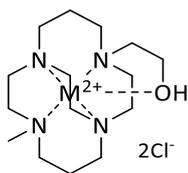
Molecular weight : 406.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecan-4-yl)ethan-1-ol dichloride
 CB-TE1EtOH (60.0 mg, 0.222 mmol), ZnCl₂ (36.2 mg, 0.266 mmol).

Complex was obtained as beige powder (46.9 mg, 52 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₄H₃₀N₄OZn]²⁺, 167.0850, found 167.0853 [Zn(CB-TE1EtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₄H₂₉N₄OZn]⁺, 333.1627, found 333.1620 [Zn(CB-TE1EtOH)-H]⁺, calcd. for [C₁₄H₃₀ClN₄OZn]⁺, 369.1394, found 369.1387 [Zn(CB-TE1EtOH)+Cl]⁺.

¹³C NMR (100 MHz, D₂O, 298 K): δ = [63.8, 62.6, 62.5, 61.4, 61.3, 60.6, 59.8, 54.5, 54.1, 52.2, 51.8, 43.9] (CH₂-α-N, CH₂-α-OH), [26.0, 24.4] ppm (CH₂-β-N).



Molecular weight : 418.9 g.mol⁻¹

Copper(II) 2-(4-methyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane iodide)ethan-1-ol dichloride
 CB-TEMeEtOH.3HCl (63.5 mg, 0.161 mmol), CuCl₂ (26.0 mg, 0.193 mmol).

Complex was obtained as a blue powder (35.1 mg, 52 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₅H₃₂CuN₄O]²⁺, 173.5931, found 173.5935 [Cu(CB-TEMeEtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₅H₃₁CuN₄O]⁺, 346.1788, found 346.1784 [Cu(CB-TEMeEtOH)-H]⁺.



Molecular weight : 420.7 g.mol⁻¹

Zinc(II) 2-(4-methyl-1,4,8,11-tetraazabicyclo[6.6.2]hexadecane iodide)ethan-1-ol dichloride
 CB-TEMeEtOH.3HCl (63.5 mg, 0.161 mmol), ZnCl₂ (26.4 mg, 0.193 mmol).

Complex was obtained as beige powder (40.0 mg, 59 %).

ESI-HR-MS (positive, H₂O): *m/z* calcd. for [C₁₅H₃₂N₄OZn]²⁺, 174.0928, found 174.0930 [Zn(CB-TEMeEtOH)]²⁺, calcd. for [C₁₅H₃₁N₄OZn]⁺, 347.1784, found 347.1779 [Zn(CB-TEMeEtOH)-H]⁺, calcd. for [C₁₅H₃₂ClN₄OZn]⁺, 383.1551, found 383.1555 [Zn(CB-TEMeEtOH)+Cl]⁺.

¹H NMR (500 MHz, D₂O, 298 K): δ = 3.96-3.93 (m, 2H, CH₂-α-OH), 3.37-3.31 (m, 2H), 3.25-3.21 (m, 2H), 3.12-2.74 (m, 12H), 2.70 (dd, J = 13.0, 4.1 Hz, 1H), 2.63 (dd J = 15.4, 5.3 Hz, 1H), 2.51 (s, 3H, CH₃), 2.41 (dd, J = 15.2, 4.5 Hz, 1H), 2.31-2.22 (m, 2H, CH₂-β-N), 1.72-1.68 (m, 2H, CH₂-β-N). **¹³C NMR** (125 MHz, D₂O, 298 K): δ = [63.7, 63.4, 62.6, 62.0, 61.5, 60.8, 58.4, 54.3, 53.8, 53.7, 52.0] (CH₂-α-N), 60.8 (CH₂-α-OH), 51.3 (N-CH₃), [25.8, 25.7] ppm (CH₂-β-N).

X-ray Diffraction (Brest & Rennes & Daejeon).

(Brest) Crystallographic studies were performed on a circular diffractometer X-Calibur-2 CCD 4 (OXFORD DIFFRACTION), including a four-circle goniometer (KM4) and a two dimensional CCD detector (SAPPHIRE 2). The structures were collected using a wavelength of 0.71073 Å (monochromatic 253 radiation MoK α). Data reduction, including inter-frame scaling, Lorentz, polarization, empirical absorption and detector sensitivity corrections, were carried out using attached programs of CrysAlis software⁴² (Oxford Diffraction). Complex scattering factors were taken from the program SHELX9743 running under the WinGX program system. The structure was solved by direct methods with SIR-9745 and refined by full-matrix least-squares on F₂. All hydrogen atoms were included in calculated positions and refined in riding mode

(Rennes) Crystallographic studies were performed on a D8 VENTURE Bruker AXS diffractometer equipped with a (CMOS) PHOTON 100 detector, using Mo-K α radiation ($\lambda = 0.71073$ Å, multilayer monochromator) at $T = 150$ K. The structure was solved by dual-space algorithm using the SHELXT program^[258], and then refined with full-matrix least-squares methods based on F₂ (SHELXL).^[259] All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic atomic displacement parameters. Except linked hydrogen atoms that were introduced in the structural model through Fourier difference maps analysis, H atoms were finally included in their calculated positions and treated as riding on their parent atom with constrained thermal parameters.

(Daejeon) X-ray diffraction data were collected on a Bruker APEX III coated with Paratone-N oil under a stream of N₂ (g) at 153 K.

Potentiometric studies (Brest).

All solutions were prepared in ultrapure H₂O. The carbonate-free solutions of the KOH titrant and the HNO₃ titrant were prepared from a Fluka[®] Analytical ampoule diluted until 1 L with ultrapure H₂O [freshly boiled for ca. 2 h and allowed to cool down at room temperature under Ar (g)]. The titrant solutions were standardized using the Gran method upon titration of a standard HNO₃ solution.^[260] The stock solutions of Cu(II) and Zn(II) were prepared from analytical grade nitrate salts and standardized by complexometric titrations with H₄EDTA (EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid) following standard methods.^[261] Protonation and complexation titrations were performed in a 50 mL glass-jacketed titration cell (Metrohm 727

TiStand) thermostated at 25.0 ± 0.1 °C with a Lauda ecoline 003 circulating water bath and sealed under N₂ (g). The pH-potentiometric titrations were carried out by a Metrohm 888 Titrando connected to a Metrohm 6.0262.100 combined glass electrode. A Metrohm Dosimat Plus auto burette (5 mL) was used. The sample for titrations contained approximately 0.05 mmol of **DMC**, **TMC**, **DMC-E**, and **TMC-E** in a total volume of 30 mL. The ionic strength was kept at 0.10 ± 0.01 M using KNO₃ as the background electrolyte. Batch titration was prepared in a similar way as the direct ones, but each titration point corresponded to 1/10 of the amount of the conventional one. Batch titration points were incubated in tightly closed vials at 25.0 ± 0.1 °C in a Lauda Alpha RA 24 thermostat during 1 week (until potential measurements reached complete stability). The titrations were automatically controlled by software upon selection of suitable parameters. The electromotive force of the sample solutions was measured after calibration of the electrode by titration of a standard HNO₃ solution (1 mM). The [H⁺] of the samples was determined by measuring the electromotive force of the cell, $E = E^{\circ} + Q \log[H^+] + E_j$, where the term pH is defined as $-\log[H^+]$. E° and Q were determined by titration of a solution of the known hydrogen-ion concentration at the same ionic strength. The liquid-junction potential, E_j , was found to be negligible under the experimental conditions used and a value of K_w equal to $10^{-13.78}$ was determined for our experimental conditions. Each titration consisted of 60-80 equilibrium points in the range of pH 2.0–11.5, and at least two replicate titrations were performed for each particular system. Data from potentiometric titrations were used to determine the acidity constants of **DMC**, **TMC**, **DMC-E**, and **TMC-E** and the stability constants of its corresponding metal complexes. The overall equilibrium constants were obtained by refining the potentiometric data with the HyperQuad program.^[262] The errors quoted are the standard deviations of the overall stability constants calculated by the program using all of the experimental data. Species distribution diagrams were plotted from the calculated constants with the HySS program.^[263]

UV-Visible spectra and kinetic inertness studies (Brest).

UV-Visible spectra were recorded on a Jasco V-650 spectrometer using 1 cm cells of 700 μL. The UV-visible spectra of copper(II) complexes were measured at 298 K in ultrapure water at a concentration of 6 mM.

The acid-assisted dissociation of the copper(II) complexes was studied under pseudo-first order conditions without control of ionic strength by addition of an ultrapure aqueous solution of HCl 30 % w/w (9.58 M) (in order to obtain a final concentration in the quartz cell of 3 M or 5 M) to an aqueous solution of the preformed complex (in order to obtain a final concentration in the quartz cell of 3 mM). Dissociation was followed by the decreasing intensity of the absorption band of the d-d transition. The data were fitted to a first-order decreasing exponential equation on OriginPro 9.0 of the form $A_t = A_\infty + (A_0 - A_\infty)e^{-kt}$, where A_t , A_∞ , and A_0 are the absorbances at time t , at the end of the reaction, and at the start of the reaction, with $k = \ln(2)/t_{1/2}$.

Electrochemical measurements (Grenoble).

Cyclic Voltammetry (CV) and electrolysis experiments were performed with a CH Instrument potentiostat (CHI 660B), using a standard one-compartment, three-electrode electrochemical cell. Experiments were conducted at 298 K in CH₃CN + tetra-*n*-butylammonium hexafluorophosphate (TBAPF₆, 0.1M) or DMF + tetra-*n*-butylammonium chloride (TBACl, 0.1M) as supporting electrolyte. Typically, millimolar solutions of the complexes were used for the electrochemical studies. The counter electrode was a platinum wire and an ALS Co. Ltd. Ag⁺|Ag electrode ([Ag⁺]=10⁻² M in CH₃CN) was used as reference. This electrode was separated from the solution by a bridge compartment. For CV measurements, the working electrode was a 1 mm diameter platinum disk which was polished with 1 μm diamond paste before each recording. Reference electrodes were calibrated by addition of ferrocene (Fc⁺/Fc) couple in the solution after each experiment. All measurements were taken in absence of oxygen, by bubbling argon before experiments.

Docking studies (Daejeon).

Flexible ligand docking studies were conducted using AutoDock Vina^[264] against Aβ₄₂ (PDB 1IYT)^[265] that was previously determined by solution NMR spectroscopy. The representative conformation of Aβ₄₂ was selected for docking within the PDB files (1 from PDB 1IYT). The MMFF94 energy minimization function in ChemBio3D 15.0 was employed to optimize the structures of cyclam derivatives prior to the docking studies. Individual structures of Aβ₄₂ and cyclam derivatives were prepared using AutoDock Tools, imported into PyRx,^[266] and used to run AutoDock Vina. The search space for Aβ₄₂ was constrained to contain its whole structure.

The exhaustiveness for the docking runs was set at 1024. The conformations of compounds docked against A β ₄₂ were visualized using Pymol 2.0.7.

A β aggregation experiments (Daejeon).

A β ₄₂ was dissolved in ammonium hydroxide [1 % w/w NH₄OH (aq)]. The resulting solution of A β ₄₂ was aliquoted, lyophilized overnight, and stored at -80 °C. A stock solution of A β ₄₂ was then prepared by dissolving the lyophilized peptide using 1% w/w NH₄OH (aq) (10 μ L) and diluting with H₂O. A β ₄₂ samples were prepared following previously reported procedures.^[267–270] The concentration of the peptide solution was determined by measuring the absorbance of the solution at 280 nm ($\epsilon = 1490 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). The peptide stock solution was diluted to a final concentration of 25 μ M in the Chelex-treated buffer (20 mM HEPES, pH 7.4, 150 mM NaCl). For A β aggregation experiments, compounds (final concentration, 25 μ M) were added to the samples of A β ₄₂ (25 μ M) with and without a metal chloride salt (CuCl₂ or ZnCl₂, 25 μ M) followed by incubation at 37 °C with constant agitation for 3 h.

ESI-MS (Daejeon).

MS experiments were performed following previously reported methods.^[271–273] A β ₄₂ (25 μ M) was incubated with compounds (25 μ M) and/or CuCl₂ (25 μ M) in 20 mM ammonium acetate, pH 7.3 at 37 °C for 3 h. Samples were analyzed by a Agilent 6530 Accurate-Mass quadrupole time-of-flight (Q-TOF) LC/MS (Agilent, CA, USA) equipped with an ESI source. Detector parameters were drying gas heater (300 °C), drying gas flow (12 L/min), nebulizer pressure (50 psi), capillary voltage (5.8 kV), sheath gas temperature (350 °C), and sheath gas flow (11 L/min). The nozzle voltage was 2 kV in positive mode. More than 200 spectra were obtained for each sample and averaged for analysis.

Gel/Western blot (Daejeon).

The resultant A β species from in vitro experiments were analyzed by gel/Western blot using an anti-A β antibody (6E10).^[267–270] The samples (10 μ L) were separated on a 10-20 % Tris-tricine gel (Thermo Fisher Scientific). Following separation, the proteins were transferred onto nitrocellulose membranes and blocked with bovine serum albumin (BSA, 3 % w/v, Sigma-Aldrich) in Tris-buffered saline (TBS) containing 0.1 % v/v Tween-20 (TBS-T) for 4 h (at room temperature) or overnight (at 4 °C). The membranes were incubated with 6E10 (1:2,000,

Covance, Princeton, NJ, USA) in a solution of BSA (2 % w/v in TBS-T) for 4 h (at room temperature) or overnight (at 4 °C). After washing with TBS-T (3x, 10 min), a horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse secondary antibody (1:5,000 in 2 % w/v BSA in TBS-T, Cayman Chemical Company, MI, USA) was added for 1.5 h at room temperature. A homemade ECL kit^[271,272] was used to visualize gel/Western blots on a ChemiDoc MP Imaging System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

TEM (Daejeon).

Samples for TEM were prepared following the previously reported methods.^[268–272] Glow-discharged grids (Formvar/Carbon 300-mesh, Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, USA) were treated with A β samples (25 μ M, 5 μ L) for 2 min at room temperature. Excess sample was removed using filter paper followed by washing twice with H₂O. Each grid incubated with uranyl acetate (1 % w/v, H₂O, 5 μ L) for 1 min was blotted off and dried for 15 min at room temperature. Images for each sample were taken on a Tecnai F20 TEM (200 kV, 29,000 \times magnification, KARA).

Assay for H₂O₂ detection (Daejeon).

Following the manufacturer's procedure of an Amplex Red H₂O₂/peroxidase assay kit (Thermo Fisher Scientific) with minor modifications, compounds (final concentration, 12.5 μ M) were treated to a solution of H₂O₂ (12.5 μ M) in a 96 well plate. In addition, to evaluate the ability of Cyclam and its derivatives to inhibit the production of H₂O₂ by Cu(I/II) or Cu(I/II)–A β ₄₂, compounds (final concentration, 25 μ M) and CuCl₂ (12.5 μ M) were incubated with and without A β ₄₂ (12.5 μ M) for 1 h followed by addition of L-ascorbate (500 μ M, Sigma-Aldrich). Upon treatment of the working solution containing Amplex Red (25 μ M) and horseradish peroxidase (1 U/mL) in 50 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4, the plate was incubated at room temperature for 30 min. The absorbance of resorufin, a red chromophore product from Amplex Red, was measured at 560 nm. The amount of H₂O₂ presented in the samples was determined based on the standard curve that was obtained using various concentrations of H₂O₂ (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, and 50 μ M).

Cell viability measurements (Daejeon).

The human neuroblastoma SH-SY5Y cell line was purchased from the American Type Culture Collection (ATCC, VA, USA). Cells were maintained in media containing 50 % v/v minimum essential medium (MEM) and 50 % v/v F12 (GIBCO, NY, USA), and supplemented with 10 % v/v fetal bovine serum (Sigma-Aldrich), 100 U/mL penicillin, and 100 mg/mL streptomycin (GIBCO). Cells were grown and maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5 % CO₂. Cell viability was determined by the MTT assay. The cells were seeded in a 96 well plate (15,000 cells in 100 µL per well). (i) To identify the cytotoxicity of compounds with and without metal ions, the cells were treated with cyclam derivatives (50 µM) with and without a metal chloride salt (50 µM). (ii) For the experiments with Aβ, Aβ₄₂ (50 µM) was added to the cells with cyclam derivatives (50 µM) in the absence and presence of a metal chloride salt (50 µM) (iii) To identify cytotoxicity of cobalt complexes, cells were treated with 5, 10, 25, 50, 100 or 200 µM. After 24 h incubation, MTT [25 µM, 5 mg/mL in PBS (pH 7.4, GIBCO)] was added to each well and the plate was incubated for 3 h at 37 °C. Formazan produced by the cells was solubilized by adding an acidic solution of N,N-dimethylformamide (DMF, 50 % v/v, aq, pH 4.5) and sodium dodecyl sulfate (SDS, 20 % w/v) overnight at room temperature in the dark. The absorbance was measured at 600 nm using a microplate reader. Cell viability was calculated relative to cells containing an equivalent amount of H₂O. Error bars were calculated as the standard error of the mean from three independent experiments. Statistical difference between groups was evaluated by Student's unpaired t test and considered significant at *P < 0.05.

X-ray data

compound	4	15	20
formula	C ₁₄ H ₂₈ N ₄ O	C ₁₆ H ₃₅ IN ₄ O	C ₁₂ H ₃₀ Cl ₂ N ₄ O
MW (g.mol ⁻¹)	268.40	426.38	317.30
crystal system	triclinic	monoclinic	triclinic
space group	P-1	C121	P-1
T (K)	170	170	170
λ (Å)	0.71073	0.71073	0.71037
a (Å)	8.4724(6)	15.4401(6)	7.5657(4)
b (Å)	8.8104(6)	8.6818(4)	8.6576(5)
c (Å)	10.4428(7)	15.1294(9)	13.8263(8)
α (°)	102.601(6)	90	88.062(4)
β (°)	95.879(6)	103.363(5)	82.204(5)
γ (°)	107.157(6)	90	76.110(5)
V (Å ³)	715.16(9)	1973.15(17)	871.03(8)
Z	2	4	2
D _{calc} (mg/m ³)	1.246	1.435	1.210
μ (mm ⁻¹)	0.081	1.631	0.373
F(000)	296	880	344
θ range (°)	3.46 to 26.37	3.64 to 26.37	3.34 to 26.37
reflns collect	5561	6323	10717
unique reflns	2904	3697	3564
R _{int}	0.0256	0.0592	0.1043
GOF on F ²	0.883	1.038	1.027
R ₁	0.0428	0.0645	0.0742
wR ₂ (all data)	0.0974	0.1869	0.2081
Largest diff. peak and hole (eÅ ⁻³)	0.243 and -0.159	0.958 and -0.452	0.926 and -0.277

compound	Cu(DMC) ²⁺	Zn(DMC) ²⁺	Cu(TMC-E) ²⁺	Zn(TMC-E) ²⁺
formula	C ₁₂ H ₃₂ Cl ₂ CuN ₄ O ₂	C ₁₂ H ₂₈ Cl ₂ N ₄ Zn	C ₁₆ H ₃₆ ClCu I _{0.34} N _{4.66} O _{2.97}	C ₆₄ H ₁₄₄ Cl ₅ N ₁₉ O ₁₃ Zn ₄
MW (g.mol ⁻¹)	398.85	364.65	483.39	1826.71
crystal system	triclinic	monoclinic	orthorhombic	monoclinic
space group	P-1	C2/c	Pnma	P21/n
T (K)	150	100	133	150
λ (Å)	0.71073	0.700	0.71073	0.71073
a (Å)	6.8028(6)	16.424(3)	22.5502(10)	8.8664(4)
b (Å)	8.9084(8)	6.4810(13)	10.7372(5)	22.2898(9)
c (Å)	8.9143(7)	6.486(3)	8.6348(4)	10.7157(5)
α (°)	112.585(2)	90	90	90
β (°)	105.825(2)	112.23(3)	90	91.045(5)
γ (°)	102.896(2)	90	90	90
V (Å ³)	446.00(7)	1624.4(6)	2090.71(17)	2117.39(16)
Z	1	4	4	1
D _{calc} (mg/m ³)	1.485	1.491	1.536	1.433
μ (mm ⁻¹)	1.533	1.755	1.699	1.344
F(000)	211	768	1010	970
θ range (°)	2.70 to 27.52	1.31 to 24.98	3.53 to 26.36	3.34 to 26.37
reflns collect	10239	8024	13485	21603
unique reflns	2031	2121	2250	4320
R _{int}	0.0584	0.0675	0.0553	0.0890
GOF on F ²	1.074	1.034	1.096	1.143
R ₁	0.0378	0.0825	0.0626	0.0469
wR ₂ (all data)	0.0954	0.2644	0.1694	0.1369
Largest diff. peak and hole (eÅ ⁻³)	0.440 and -1.197	1.760 and -0.955	1.176 and -0.603	1.009 and -0.412

compound	Zn(CB-cyc-E) ²⁺	Cu(TE1EtOH) ²⁺	Cu(TE3MeEtOH) ²⁺	Zn(TE3MeEtOH) ²⁺
formula	C ₃₂ H ₆₆ Cl ₄ N ₁ O ₂ Zn ₂	C ₁₂ H ₃₁ Cl ₂ Cu N ₄ O _{2.50}	C ₁₅ H ₃₄ Cl ₂ Cu N ₄ O ₉	C ₁₅ H ₃₈ Cl ₄ N ₄ O ₃ Zn ₂
MW (g.mol ⁻¹)	895.48	405.85	548.90	595.03
crystal system	monoclinic	monoclinic	orthorhombic	orthorhombic
space group	P21/n	C2/c	Pna21	Pbca
T (K)	150	150	150	150
λ (Å)	0.71073	0.71073	0.71073	0.71073
a (Å)	9.1627(8)	17.5231(10)	15.2412(16)	14.919(2)
b (Å)	20.5046(18)	9.0433(5)	14.7907(17)	17.057(2)
c (Å)	11.4454(10)	23.9772(13)	10.0443(13)	19.439(2)
α (°)	90	90	90	90
β (°)	106.902(4)	105.052(2)	90	90
γ (°)	90	90	90	90
V (Å ³)	2057.4(3)	3669.2(4)	2264.3(5)	4946.7(10)
Z	2	8	4	8
D _{calc} (mg/m ³)	1.445	1.469	1.610	1.598
μ (mm ⁻¹)	1.468	1.494	1.254	2.394
F(000)	944	1712	1148	2464
θ range (°)	2.527 to 27.491	2.407 to 27.505	3.36 to 26.37	3.44 to 26.37
reflns collect	14541	24504	13091	17758
unique reflns	4683	4151	4480	5059
R _{int}	0.0313	0.0705	0.0887	0.0512
GOF on F ²	1.034	1.064	1.028	1.049
R ₁	0.0380	0.0442	0.0741	0.0629
wR ₂ (all data)	0.0929	0.1132	0.2266	0.1920
Largest diff. peak and hole (eÅ ⁻³)	0.660 and -0.449	0.520 and -1.197	0.940 and -0.501	0.894 and -1.221

Annexes

^1H , ^{13}C and 2D HMBC ^1H - ^{13}C , HMQC ^1H - ^{13}C , COSY ^1H - ^1H NMR spectra have been recorded for $[\text{Zn}(\text{cyclam-E})]\text{Cl}_2$, $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$, $[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})]\text{Cl}_2$, $[\text{Zn}(\text{CB-DMC})]\text{Cl}_2$, *syn*- $[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$, *anti*- $[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]\text{Cl}_2$, $[\text{Zn}(\text{TE3MeEtOH})]\text{Cl}_2$ and $[\text{Zn}(\text{CB-TEMeEtOH})]\text{Cl}_2$.

Only spectra of $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$ are presented there. Analyses of this compound allow us to attribute almost all signals but it was not possible for all compounds due to very small gap between certain peaks on ^{13}C NMR and overlap on ^1H NMR. Moreover, some compounds adopt up to 3 isomers thus too many signals which prevent attribution.

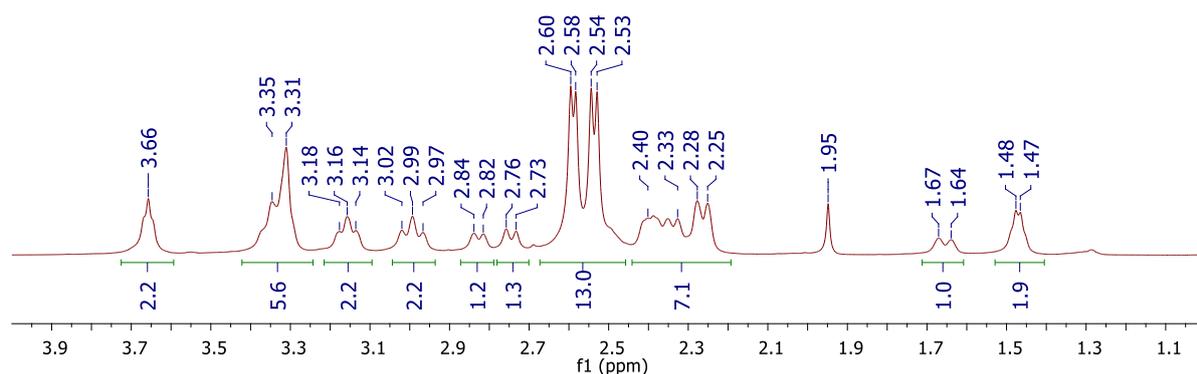


Figure 158. ^1H NMR spectrum (500 MHz, CD_3OD , 223 K) of $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$.

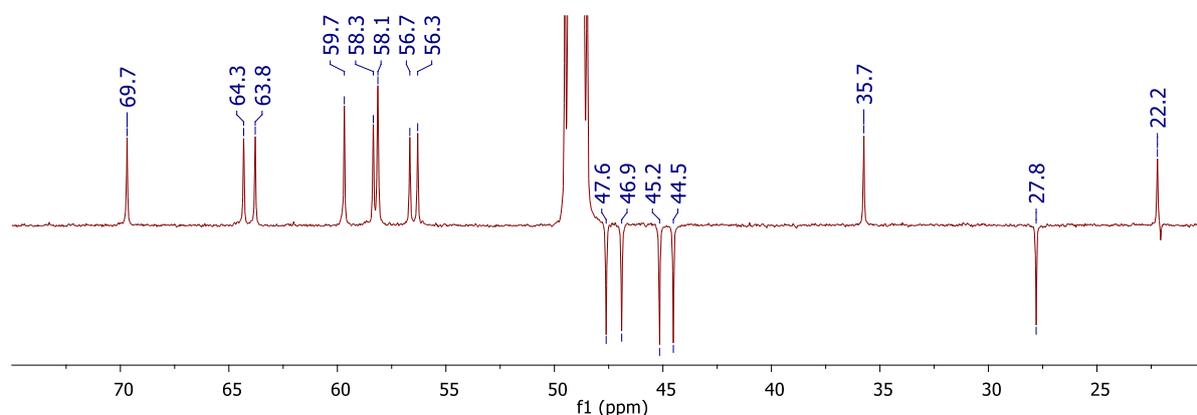


Figure 159. ^{13}C NMR spectrum (125 MHz, CD_3OD , 223 K) of $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$.

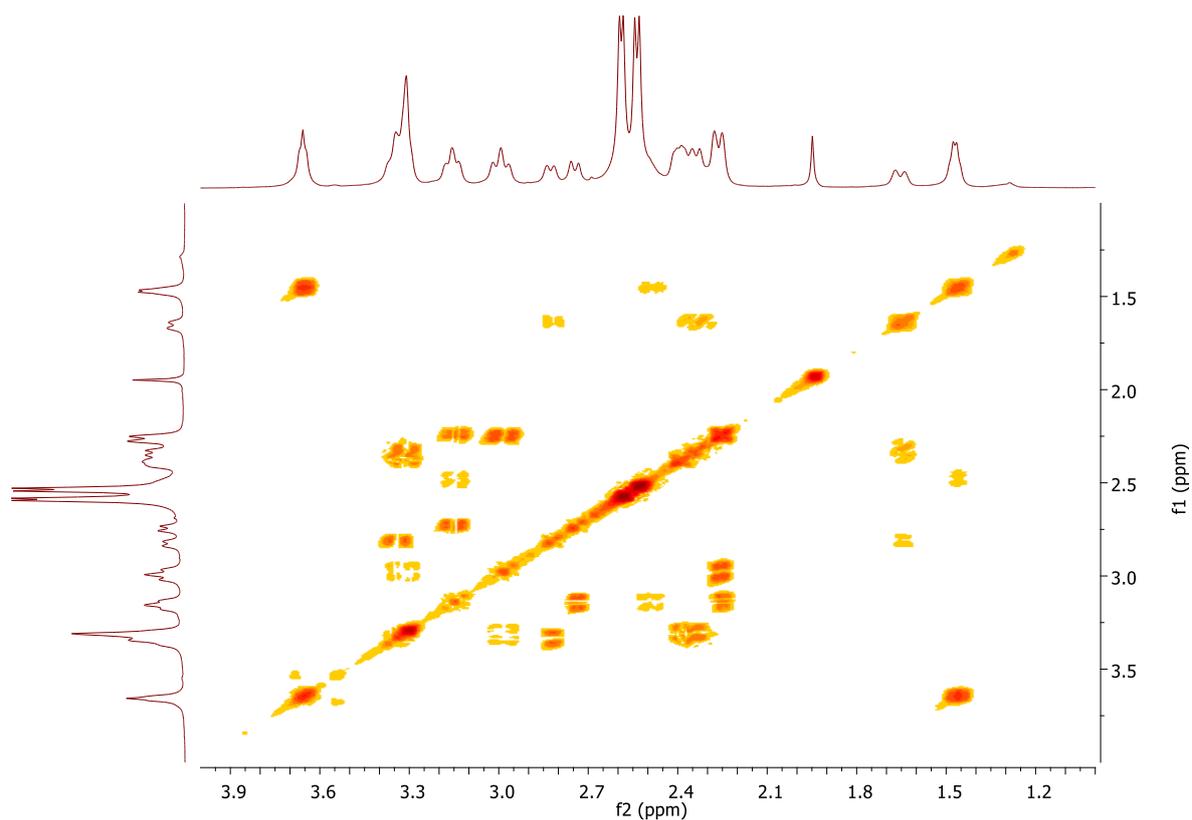


Figure 160. 2D COSY ^1H - ^1H NMR spectrum (500 MHz, CD_3OD , 223 K) of $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$.

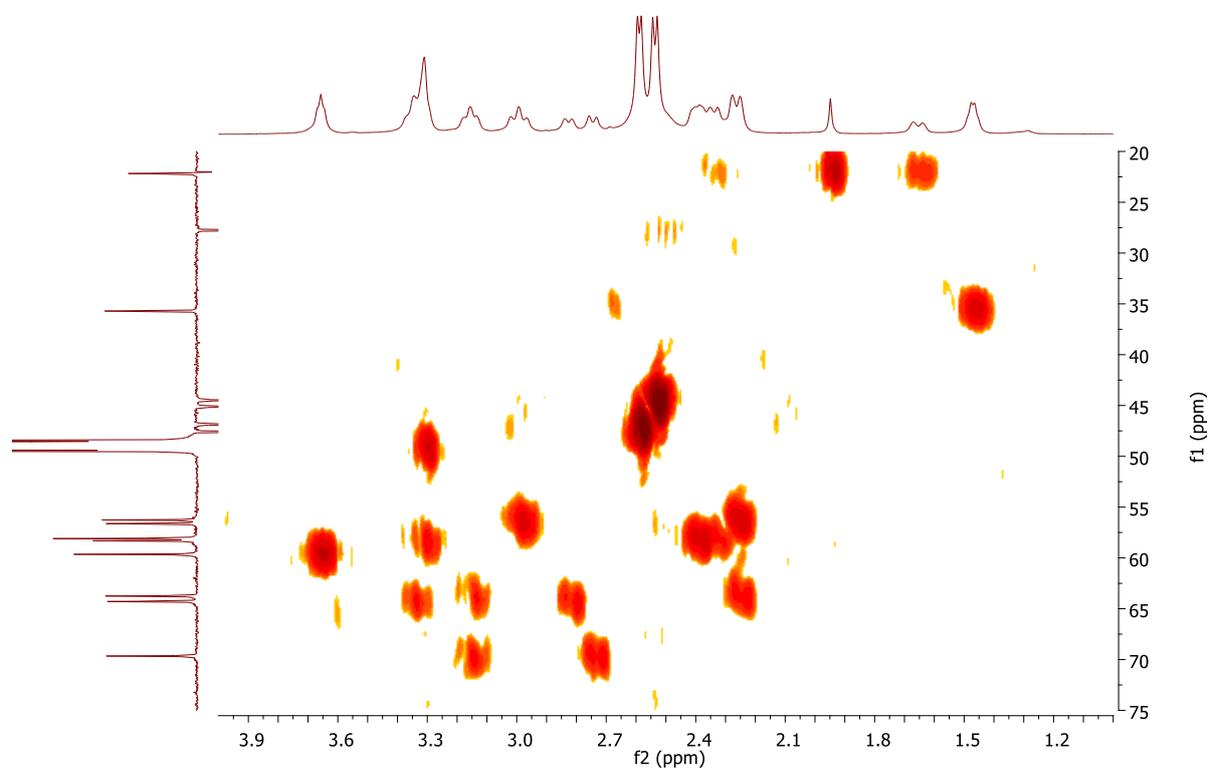


Figure 161. 2D HMQC ^1H - ^{13}C NMR spectrum (500 MHz-125 MHz, CD_3OD , 223 K) of $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$.

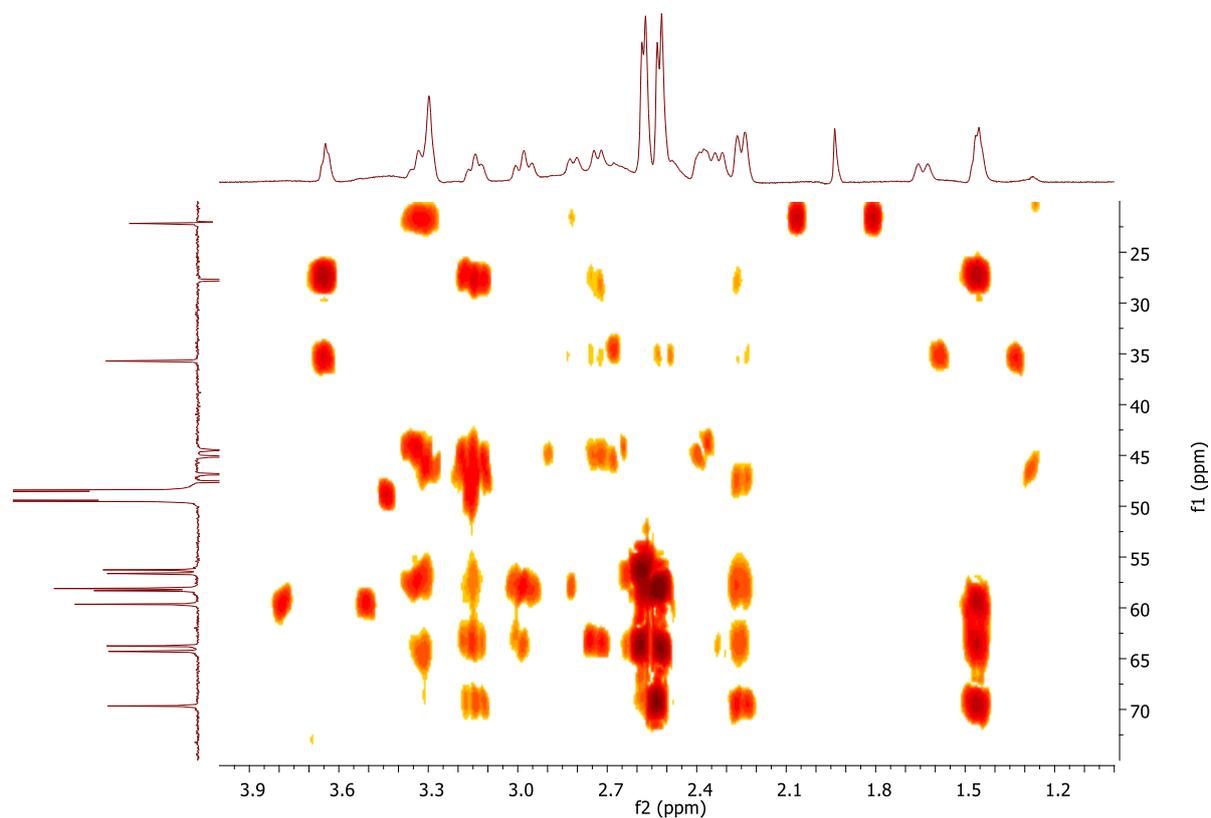
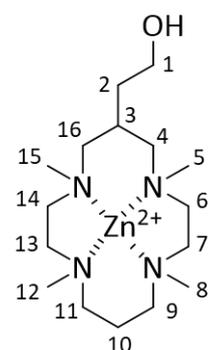


Figure 162. 2D HMBC ^1H - ^{13}C NMR spectrum (500 MHz-125 MHz, CD_3OD , 223 K) of $[\text{Zn}(\text{TMC-E})]\text{Cl}_2$.

Table 1. ^{13}C and ^1H NMR shift (ppm).

	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ NMR (ppm)
1	59.7	3.66
2	35.7	1.48-1.47
3	27.8	2.53-2.49
4	63.8	3.18-3.14 / 2.28-2.25
5	47.6	2.60 or 2.58
6	56.7 or 56.3	3.02-2.97 / 2.28-2.25
7	58.1 or 58.3	3.38-3.31 / 2.40-2.33
8	44.5	2.54 or 2.53
9	58.1	3.38-3.31 / 2.40-2.33
10	22.2	2.40-2.33 / 1.67-1.64
11	64.3	3.38-3.31 / 2.84-2.84
12	46.9	2.60 or 2.58
13	56.7 or 56.3	3.02-2.97 / 2.28-2.25
14	58.1 or 58.3	3.38-3.31 / 2.40-2.33
15	45.2	2.54 or 2.53
16	69.7	3.18-3.14 / 2.76-2.73



Tableaux des résultats de chimie de coordination

Géométries des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ étudiés

complexes	géométries	configurations
$[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ (<i>trans</i> -I)	PbC	<i>trans</i> -I
$[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ (<i>trans</i> -III)	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ (<i>trans</i> -I)	PbC	<i>trans</i> -I
$[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ (<i>trans</i> -III)	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$	PbC / BPbT	<i>cis</i> -V
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$	PbC	<i>cis</i> -V
$[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$	PC / BPbT	<i>cis</i> -V
$[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$	PC / BPbT	<i>cis</i> -V
$[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$	OD	<i>trans</i> -III
$[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$	PbC	<i>trans</i> -I
$[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$	PbC. (<i>à confirmer</i>)	<i>cis</i> -V
$[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$	PC / BPbT	<i>cis</i> -V

OD = octaédrique déformée
PbC = Pyramide à base carrée
BPbT = Bipyramide trigonale

Temps de demi-vie des complexes $[\text{Cu}(\text{L})]^{2+}$ étudiés

complexes	$t_{1/2}$
<u>HCl 5 M à 30 °C</u>	
$[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ (<i>trans</i> -I)	< 2
$[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ (<i>trans</i> -I)	< 2
$[\text{Cu}(\text{TE3MeEtOH})]^{2+}$	14
$[\text{Cu}(\text{TE1EtOH})]^{2+}$	138
<u>HCl 5 M à 50 °C</u>	
$[\text{Cu}(\text{DMC})]^{2+}$	183
$[\text{Cu}(\text{TMC})]^{2+}$ (<i>trans</i> -III)	374
$[\text{Cu}(\text{cyclam})]^{2+}$	384
$[\text{Cu}(\text{DMC-E})]^{2+}$	438
$[\text{Cu}(\text{cyclam-E})]^{2+}$	579
$[\text{Cu}(\text{TMC-E})]^{2+}$ (<i>trans</i> -III)	699
<u>HCl 5 M à 70 °C</u>	
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam-E})]^{2+}$	128
$[\text{Cu}(\text{CB-DMC})]^{2+}$	133
$[\text{Cu}(\text{CB-cyclam})]^{2+}$	140
$[\text{Cu}(\text{CB-DMC-E})]^{2+}$	141
$[\text{Cu}(\text{CB-TE1EtOH})]^{2+}$	501
$[\text{Cu}(\text{CB-TEMeEtOH})]^{2+}$	1356

Ratios des configurations des complexes $[\text{Zn}(\text{L})]_2\text{Cl}_2$ étudiés

complexes	<i>trans</i> -I	<i>trans</i> -III	<i>cis</i> -V
$[\text{Zn}(\text{cyclam})]_2\text{Cl}_2^a$	11	82	7
$[\text{Zn}(\text{cyclam-E})]_2\text{Cl}_2$	12	68	20
$[\text{Zn}(\text{DMC})]_2\text{Cl}_2$	47	9	44
$[\text{Zn}(\text{DMC-E})]_2\text{Cl}_2$	38	13	49
$[\text{Zn}(\text{TMC})]_2\text{Cl}_2$	100	-	-
$[\text{Zn}(\text{TMC-E})]_2\text{Cl}_2$	100	-	-
$[\text{Zn}(\text{CB-cyclam})]_2\text{Cl}_2$	-	-	100
$[\text{Zn}(\text{CB-cyclam-E})]_2\text{Cl}_2$	-	-	100
$[\text{Zn}(\text{CB-DMC})]_2\text{Cl}_2$	-	-	100
$[\text{Zn}(\text{CB-DMC-E})]_2\text{Cl}_2$	-	-	100
$[\text{Zn}(\text{TE1EtOH})]_2\text{Cl}_2$	X	X	X
$[\text{Zn}(\text{TE3MeEtOH})]_2\text{Cl}_2$	100	-	-
$[\text{Zn}(\text{CB-TE1EtOH})]_2\text{Cl}_2$	-	-	100
$[\text{Zn}(\text{CB-TEMeEtOH})]_2\text{Cl}_2$	-	-	100

^a Les valeurs rapportées par Sadler sont de 11, 80 and 9 % pour les configurations *trans*-I, *trans*-III et *cis*-V.

Potentiels métal des ligands étudiés

ligands	pCu	pZn
cyclam	20,4	9,2
cyclam-E	19,5	9,2
DMC*	16,0	8,6
DMC-E*	14,1	8,1
TMC*	14,7	7,8
TMC-E*	14,2	7,5
TE1EtOH	11,2	6,1
TE3MeEtOH	15,5	8,0
Aβ	≈ 11	≈ 6

* Ces travaux

Références Bibliographiques

- [1] M. Nuñez, P. Chana-Cuevas, *Pharmaceuticals* **2018**, *11*, 109.
- [2] R. J. Radford, S. J. Lippard, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2013**, *17*, 129–136.
- [3] J. Smirnova, E. Kabin, I. Järving, O. Bragina, V. Tõugu, T. Plitz, P. Palumaa, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 1463.
- [4] J. S. Derrick, J. Lee, S. J. C. Lee, Y. Kim, E. Nam, H. Tak, J. Kang, M. Lee, S. H. Kim, K. Park, J. Cho, M. H. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 2234–2244.
- [5] M. Le Baccon, F. Chuburu, L. Toupet, H. Handel, M. Soibinet, I. De'champs-Olivier, J.-P. Barbier, M. Aplincourt, *New J. Chem.* **2001**, *25*, 1168–1174.
- [6] L. M. P. Lima, M. Beyler, R. Delgado, C. Platas-Iglesias, R. Tripier, *Inorg. Chem.* **2015**, *54*, 7045–7057.
- [7] M. Le Fur, E. Molnár, M. Beyler, F. K. Kálmán, O. Fougère, D. Esteban-Gómez, O. Rousseaux, R. Tripier, G. Tircsó, C. Platas-Iglesias, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 3127–3131.
- [8] A. Guillou, L. M. P. Lima, D. Esteban-Gómez, N. Le Poul, M. D. Bartholomä, C. Platas-Iglesias, R. Delgado, V. Patinec, R. Tripier, *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, 2669–2685.
- [9] A. Rodríguez-Rodríguez, M. Regueiro-Figueroa, D. Esteban-Gómez, T. Rodríguez-Blas, V. Patinec, R. Tripier, G. Tircsó, F. Carniato, M. Botta, C. Platas-Iglesias, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 1110–1117.
- [10] N. Hamon, A. Roux, M. Beyler, J.-C. Mulatier, C. Andraud, C. Nguyen, M. Maynadier, N. Bettache, A. Duperray, A. Grichine, S. Brasselet, M. Gary-Bobo, O. Maury, R. Tripier, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 10184–10197.
- [11] A. Guillou, *Inorg. Biochem.* **2020**, *20*, 110978.
- [12] N. Camus, R. Tripier, *brevet n° WO2013/072491* **2012**.
- [13] J.-F. Morfin, R. Tripier, M. L. Baccon, H. Handel, *Polyhedron* **2009**, *28*, 3691–3698.
- [14] M. Frindel, N. Camus, A. Rauscher, M. Bourgeois, C. Alliot, L. Barré, J.-F. Gestin, R. Tripier, A. Faivre-Chauvet, *Nucl. Med. Biol.* **2014**, *41*, e49–e57.
- [15] M. Frindel, P. Le Saëc, M. Beyler, A.-S. Navarro, C. Saï-Maurel, C. Alliot, M. Chérel, J.-F. Gestin, A. Faivre-Chauvet, R. Tripier, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 9272–9283.
- [16] T. Le Bihan, A.-S. Navarro, N. Le Bris, P. Le Saëc, S. Gouard, F. Haddad, J.-F. Gestin, M. Chérel, A. Faivre-Chauvet, R. Tripier, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 4261–4271.
- [17] J. Mendy, A. Thy Bui, A. Roux, J. Mulatier, D. Curton, A. Duperray, A. Grichine, Y. Guyot, S. Brasselet, F. Riobé, C. Andraud, B. Le Guennic, V. Patinec, Pr. R. Tripier, M. Beyler, O. Maury, *ChemPhysChem* **2020**, *21*, 1036–1043.
- [18] L. Grenier, M. Beyler, C. Platas-Iglesias, T. Closson, D. E. Gómez, D. S. Seferos, P. Liu, O. I. Ornatsky, V. Baranov, R. Tripier, *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 15387–15400.

- [19] L. Grenier, M. Beyler, T. Closson, N. Zabinyakov, A. Bouzekri, Y. Zhang, J. M. Pichaandi, M. A. Winnik, P. Liu, O. I. Ornatsky, V. Baranov, R. Tripier, *Bioconjugate Chem.* **2020**, *31*, 2103–2115.
- [20] A. Conte-Daban, M. Beyler, R. Tripier, C. Hureau, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 8447–8452.
- [21] K. P. Wainwright, *Coord. Chem. Rev.* **1997**, *166*, 35–90.
- [22] N. C. Berchtold, C. W. Cotman, *Neurobiol. Aging* **1998**, *19*, 173–189.
- [23] 2019 alzheimer facts and figures, *Alzheimer Dement* **2019**, *15*, 321–387.
- [24] World Alzheimer Report 2018, *Alzheimer's Disease International* **2018**, 1–48.
- [25] Dementia : A public health priority, *World Health Organization* **2017**.
- [26] Y. Huang, L. Mucke, *Cell* **2012**, *148*, 1204–1222.
- [27] Les Laboratoires Servier, “Servier Medical Art,” can be found under <https://smart.servier.com/>, **2020**.
- [28] K. R. Brunden, J. Q. Trojanowski, V. M.-Y. Lee, *Nat Rev Drug Discov* **2009**, *8*, 783–793.
- [29] T. F. Gendron, L. Petrucelli, *Mol Neurodegeneration* **2009**, *4*, 13.
- [30] F. Clavaguera, T. Bolmont, R. A. Crowther, D. Abramowski, S. Frank, A. Probst, G. Fraser, A. K. Stalder, M. Beibel, M. Staufenbiel, M. Jucker, M. Goedert, M. Tolnay, *Nat Cell Biol* **2009**, *11*, 909–913.
- [31] M. Jucker, L. C. Walker, *Nature* **2013**, *501*, 45–51.
- [32] G. Thinakaran, E. H. Koo, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 29615–29619.
- [33] C. Deyts, G. Thinakaran, A. T. Parent, *Trends Pharmacol. Sci.* **2016**, *37*, 390–411.
- [34] P. R. Turner, K. O'Connor, W. P. Tate, W. C. Abraham, *Prog. Neurobiol.* **2003**, *70*, 1–32.
- [35] J. Jiang, Y. Wang, L. Hou, L. Fan, Q. Wang, Z. Xu, Q. Sun, H. Liu, *Curr Alzheimer Res* **2013**, *10*, 706–713.
- [36] F. Chiti, C. M. Dobson, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 333–366.
- [37] R. Jakob-Roetne, H. Jacobsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3030–3059.
- [38] Y. L. Lyubchenko, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Nebraska Medical Center, Omaha, NE 68198, USA, *AIMS Molecular Science* **2015**, *2*, 190–210.
- [39] H. Naiki, K. Higuchi, M. Hosokawa, T. Takeda, *Anal. Biochem.* **1989**, *177*, 244–249.
- [40] C. Xue, T. Y. Lin, D. Chang, Z. Guo, *R. Soc. open sci.* **2017**, *4*, 160696.
- [41] M. R. Wilson, J. J. Yerbury, S. Poon, *Mol. BioSyst.* **2008**, *4*, 42–52.
- [42] P. Faller, C. Hureau, *Front. Chem.* **2021**, *8*, 611227.
- [43] T. Qiu, Q. Liu, Y.-X. Chen, Y.-F. Zhao, Y.-M. Li, *J. Pept. Sci.* **2015**, *21*, 522–529.
- [44] M. Meyer-Luehmann, J. Coomaraswamy, T. Bolmont, S. Kaeser, C. Schaefer, E. Kilger, A. Neuenschwander, D. Abramowski, P. Frey, A. L. Jaton, J.-M. Vigouret, P. Paganetti, D. M. Walsh, P. M. Mathews, J. Ghiso, M. Staufenbiel, L. C. Walker, M. Jucker, *Science* **2006**, *313*, 1781.
- [45] M. D. Kane, W. J. Lipinski, M. J. Callahan, F. Bian, R. A. Durham, R. D. Schwarz, A. E. Roher, L. C. Walker, *J. Neurosci.* **2000**, *20*, 3606–3611.
- [46] C. S. Atwood, R. D. Moir, X. Huang, R. C. Scarpa, N. M. E. Bacarra, D. M. Romano, M. A. Hartshorn, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 12817–12826.
- [47] P. Faller, C. Hureau, *Dalton Trans.* **2009**, 1080–1094.
- [48] X. Huang, C. S. Atwood, M. A. Hartshorn, G. Multhaup, L. E. Goldstein, R. C. Scarpa, M. P. Cuajungco, D. N. Gray, J. Lim, R. D. Moir, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *Biochemistry* **1999**, *38*, 7609–7616.
- [49] D. G. Smith, R. Cappai, K. J. Barnham, *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1768*, 1976–1990.
- [50] I. Zawisza, M. Rózga, W. Bal, *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 2297–2307.
- [51] P. Faller, C. Hureau, O. Berthoumieu, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 12193–12206.

- [52] B. Alies, E. Renaglia, M. Rózga, W. Bal, P. Faller, C. Hureau, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 1501–1508.
- [53] B. Alies, B. Badej, P. Faller, C. Hureau, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 1161–1167.
- [54] B. Halliwell, *J Neurochem* **2006**, *97*, 1634–1658.
- [55] C. Hureau, *l'actualité chimique* **2013**, *380*, 31–37.
- [56] A. I. Bush, W. H. Pettingell, G. Multhaup, M. d Paradis, J. P. Vonsattel, J. F. Gusella, K. Beyreuther, C. L. Masters, R. E. Tanzi, *Science* **1994**, *265*, 1464–1467.
- [57] X. Huang, C. S. Atwood, R. D. Moir, M. A. Hartshorn, J.-P. Vonsattel, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 26464–26470.
- [58] S.-T. Liu, G. Howlett, C. J. Barrow, *Biochemistry* **1999**, *38*, 9373–9378.
- [59] K. Garai, P. Sengupta, B. Sahoo, S. Maiti, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, *345*, 210–215.
- [60] K. Garai, B. Sahoo, S. K. Kaushalya, R. Desai, S. Maiti, *Biochemistry* **2007**, *46*, 10655–10663.
- [61] N. T. Watt, I. J. Whitehouse, N. M. Hooper, *J. Alzheimer's Dis.* **2011**.
- [62] J. A. Hardy, G. A. Higgins, *Science* **1992**, *256*, 184–185.
- [63] Cell Signaling TECHNOLOGY, www.cellsignal.com, *Amyloid Plaque and Neurofibrillary Tangle Formation in Alzheimer's Disease* **2012**.
- [64] J. S. Birks, *Cochrane Database Syst. Rev.* **2006**, n°CD005593.
- [65] Haute Autorité de Santé, *Rapport d'évaluation des médicaments* **2016**.
- [66] C. M. Wischik, P. C. Edwards, R. Y. Lai, M. Roth, C. R. Harrington, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 11213–11218.
- [67] M. Hosokawa, T. Arai, M. Masuda-Suzukake, T. Nonaka, M. Yamashita, H. Akiyama, M. Hasegawa, *PLoS ONE* **2012**, *7*, e52389.
- [68] T. C. Baddeley, J. McCaffrey, J. M. D. Storey, J. K. S. Cheung, V. Melis, D. Horsley, C. R. Harrington, C. M. Wischik, *J Pharmacol Exp Ther* **2015**, *352*, 110–118.
- [69] C. M. Wischik, R. T. Staff, D. J. Wischik, P. Bentham, A. D. Murray, J. M. D. Storey, K. A. Kook, C. R. Harrington, *JAD* **2015**, *44*, 705–720.
- [70] S. Gauthier, H. H. Feldman, L. S. Schneider, G. K. Wilcock, G. B. Frisoni, J. H. Hardlund, H. J. Moebius, P. Bentham, K. A. Kook, D. J. Wischik, B. O. Schelter, C. S. Davis, R. T. Staff, L. Bracoud, K. Shamsi, J. M. D. Storey, C. R. Harrington, C. M. Wischik, *The Lancet* **2016**, *388*, 2873–2884.
- [71] G. K. Wilcock, S. Gauthier, G. B. Frisoni, J. Jia, J. H. Hardlund, H. J. Moebius, P. Bentham, K. A. Kook, B. O. Schelter, D. J. Wischik, C. S. Davis, R. T. Staff, V. Vuksanovic, T. Ahearn, L. Bracoud, K. Shamsi, K. Marek, J. Seibyl, G. Riedel, J. M. D. Storey, C. R. Harrington, C. M. Wischik, *JAD* **2017**, *61*, 435–457.
- [72] B. Bulic, M. Pickhardt, I. Khlistunova, J. Biernat, E.-M. Mandelkow, E. Mandelkow, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 9215–9219.
- [73] M. Masuda, N. Suzuki, S. Taniguchi, T. Oikawa, T. Nonaka, T. Iwatsubo, S. Hisanaga, M. Goedert, M. Hasegawa, *Biochemistry* **2006**, *45*, 6085–6094.
- [74] A. Lorenzo, B. A. Yankner, *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 12243–12247.
- [75] P. Frid, S. V. Anisimov, N. Popovic, *Brain Res. Rev.* **2007**, *53*, 135–160.
- [76] W. E. Klunk', M. L. Debnath', A. M. C. Koros', J. W. Pettegrew', *Life Sci.* **1998**, *63*, 1807–1814.
- [77] S. Taniguchi, N. Suzuki, M. Masuda, S. Hisanaga, T. Iwatsubo, M. Goedert, M. Hasegawa, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 7614–7623.

- [78] A. K. Buell, C. M. Dobson, T. P. J. Knowles, M. E. Welland, *Biophys. J.* **2010**, *99*, 3492–3497.
- [79] K. Ono, Y. Yoshiike, A. Takashima, K. Hasegawa, H. Naiki, M. Yamada, *J. Neurochem.* **2003**, *87*, 172–181.
- [80] K. Ono, K. Hasegawa, H. Naiki, M. Yamada, *J. Neurosci. Res.* **2004**, *75*, 742–750.
- [81] F. Yang, G. P. Lim, A. N. Begum, O. J. Ubeda, M. R. Simmons, S. S. Ambegaokar, P. P. Chen, R. Kaye, C. G. Glabe, S. A. Frautschy, G. M. Cole, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 5892–5901.
- [82] M. Bernabé-Pineda, M. T. Ramírez-Silva, M. Romero-Romo, E. González-Vergara, A. Rojas-Hernández, *Spectrosc. Acta A* **2004**, *60*, 1091–1097.
- [83] Y.-J. Wang, M.-H. Pan, A.-L. Cheng, L.-I. Lin, Y.-S. Ho, C.-Y. Hsieh, J.-K. Lin, *J. Pharm. Biomed. Anal. Rev.* **1997**, *15*, 1867–1876.
- [84] H. H. Tonnesen, J. Karlsten, *Z Lebensm Unters Forsch* **1985**, *180*, 402–404.
- [85] M. G. Dickens, K. J. Franz, *Chem. Bio. Chem.* **2010**, *11*, 59–62.
- [86] P. A. Adlard, R. A. Cherny, D. I. Finkelstein, E. Gautier, E. Robb, M. Cortes, I. Volitakis, X. Liu, J. P. Smith, K. Perez, K. Laughton, Q.-X. Li, S. A. Charman, J. A. Nicolazzo, S. Wilkins, K. Deleva, T. Lynch, G. Kok, C. W. Ritchie, R. E. Tanzi, R. Cappai, C. L. Masters, K. J. Barnham, A. I. Bush, *Neuron* **2008**, *59*, 43–55.
- [87] M. Nguyen, L. Vendier, J.-L. Stigliani, B. Meunier, A. Robert, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 600–608.
- [88] A. Budimir, N. Humbert, M. Elhabiri, I. Osinska, M. Biruš, A.-M. Albrecht-Gary, *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 490–496.
- [89] M. A. Santos, K. Chand, S. Chaves, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *327–328*, 287–303.
- [90] Y. Liu, M. Nguyen, A. Robert, B. Meunier, *Acc. Chem. Res.* **2019**, *52*, 2026–2035.
- [91] X. Mao, A. Schimmer, *Toxicol. Lett.* **2008**, *182*, 1–6.
- [92] E. L. Sampson, L. Jenagaratnam, R. McShane, *Cochrane Database Syst. Rev.* **2014**, n°CD005380.
- [93] S. Janelidze, H. Zetterberg, N. Mattsson, S. Palmqvist, H. Vanderstichele, O. Lindberg, D. van Westen, E. Stomrud, L. Minthon, K. Blennow, O. Hansson, *Ann Clin Transl Neurol* **2016**, *3*, 154–165.
- [94] C. R. Jack, M. M. Shiung, J. L. Gunter, P. C. O'Brien, S. D. Weigand, D. S. Knopman, B. F. Boeve, R. J. Ivnik, G. E. Smith, R. H. Cha, E. G. Tangalos, R. C. Petersen, *Neurol.* **2004**, *62*, 591–600.
- [95] K. A. Josephs, J. L. Whitwell, Z. Ahmed, M. M. Shiung, S. D. Weigand, D. S. Knopman, B. F. Boeve, J. E. Parisi, R. C. Petersen, D. W. Dickson, C. R. Jack, *Ann Neurol.* **2008**, *63*, 204–212.
- [96] S. Basaia, F. Agosta, L. Wagner, E. Canu, G. Magnani, R. Santangelo, M. Filippi, *Neuroimage Clin.* **2019**, *21*, 101645.
- [97] A. Nordberg, J. O. Rinne, A. Kadir, B. Långström, *Nat Rev Neurol* **2010**, *6*, 78–87.
- [98] L. Zhu, K. Ploessl, H. F. Kung, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 6683–6691.
- [99] H. Watanabe, M. Ono, H. Saji, *Sci. World J.* **2015**, *2015*, 1–6.
- [100] M. Ono, S. Hayashi, K. Matsumura, H. Kimura, Y. Okamoto, M. Ihara, R. Takahashi, H. Mori, H. Saji, *ACS Chem. Neurosci.* **2011**, *2*, 269–275.
- [101] R. Smith, A. Puschmann, M. Schöll, T. Ohlsson, J. van Swieten, M. Honer, E. Englund, O. Hansson, *Brain* **2016**, *139*, 2372–2379.

- [102] C. A. Mathis, B. J. Bacskai, S. T. Kajdasz, M. E. McLellan, M. P. Frosch, B. T. Hyman, D. P. Holt, Y. Wang, G.-F. Huang, M. L. Debnath, W. E. Klunk, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 295–298.
- [103] C. A. Mathis, Y. Wang, D. P. Holt, G.-F. Huang, M. L. Debnath, W. E. Klunk, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2740–2754.
- [104] W. E. Klunk, H. Engler, A. Nordberg, Y. Wang, G. Blomqvist, D. P. Holt, M. Bergström, I. Savitcheva, G.-F. Huang, S. Estrada, B. Ausén, M. L. Debnath, J. Barletta, J. C. Price, J. Sandell, B. J. Lopresti, A. Wall, P. Koivisto, G. Antoni, C. A. Mathis, B. Långström, *Ann Neurol.* **2004**, *55*, 306–319.
- [105] A. Juréus, B.-M. Swahn, J. Sandell, F. Jeppsson, A. E. Johnson, P. Johnström, J. A. M. Neelissen, D. Sunnemark, L. Farde, S. P. S. Svensson, *J. Neurochem.* **2010**, *114*, 784–794.
- [106] Z. Cselenyi, M. E. Jonhagen, A. Forsberg, C. Halldin, P. Julin, M. Schou, P. Johnstrom, K. Varnas, S. Svensson, L. Farde, *J. Nucl. Med.* **2012**, *53*, 415–424.
- [107] C. C. Rowe, S. Pejoska, R. S. Mulligan, G. Jones, J. G. Chan, S. Svensson, Z. Cselenyi, C. L. Masters, V. L. Villemagne, *J. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 880–886.
- [108] H. F. Kung, C.-W. Lee, Z.-P. Zhuang, M.-P. Kung, C. Hou, K. Plössl, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12740–12741.
- [109] M.-P. Kung, C. Hou, Z.-P. Zhuang, D. Skovronsky, H. F. Kung, *Brain Res.* **2004**, *1025*, 98–105.
- [110] W. Zhang, S. Oya, M.-P. Kung, C. Hou, D. L. Maier, H. F. Kung, *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32*, 799–809.
- [111] M. Ono, M. Haratake, M. Nakayama, Y. Kaneko, K. Kawabata, H. Mori, M.-P. Kung, H. F. Kung, *Nucl. Med. Biol.* **2005**, *32*, 329–335.
- [112] H. F. Kung, S. R. Choi, W. Qu, W. Zhang, D. Skovronsky, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 933–941.
- [113] R. Wittenberg, M. Knapp, M. Karagiannidou, J. Dickson, J. M. Schott, *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions* **2019**, *5*, 382–387.
- [114] T. J. Clough, L. Jiang, K.-L. Wong, N. J. Long, *Nat Commun* **2019**, *10*, 1420.
- [115] M. Salerno, D. Santo Domingo Porqueras, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, *327–328*, 27–34.
- [116] S. M. Vithanarachchi, M. J. Allen, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4148–4150.
- [117] A. F. Martins, J.-F. Morfin, A. Kubíčková, V. Kubíček, F. Buron, F. Suzenet, M. Salerno, A. N. Lazar, C. Duyckaerts, N. Arlicot, D. Guilloteau, C. F. G. C. Geraldès, É. Tóth, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 436–440.
- [118] A. F. Martins, D. M. Dias, J.-F. Morfin, S. Lacerda, D. V. Laurents, É. Tóth, C. F. G. C. Geraldès, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 5413–5422.
- [119] G. Bort, S. Catoen, H. Borderies, A. Keksi, S. Ballet, G. Louin, M. Port, C. Ferroud, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 843–861.
- [120] A. F. Martins, A. C. Oliveira, J.-F. Morfin, D. V. Laurents, É. Tóth, C. F. G. C. Geraldès, *J Biol Inorg Chem* **2016**, *21*, 83–99.
- [121] M. Colombié, A. Rauscher, M. Frindel, M. Cherel, F. Haddad, C. Rousseau, V. Fleury, F. Kraeber Bodéré, A. Vidal, M. Bourgeois, *Médecine Nucléaire* **2020**, *44*, 93.
- [122] C. B. Johnbeck, U. Knigge, A. Loft, A. K. Berthelsen, J. Mortensen, P. Oturai, S. W. Langer, D. R. Elema, A. Kjaer, *J Nucl Med* **2017**, *58*, 451–457.
- [123] A. K. Sharma, J. W. Schultz, J. T. Prior, N. P. Rath, L. M. Mirica, *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 13801–13814.
- [124] N. Bandara, A. K. Sharma, S. Krieger, J. W. Schultz, B. H. Han, B. E. Rogers, L. M. Mirica, *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139*, 12550–12558.

- [125] X. Huang, C. S. Atwood, R. D. Moir, M. A. Hartshorn, J.-P. Vonsattel, R. E. Tanzi, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 26464–26470.
- [126] R. A. Cherny, J. T. Legg, C. A. McLean, D. P. Fairlie, X. Huang, C. S. Atwood, K. Beyreuther, R. E. Tanzi, C. L. Masters, A. I. Bush, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 23223–23228.
- [127] R. A. Cherny, K. J. Barnham, T. Lynch, I. Volitakis, Q.-X. Li, C. A. McLean, G. Multhaup, K. Beyreuther, R. E. Tanzi, C. L. Masters, A. I. Bush, *J. Struct. Biol.* **2000**, *130*, 209–216.
- [128] V. Moret, Y. Laras, N. Pietrancosta, C. Garino, G. Quelever, A. Rolland, B. Mallet, J.-C. Norreel, J.-L. Kraus, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3298–3301.
- [129] W. Wu, P. Lei, Q. Liu, J. Hu, A. P. Gunn, M. Chen, Y. Rui, X. Su, Z. Xie, Y.-F. Zhao, A. I. Bush, Y. Li, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 31657–31664.
- [130] T. Chen, X. Wang, Y. He, C. Zhang, Z. Wu, K. Liao, J. Wang, Z. Guo, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 5801–5809.
- [131] Y. Yang, T. Chen, S. Zhu, X. Gu, X. Jia, Y. Lu, L. Zhu, *Integr. Biol.* **2015**, *7*, 655–662.
- [132] J. Kang, S. J. C. Lee, J. S. Nam, H. J. Lee, M.-G. Kang, K. J. Korshavn, H.-T. Kim, J. Cho, A. Ramamoorthy, H.-W. Rhee, T.-H. Kwon, M. H. Lim, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 1645–1653.
- [133] G. Son, B. I. Lee, Y. J. Chung, C. B. Park, *Acta Biomaterialia* **2018**, *67*, 147–155.
- [134] L. He, X. Wang, D. Zhu, C. Zhao, W. Du, *Metallomics* **2015**, *7*, 1562–1572.
- [135] K. J. Barnham, V. B. Kenche, G. D. Ciccotosto, D. P. Smith, D. J. Tew, X. Liu, K. Perez, G. A. Cranston, T. J. Johanssen, I. Volitakis, A. I. Bush, C. L. Masters, A. R. White, J. P. Smith, R. A. Cherny, R. Cappai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 6813–6818.
- [136] B. Y.-W. Man, H.-M. Chan, C.-H. Leung, D. S.-H. Chan, L.-P. Bai, Z.-H. Jiang, H.-W. Li, D.-L. Ma, *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 917–921.
- [137] M. C. Heffern, P. T. Velasco, L. M. Matosziuk, J. L. Coomes, C. Karras, M. A. Ratner, W. L. Klein, A. L. Eckermann, T. J. Meade, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1584–1589.
- [138] J. Suh, S. H. Yoo, M. G. Kim, K. Jeong, J. Y. Ahn, M. Kim, P. S. Chae, T. Y. Lee, J. Lee, J. Lee, Y. A. Jang, E. H. Ko, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7194–7197.
- [139] W. S. Chei, H. Ju, J. Suh, *J Biol Inorg Chem* **2011**, *16*, 511–519.
- [140] B. S. Nakani, J. J. B. Welsh, R. D. Hancock, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2956–2958.
- [141] M. Micheloni, P. Paoletti, S. Bürki, T. A. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 587–594.
- [142] B. Dietrich, P. Viout, J. M. Lehn, *Aspects de La Chimie Des Composés Macrocycliques*, **1991**.
- [143] J. van Alphen, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1937**, *56*, 343–350.
- [144] J. van Alphen, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1936**, *55*, 835–840.
- [145] H. Stetter, K.-H. Mayer, *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 1410–1416.
- [146] I. Tabushi, H. Kato, *Tet. Lett.* **1977**, 1049–1052.
- [147] E. Kimura, T. Koike, R. Machida, R. Nagai, M. Kodama, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 4181–4188.
- [148] J. E. Richman, T. J. Atkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 2068–2070.
- [149] F. Chavez, A. D. Sherry, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2990–2992.
- [150] H. Stetter, E.-E. Roos, *Chem. Ber.* **1954**, *87*, 566–571.
- [151] F. R. Huller, H. Handel, *Tet. Lett.* **1982**, *23*, 2769–2772.
- [152] T. Benabdallah, R. Guglielmetti, *Hel. Chem. Act.* **1988**, *71*, 602–608.
- [153] E. Kent. Barefield, *Inorg. Chem.* **1972**, *11*, 2273–2274.
- [154] G. Hervé, H. Bernard, N. Le Bris, J.-J. Yaouanc, H. Handel, L. Toupet, *Tet. Lett.* **1998**, *39*, 6861–6864.
- [155] E. K. Barefield, F. Wagner, *Inorg. Chem.* **1973**, *12*, 2435–2439.
- [156] R. Guillard, I. Meunier, C. Jean, B. Boisselier-Cocolios, *brevet n° EP0427595A1* **1991**.

- [157] S. R. Buc, J. H. Ford, E. C. Wise, *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 92–94.
- [158] B. Fuchs, A. Ellenzweig, *Rec. Trav. Chim.* **1979**, *98*, 326.
- [159] R. A. Kolinski, F. G. Riddell, *Tet. Lett.* **1981**, *22*, 2217–2220.
- [160] G. R. Weisman, S. C. H. Ho, V. Johnson, *Tet. Lett.* **1980**, *21*, 335–338.
- [161] F. Chuburu, R. Tripier, M. L. Baccon, H. Handel, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1050–1055.
- [162] BRACCO S.P.A., *brevet n° WO97/49691* **1997**.
- [163] Nycomed Imaging, *brevet n° WO96/28432* **1996**.
- [164] R. W. Sandnes, M. Gacek, K. Undheim, *Acta Chem. Scand.* **1998**, 1402–1404.
- [165] J. Kotek, P. Hermann, P. Vojtišek, J. Rohovec, I. Lukeš, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2000**, *65*, 243–266.
- [166] F. Boschetti, F. Denat, E. Espinosa, J.-M. Lagrange, R. Guillard, *Chem. Commun.* **2004**, 588–589.
- [167] A. M. Funston, K. P. Ghiggino, M. J. Grannas, W. David McFadyen, P. A. Tregloan, *Dalton Trans.* **2003**, 3704–3712.
- [168] E. A. Lewis, C. C. Allan, R. W. Boyle, S. J. Archibald, *Tet. Lett.* **2004**, *45*, 3059–3062.
- [169] R. Machida, E. Kimura, M. Kodama, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2055–2061.
- [170] E. Kimura, T. Koike, H. Nada, Y. Iitaka, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 1322–1323.
- [171] N. Camus, Z. Halime, N. Le Bris, H. Bernard, C. Platas-Iglesias, R. Tripier, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 1885–1899.
- [172] N. Camus, Z. Halime, N. le Bris, H. Bernard, M. Beyler, C. Platas-Iglesias, R. Tripier, *RSC Advances* **2015**, *5*, 85898–85910.
- [173] C. Li, W.-T. Wong, *Tet. Lett.* **2002**, *43*, 3217–3220.
- [174] M. Ciampolini, L. Fabbrizzi, A. Perotti, A. Poggi, B. Seghi, F. Zanobini, *Inorg. Chem.* **1987**, *26*, 3527–3533.
- [175] S. B. Rahardjo, K. P. Wainwright, *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *255*, 29–34.
- [176] S. Brandès, C. Gros, F. Denat, P. Pullumbi, R. Guillard, *Bull. Soc. Chim. Fr* **1996**, 65–73.
- [177] L. Fabbrizzi, F. Foti, M. Licchelli, P. M. Maccarini, D. Sacchi, M. Zema, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4965–4972.
- [178] C. Herrero, A. Quaranta, S. El Ghachtouli, B. Vauzeilles, W. Leibl, A. Aukauloo, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 12067–12072.
- [179] W. Yang, C. M. Giandomenico, M. Sartori, D. A. Moore, *Tet. Lett.* **2003**, *44*, 2481–2483.
- [180] J. A. Halfen, V. G. Young, Jr., *Chem. Commun.* **2003**, 2894–2895.
- [181] H. T. Clarke, H. B. Gillespie, S. Z. Weisshaus, *J. Am. Chem. Soc.* **1933**, *55*, 4571–4587.
- [182] A. Filali, J.-J. Yaouanc, H. Handel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 560–561.
- [183] H. Bernard, J. J. Yaouanc, J. C. Clément, H. des Abbayes, H. Handel, *Tet. Lett.* **1991**, *32*, 639–642.
- [184] V. Patinec, I. Gardinier, J.-J. Yaouanc, J.-C. Clément, H. Handel, H. des Abbayes, *Inorg. Chim. Acta* **1996**, 105–108.
- [185] B. Boitrel, B. Andrioletti, M. Lachkar, R. Guillard, *Tet. Lett.* **1995**, *36*, 4995–4998.
- [186] J. W. Krajewski, P. Luzinski, R. A. Kolinski, A. Kemme, A. Mishnev, *A. Pol. J. Chem.* **1994**, *68*, 703.
- [187] F. Bellouard, F. Chuburu, N. Kervarec, L. Toupet, S. Triki, Y. Le Mest, H. Handel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 3499–3505.
- [188] T. J. Hubin, J. M. McCormick, N. W. Alcock, H. J. Clase, D. H. Busch, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 4435–4446.

- [189] E. H. Wong, G. R. Weisman, D. C. Hill, D. P. Reed, M. E. Rogers, J. S. Condon, M. A. Fagan, J. C. Calabrese, K.-C. Lam, I. A. Guzei, A. L. Rheingold, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10561–10572.
- [190] S. Develay, R. Tripier, F. Chuburu, M. Le Baccon, H. Handel, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 3047–3050.
- [191] J. D. Silversides, R. Smith, S. J. Archibald, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 6289–6297.
- [192] G. Royal, V. Dahaoui-Gindrey, S. Dahaoui, A. Tabard, R. Guilard, P. Pullumbi, C. Lecomte, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1971–1975.
- [193] C. Bucher, G. Royal, J.-M. Barbe, R. Guilard, *Tet. Lett.* **1999**, *40*, 2315–2318.
- [194] R. Buxtorf, T. A. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1974**, *57*, 1035–1042.
- [195] R. A. Kolinski, *Pol. J. Chem.* **1995**, *69*, 1039–1045.
- [196] G. R. Weisman, M. E. Rogers, E. H. Wong, J. P. Jasinski, E. S. Paight, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8604–8605.
- [197] T. Le Bihan, N. Le Bris, H. Bernard, C. Platas-Iglesias, R. Tripier, *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, *2019*, 5955–5962.
- [198] K. P. Wainwright, *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 1396–1398.
- [199] H. Yamamoto, K. Maruoka, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4186–4194.
- [200] G. R. Weisman, M. E. Rogers, E. H. Wong, J. P. Jasinski, E. S. Paight, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8604–8605.
- [201] R. W. Alder, P. Eastment, R. E. Moss, R. B. Sessions, M. A. Stringfellow, *Tet. Lett.* **1982**, *23*, 4181–4184.
- [202] G. R. Weisman, E. H. Wong, D. C. Hill, M. E. Rogers, D. P. Reed, J. C. Calabrese, *Chem. Commun.* **1996**, 947.
- [203] E. A. Lewis, R. W. Boyle, S. J. Archibald, *Chem. Commun.* **2004**, 2212.
- [204] N. Camus, Z. Halime, N. le Bris, H. Bernard, M. Beyler, C. Platas-Iglesias, R. Tripier, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 85898–85910.
- [205] B. Redko, A. Albeck, G. Gellerman, *New J. Chem.* **2012**, *36*, 2188–2191.
- [206] J. Vader, H. Sengers, A. D. Groot, *Tetrahedron* **1989**, 2131–2142.
- [207] <https://goldbook.iupac.org/terms/view/T06456> .
- [208] R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533–3539.
- [209] C. Erkey, in *Supercritical Fluid Science and Technology*, Elsevier, **2011**, pp. 1–10.
- [210] H. A. Jahn, E. Teller, *Proc. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* **1937**, *161*, 220–235.
- [211] J. E. House, in *Inorganic Chemistry*, Elsevier, **2013**, pp. 591–616.
- [212] B. J. Hathaway, D. E. Billing, **1970**, *5*, 143–207.
- [213] A. Guillou, *Synthèse et coordination de triazacyclononanes et de dérivés bifonctionnels: vers des applications en imageries médicales* **2018**, Thèse Université de Brest.
- [214] R. D. Hancock, A. E. Martell, *Comments Inorg. Chem.* **1988**, *6*, 237–284.
- [215] R. D. Hancock, A. E. Martell, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1875–1914.
- [216] B. Bosnich, C. K. Poon, M. L. Tobe, *Inorg. Chem.* **1965**, *4*, 1102–1108.
- [217] M. F. Bailey, N. F. Curtis, P. O. Whimp, *J. Chem. Soc. (A)* **1970**, 1956–1963.
- [218] E. Samořlová, J. Kuchár, V. Grzimek, A. Kliuikov, E. Čiřmár, *Polyhedron* **2019**, *170*, 51–59.
- [219] P. A. Tasker, L. Sklar, *J. Cryst. Mol. Struct.* **1975**, *5*, 329–344.
- [220] T. A. Tyson, K. O. Hodgson, B. Hedman, G. R. Clark, *Acta Cryst.* **1990**, *C46*, 1638–1640.
- [221] X. Liang, M. Weishäupl, J. A. Parkinson, S. Parsons, P. A. McGregor, P. J. Sadler, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4709–4717.
- [222] R. Ivanikova, H. Fuess, A. Masřlejova, *Acta Cryst.* **2006**, *E62*, m1553–m1554.

- [223] J. S. Derrick, Y. Kim, H. Tak, K. Park, J. Cho, S. H. Kim, M. H. Lim, *Dalton Trans.* **2017**, 46, 13166–13170.
- [224] T.-J. Lee, T.-Y. Lee, C.-Y. Hong, D.-T. Wu, C.-S. Chung, *Acta Cryst.* **1986**, C42, 999–1001.
- [225] T. H. Lu, W. Z. Shui, S. F. Tung, T. Y. Chi, F. L. Liao, C. S. Chung, *Acta Cryst.* **1998**, C54, 1071–1072.
- [226] N. W. Alcock, N. Herron, P. Moore, *J.C.S Dalton* **1978**, 1282–1288.
- [227] K. Panneerselvam, T.-H. Lu, T.-Y. Chi, S.-F. Tung, C.-S. Chung, *Anal. Sci.* **1999**, 15, 205–206.
- [228] W. Niu, E. H. Wong, G. R. Weisman, K.-C. Lam, A. L. Rheingold, *Inorg. Chem. Comm.* **1999**, 2, 358–360.
- [229] J. Costa, R. Delgado, *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 5257–5265.
- [230] E. Molnár, N. Camus, V. Patinec, G. A. Rolla, M. Botta, G. Tircsó, F. K. Kálmán, T. Fodor, R. Tripier, C. Platas-Iglesias, *Inorg. Chem.* **2014**, 53, 5136–5149.
- [231] R. D. Hancock, R. J. Motekaitis, J. Mashishi, I. Cukrowski, J. H. Reibenspies, A. E. Martell, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1996**, 1925–1929.
- [232] M. Micheloni, A. Sabatini, P. Paoletti, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1978**, 828–830.
- [233] M. Meyer, L. Frémond, E. Espinosa, S. Brandès, G. Yves Vollmer, R. Guillard, *New J. Chem.* **2005**, 29, 1121–1124.
- [234] X. Sun, M. Wuest, G. R. Weisman, E. H. Wong, D. P. Reed, C. A. Boswell, R. Motekaitis, A. E. Martell, M. J. Welch, C. J. Anderson, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 469–477.
- [235] M. Morgenthaler, E. Schweizer, A. Hoffmann-Röder, F. Benini, R. E. Martin, G. Jaeschke, B. Wagner, H. Fischer, S. Bendels, D. Zimmerli, J. Schneider, F. Diederich, M. Kansy, K. Müller, *ChemMedChem* **2007**, 2, 1100–1115.
- [236] W. R. Harris, K. N. Raymond, F. L. Weitzel, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2667–2675.
- [237] R. Delgado, S. Quintino, M. Teixeira, A. Zhang, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 55–64.
- [238] R. D. Hancock, S. M. Dobson, A. Even, P. W. Wade, M. P. Ngwenya, J. C. A. Boeyens, K. P. Wainwright, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2788–2794.
- [239] V. J. Thom, G. D. Hosken, R. D. Hancock, *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 3378–3381.
- [240] M. Micheloni, P. Paoletti, *Inorg. Chim. Acta* **1980**, 43, 109–112.
- [241] M. Kodama, E. Kimura, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1980**, 327–333.
- [242] W.-J. Lan, C.-S. Chung, *J. Chin. Chem. Soc.* **1992**, 39, 577–582.
- [243] K. S. Woodin, K. J. Heroux, C. A. Boswell, E. H. Wong, G. R. Weisman, W. Niu, S. A. Tomellini, C. J. Anderson, L. N. Zakharov, A. L. Rheingold, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2005**, 4829–4833.
- [244] M. Paúrová, T. David, I. Císařová, P. Lubal, P. Hermann, J. Kotek, *New J. Chem.* **2018**, 42, 11908–11929.
- [245] H. A. Krebs, H. L. Kornberg, *Living Matter : A Survey*, Springer-Verlag, **1957**.
- [246] L. Fabbrizzi, A. Poggi, P. Zanello, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1983**, 2191–2195.
- [247] C. Bucher, E. Duval, E. Espinosa, J.-M. Barbe, J.-N. Verpeaux, C. Amatore, R. Guillard, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, 1077–1079.
- [248] C. J. Anderson, T. J. Wadas, E. H. Wong, G. R. Weisman, *Q J Nucl Med Mol Imaging* **2008**, 52, 185–192.
- [249] N. V. Tsarevsky, W. A. Braunecker, W. Tang, S. J. Brooks, K. Matyjaszewski, G. R. Weisman, E. H. Wong, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2006**, 257, 132–140.
- [250] L. Quintanar, L. Rivillas-Acevedo, in *Protein-Ligand Interactions* (Eds.: M.A. Williams, T. Daviter), Humana Press, **2013**, pp. 267–297.
- [251] Y. Dong, G. A. Lawrance, L. F. Lindoy, P. Turner, *Dalton Trans.* **2003**, 1567–1576.

- [252] M. Lachkar, R. Guillard, A. Atmani, A. De Cian, J. Fischer, R. Weiss, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 1575–1584.
- [253] D. A. L. Otte, D. E. Borchmann, C. Lin, M. Weck, K. A. Woerpel, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1566–1569.
- [254] L. M. P. Lima, Z. Halime, R. Marion, N. Camus, R. Delgado, C. Platas-Iglesias, R. Tripier, *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 5269–5279.
- [255] S. Stoll, A. Schweiger, *J. Magn. Reson.* **2006**, *178*, 42–55.
- [256] F. Molton, *Magn Reson Chem* **2020**, *58*, 718–726.
- [257] D. T. Petasis, M. P. Hendrich, in *Methods in Enzymology*, Elsevier, **2015**, pp. 171–208.
- [258] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr A Found Adv* **2015**, *71*, 3–8.
- [259] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr C Struct Chem* **2015**, *71*, 3–8.
- [260] G. Gran, *Analyst* **1952**, *77*, 661–671.
- [261] G. Schwarzenbach, W. Flaschka, *Methuen & Co*, London, **1969**.
- [262] P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, *43*, 1739–1753.
- [263] L. Alderighi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *184*, 311–318.
- [264] O. Trott, A. J. Olson, *J. Comput. Chem.* **2009**, *31*, 455–561.
- [265] O. Crescenzi, S. Tomaselli, R. Guerrini, S. Salvadori, A. M. D’Ursi, P. A. Temussi, D. Picone, *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 5642–5648.
- [266] L. K. Wolf, *C&EN* **2009**, *87*, 31.
- [267] S. Lee, X. Zheng, J. Krishnamoorthy, M. G. Savelieff, H. M. Park, J. R. Brender, J. H. Kim, J. S. Derrick, A. Kochi, H. J. Lee, C. Kim, A. Ramamoorthy, M. T. Bowers, M. H. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 299–310.
- [268] J.-S. Choi, J. J. Braymer, R. P. R. Nanga, A. Ramamoorthy, M. H. Lim, *PNAS* **2010**, *107*, 21990–21995.
- [269] J. S. Derrick, R. A. Kerr, Y. Nam, S. B. Oh, H. J. Lee, K. G. Earnest, N. Suh, K. L. Peck, M. Ozbil, K. J. Korshavn, A. Ramamoorthy, R. Prabhakar, E. J. Merino, J. Shearer, J.-Y. Lee, B. T. Ruotolo, M. H. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 14785–14797.
- [270] S. S. Hindo, A. M. Mancino, J. J. Braymer, Y. Liu, S. Vivekanandan, A. Ramamoorthy, M. H. Lim, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16663–16665.
- [271] H. J. Lee, K. J. Korshavn, Y. Nam, J. Kang, T. J. Paul, R. A. Kerr, I. S. Youn, M. Ozbil, K. S. Kim, B. T. Ruotolo, R. Prabhakar, A. Ramamoorthy, M. H. Lim, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 2706–2715.
- [272] M. W. Beck, S. B. Oh, R. A. Kerr, H. J. Lee, S. H. Kim, S. Kim, M. Jang, B. T. Ruotolo, J.-Y. Lee, M. H. Lim, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 1879–1886.
- [273] S.-J. Hyung, A. S. DeToma, J. R. Brender, S. Lee, S. Vivekanandan, A. Kochi, J.-S. Choi, A. Ramamoorthy, B. T. Ruotolo, M. H. Lim, *PNAS* **2013**, *110*, 3743–3748.

Production Scientifique

Publication :

« Reactivities of cyclam derivatives with metal–amyloid- β »

G. Kim,⁺ E. Lelong,⁺ J. Kang,⁺ J. M. Suh, N. Le Bris, H. Bernard, D. Kim, R. Tripier and M. H. Lim, *Inorg. Chem. Front.*, **2020**, 7, 4222-4238. DOI: 10.1039/D0QI00791A

+ These authors contributed equally to this work.

Communications orales :

« Synthesis strategy for cyclam-derivatives cobalt-complexes able to modulate amyloid- β aggregation ».

Congrès de la Société Chimique de France Bretagne-Pays de Loire (SCF-BPL), Trégastel, Avril **2019**.

« Cyclam-derivatives modulating amyloid- β aggregation ».

Séminaire de l'UMR UBO - CNRS 6521, Brest, Octobre **2019**.

« Cyclam-derivatives modulating amyloid- β aggregation ».

European Alzheimer Academy Workshop, Bertinoro, Italie, Mars **2020**. (*Annulé : COVID-19*)

Communication par affiche :

« Synthesis strategy for cyclam-derivatives cobalt-complexes able to modulate amyloid- β aggregation ».

Journée de l'Ecole Doctorale Matière, Molécules et Matériaux, Brest, Février **2019**.

Financements :

Bourse de mobilité de la Société Chimique de France pour la participation à un congrès international. (*Annulée : COVID-19*)

Bourse de mobilité de la fondation « Vaincre Alzheimer » pour la participation au « European Alzheimer Academy Workshop ». (*Reportée pour la prochaine édition*)

Bourse de mobilité internationale de l'Ecole Doctorale Matière, Molécule et Matériaux : 2 mois au sein du « Korean Advanced Institute of Science and Technology ».

Titre : Modulation de peptide amyloïde- β par des chélates azotés pour la thérapie de la maladie d'Alzheimer.

Mots clés : cyclam, chimie de coordination, groupements méthyle, fonctionnalisation éthylènehydroxy, maladie d'Alzheimer

Résumé : Le cyclam, ligand de la famille des polyazacycloalcanes, est connu pour former des complexes très stables et inertes avec les cations des métaux de transition. Il s'agit d'un excellent candidat pour le développement d'agents thérapeutiques, notamment pour la maladie d'Alzheimer. Deux stratégies sont actuellement en plein essor : la première consiste à utiliser des ligands pour réguler la concentration en ions cuivre et zinc mis en cause dans le développement de la maladie et la seconde concerne la synthèse de complexes métalliques ayant une activité d'inhibition de l'agrégation des peptides amyloïde- β .

Ces travaux décrivent la synthèse, l'étude des propriétés de coordination et l'évaluation de l'activité biologique de trois séries de dérivés du cyclam.

Dans cette étude les propriétés des ligands ont été modulées grâce à l'introduction de groupements méthyle, d'un pont éthylène « cross-bridged » et d'une chaîne éthylènehydroxy C- ou N-fonctionnelle. Les complexes de cuivre et de zinc de ces ligands ont été synthétisés et l'effet des modifications structurales sur les propriétés de coordination a été démontré à l'aide de différentes techniques analytiques et spectroscopiques. L'activité biologique des ligands a ensuite été évaluée et leur capacité à moduler l'agrégation et inhiber la toxicité de l'A β métallée a été mise en évidence. Enfin, une étude préliminaire des complexes de cobalt de ces mêmes ligands a démontré l'excellent potentiel de ces composés pour inhiber la formation d'agrégats.

Title: Modulation of amyloid- β peptides with nitrogen chelates for Alzheimer's disease therapy.

Keywords: cyclam, coordination chemistry, methyl groups, functionalization ethylenehydroxy, Alzheimer's disease

Abstract: Cyclam, a ligand of the polyazacycloalkane family, is known to form very stable and inert complexes with transition metal cations. It is an excellent candidate for the development of therapeutic agents, particularly for Alzheimer's disease. Two strategies are currently in full swing: the first involves the use of ligands to regulate the concentration of copper and zinc ions implicated in the development of the disease and the second involves the synthesis of metal complexes with amyloid- β peptide aggregation inhibition activity.

This work describes the synthesis, the study of the coordination properties and the evaluation of the biological activity of three series of cyclam derivatives. In this study the properties of the ligands were modulated through the introduction of methyl groups, a "cross-bridged" ethylene bridge, and a C- or N-functional ethylenehydroxy moiety.

Copper and zinc complexes of these ligands were synthesized and the effect of structural modifications on the coordination properties was demonstrated using different analytical and spectroscopic techniques. The biological activity of the ligands was then evaluated and their ability to modulate the aggregation and inhibit the toxicity of metal-A β was demonstrated. Finally, a preliminary study of the cobalt complexes of these same ligands shew the excellent potential of these compounds to inhibit aggregate formation.