



HAL
open science

Des agents intelligents pour l'imagerie moléculaire

Éva Tóth

► **To cite this version:**

Éva Tóth. Des agents intelligents pour l'imagerie moléculaire. L'Actualité Chimique, 2019, 446, pp.11-17. hal-03036754

HAL Id: hal-03036754

<https://hal.science/hal-03036754>

Submitted on 2 Dec 2020

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

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

Des agents intelligents pour l'imagerie moléculaire

Éva Jakab Tóth

Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, rue Charles Sadron, 45071 Orléans

eva.jakabtoth@cnrs-orleans.fr

Résumé

Grâce à leurs propriétés magnétiques et optiques versatiles, et leurs états d'oxydation, charges et géométries variables, les complexes métalliques ont de multiples atouts pour le diagnostic et la thérapie et sont représentés dans la plupart des classes pharmaceutiques. Les complexes de Gd^{3+} , utilisés avec beaucoup de succès depuis ~30 ans comme agents de contraste en imagerie par résonance magnétique, en sont un bon exemple. Dans le domaine des agents de contraste IRM, les recherches s'orientent aujourd'hui vers le développement de sondes d'imagerie moléculaire, qui peuvent permettre la visualisation de différents biomarqueurs ou de paramètres physiologiques, au-delà de simples images anatomiques. La conception de tels agents intelligents repose souvent sur des principes de chimie de coordination. Via la modulation de la structure moléculaire, elle vise à produire une réponse IRM spécifique aux biomarqueurs. Nous allons illustrer ces approches par quelques exemples comme la détection d'activités enzymatiques, de neurotransmetteurs ou de l'état redox. Un autre domaine en plein essor concerne le remplacement potentiel du Gd^{3+} dans les agents de contraste par le Mn^{2+} , biogénique et plus biocompatible. Dans ce contexte, un défi majeur consiste à créer des complexes de Mn^{2+} qui possèdent à la fois une bonne efficacité IRM, une grande stabilité thermodynamique et une haute résistance à la dissociation *in vivo*.

Mots clés : agents d'imagerie, IRM, lanthanides, manganèse, sondes intelligentes

Metal complexes for MRI: towards molecular imaging applications

Abstract: The unique properties of metal complexes with respect to their versatile magnetic and optical features, multiple oxidation states, variable charges and geometries offer rich opportunities both in diagnostics and therapy. Metal-based drugs are present in many major pharmaceutical classes in current clinical use. Among them, Gd^{3+} complexes have been

successfully used since the mid-eighties as magnetic resonance imaging contrast agents. Recent research in this field focuses on molecular imaging probes which hold the promise of MRI visualization of different biomarkers and tissue physiological parameters. The design of such smart probes is based in coordination chemistry concepts that use modulation of the molecular structure to produce a specific biomarker-dependent MRI response. Some representative examples of the potential MRI assessment of enzymatic activities, neurotransmitter concentration, or the redox state are shown. Another active field of research involves the replacement of Gd^{3+} complexes by chelates of the more biocompatible, biogenic Mn^{2+} . Here the main challenge is to create Mn^{2+} complexes that combine MRI efficiency, high thermodynamic stability and resistance to *in vivo* dissociation.

Keywords : imaging agents, MRI, lanthanides, manganese, responsive probes

Moléculaire versus anatomique : détection des biomarqueurs en IRM

Grâce à son excellente résolution spatiale et temporelle et à l'absence de toute radiation nocive, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) est devenue une technique incontournable aussi bien dans le diagnostic clinique que dans la recherche biomédicale. Depuis trente ans, des complexes de métaux paramagnétiques, en particulier du gadolinium (Gd^{3+}), sont appliqués dans environ 40 % des examens cliniques afin d'améliorer le contraste des images par exemple entre tissus sains et tissus malades [1].

En IRM, le contraste est essentiellement basé sur la différence de temps de relaxation nucléaire (T_1 et T_2) des protons de l'eau présents dans les tissus. Grâce à son spin électronique élevé ($S = 7/2$) et sa relaxation électronique lente, le Gd^{3+} est le cation métallique le plus efficace à agir sur ces temps de relaxation et donc sur le contraste en IRM. Néanmoins, le Gd^{3+} est toxique sous sa forme libre (dû à sa taille semblable à celle du Ca^{2+} et sa tendance à s'hydrolyser à pH physiologique), donc, pour toute utilisation *in vivo*, il est indispensable de le chélater dans des complexes thermodynamiquement stables et cinétiquement inertes. Il est essentiel que le complexe reste intact et ne se dissocie pas pendant son passage dans le corps afin d'éviter tout relargage du cation métallique libre. L'utilisation des agents de contraste a largement contribué au succès de l'IRM, et inversement, cette application médicale a généré une vaste recherche en chimie de coordination des lanthanides.

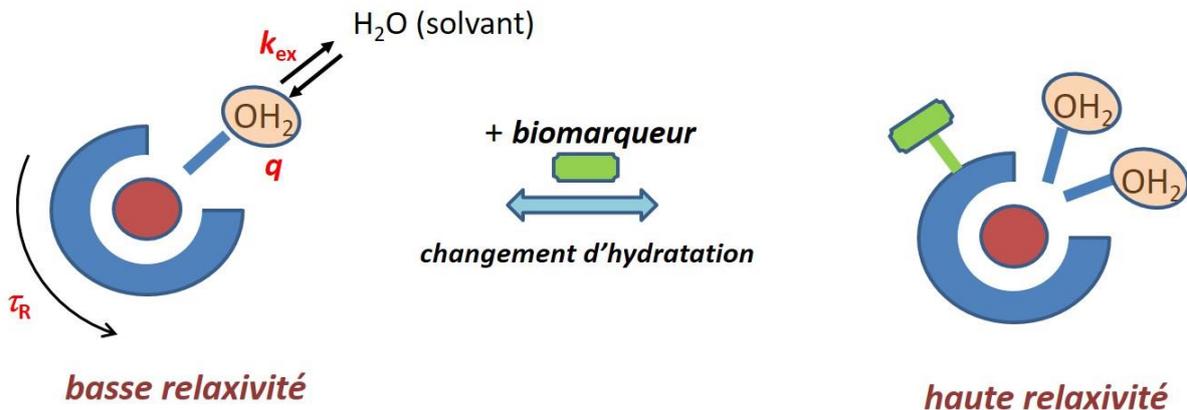
Alors que, traditionnellement, l'IRM produit des images anatomiques (morphologiques) ou fonctionnelles, la dernière décennie a vu l'émergence de nouvelles approches *d'imagerie moléculaire*. Elles cherchent à révéler des informations sur le tissu au niveau moléculaire, en visualisant des paramètres physiologiques ou la présence et/ou l'activité de molécules biologiquement intéressantes. Via la détection *in vivo* d'éventuelles perturbations biochimiques et physiologiques, l'imagerie moléculaire peut permettre de déceler les premiers signes « moléculaires » de la maladie, bien avant que l'apparition des conséquences morphologiques (comme une tumeur par exemple) soit évidente. On a alors accès à un diagnostic plus précoce ou à une médecine plus personnalisée. Sur un plan plus fondamental, l'imagerie moléculaire est essentielle pour la rationalisation des causes moléculaires des pathologies, et tout simplement pour une meilleure compréhension du vivant.

Contrairement à l'IRM traditionnelle « anatomique » qui peut aussi se réaliser sans injection d'un agent de contraste, toute application en imagerie moléculaire requiert un agent d'imagerie. Une fois injectés, ces agents moléculaires peuvent spécifiquement s'accrocher sur leur cible et permettre de la visualiser ainsi, ou encore changer leur capacité de visualisation IRM selon l'interaction avec leur environnement. Dans ce dernier cas, on parle d'un agent « intelligent » qui doit donc être capable de fournir une réponse IRM en fonction du biomarqueur souhaité. L'IRM est particulièrement intéressante pour ce type d'imagerie « responsive », car il est tout à fait possible de moduler l'effet de relaxation d'un agent de contraste *via* son interaction avec un biomarqueur, contrairement à l'imagerie nucléaire par exemple, où l'émission radioactive générée par l'agent d'imagerie reste indépendante de son environnement biologique.

La capacité des complexes de Gd^{3+} à accélérer la relaxation nucléaire (« l'efficacité IRM ») est exprimée par leur relaxivité, r_1 , définie comme l'augmentation paramagnétique de la vitesse de relaxation des protons de l'eau pour une concentration millimolaire de l'agent. La relaxivité est intrinsèquement liée aux paramètres microscopiques du complexe, parmi lesquels les plus importants sont (i) le nombre de molécules d'eau directement coordonnées au métal (nombre d'hydratation, q), (ii) la vitesse d'échange, k_{ex} , entre ces molécules d'eau coordonnées et le solvant, et (iii) la dynamique de rotation décrite par le temps de corrélation rotationnelle (τ_R) [1]. Pour concevoir un agent intelligent, sa relaxivité doit être sélectivement influencée par le biomarqueur ou le paramètre physiologique que l'on souhaite détecter. Ceci peut être réalisé par la modulation de chacun des facteurs ci-dessus, même si la plupart des sondes responsives fonctionnent *via* un changement du nombre d'hydratation (Figure 1a).

Depuis une quinzaine d'années, le transfert de magnétisation par échange chimique (Chemical Exchange Saturation Transfer, CEST) est utilisé comme un nouveau mécanisme pour créer du contraste en IRM. Les agents CEST sont des molécules H-acides, portant des protons typiquement sur leurs fonctions amide, alcool, amine, etc. en échange lent avec le solvant (eau). L'expérience CEST consiste à saturer sélectivement ces protons par des impulsions radiofréquence et à observer l'effet d'une telle saturation sur le signal RMN du proton du solvant. Grâce à l'échange chimique entre le proton saturé sur l'agent CEST et le solvant, le signal de ce dernier va diminuer. Cette atténuation du signal de l'eau servira à créer le contraste IRM CEST. Il est particulièrement avantageux d'utiliser des agents CEST paramagnétiques (PARACEST), qui induisent peu de relaxation mais ont un important déplacement du signal par rapport à l'eau (shift reagents). Les complexes de lanthanides paramagnétiques (à l'exception du Gd^{3+}) ou de certains métaux de transition (cobalt, nickel, fer) sont les plus étudiés. Grâce aux importants déplacements chimiques des protons dans ces complexes, leur saturation sélective devient plus facile, et il est possible d'exploiter des systèmes présentant une vitesse d'échange de proton plus élevée, tout en restant dans le domaine des échanges lents. Des sondes PARACEST intelligentes opèrent le plus souvent par une modulation de la concentration ou de la vitesse d'échange de leurs protons échangeables (Figure 1b).

a) Agents de relaxation



b) Agents PARACEST

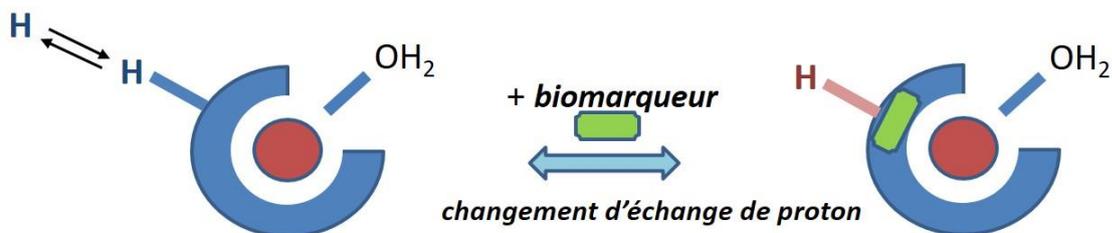


Figure 1. a) Représentation schématique d'un complexe métallique et les paramètres déterminant sa relaxivité: le nombre d'hydratation, q ; la vitesse d'échange d'eau, k_{ex} ; et le temps de corrélation rotationnelle, τ_R . Pour créer un agent intelligent, l'un de ces paramètres, le plus souvent le nombre d'hydratation, sera modulé par l'interaction avec un biomarqueur et ceci conduit à un changement de relaxivité, détectable sur les images IRM. b) Les agents PARACEST possèdent des protons en échange lent avec le solvant. La concentration ou la vitesse d'échange de ce proton sont influencées par le biomarqueur pour produire un changement de signal.

La conception rationnelle des sondes IRM intelligentes requiert une compréhension profonde des relations entre la structure moléculaire et la relaxivité ou l'effet PARACEST des complexes métalliques. Naturellement, tout design moléculaire doit satisfaire les critères de non-toxicité *in vivo*, qui sont, pour un complexe métallique, essentiellement traduits par une stabilité thermodynamique et une inertie cinétique élevées afin d'éviter la libération du cation métallique. Il faut également considérer des contraintes en terme de sensibilité. L'IRM étant

une technique d'imagerie peu sensible, seuls des biomarqueurs atteignant des concentrations *in vivo* au moins micromolaires, voire quelques dizaines de micromolaires seront accessibles.

Nous allons présenter ici quelques exemples représentatifs pour la détection de divers biomarqueurs. De façon générale et malgré un travail important des chimistes dans ce domaine, aujourd'hui très peu de sondes IRM responsives ont pu être réellement exploitées en imagerie *in vivo* et encore moins chez l'homme. Néanmoins, quelques applications très récentes, comme la détection du relargage du zinc dans le pancréas ou dans la prostate [2] ou encore l'imagerie de certains neurotransmetteurs dans le cerveau [3], représentent une vraie rupture technologique et promettent un changement de paradigme en IRM dans un futur très proche.

Détection de neurotransmetteurs

Suivre les variations de concentration des neurotransmetteurs (NT) dans le cerveau par des techniques d'imagerie *in vivo* reste un défi majeur en neuroimagerie [4]. Le groupe d'A. Jasanoff utilise l'évolution dirigée des protéines paramagnétiques naturelles pour les rendre sélectives à certains neurotransmetteurs [3,5]. Par l'injection directe des protéines ainsi obtenues dans le cerveau du rat, ils ont réussi à observer des changements de concentration de la dopamine ou la sérotonine. La grande sélectivité de ces sondes protéiniques est certainement un gros avantage, mais les difficultés techniques associées à l'évolution dirigée ainsi qu'aux très basses relaxivités des protéines représentent un vrai obstacle à la généralisation de cette approche, malgré les résultats spectaculaires des études exploratoires *in vivo*.

Notre groupe a plutôt opté pour la conception d'une plateforme moléculaire synthétique adaptée à la détection d'une classe de neurotransmetteurs : les acides aminés zwitterioniques [6,7,8]. Certaines molécules de cette famille de NTs, comme le glutamate, atteignent des concentrations millimolaires dans la fente synaptique, appropriées à une détection IRM. Nous ne cherchons pas nécessairement une sélectivité entre différents NTs, l'objectif ultime étant de suivre l'activité neuronale qui peut impliquer la variation de plusieurs NTs. Chimiquement, les acides aminés peuvent être considérés comme des hôtes bi-fonctionnels. En collaboration avec l'Institut Max Planck de la Cybernétique en Biologie (Tübingen), nous avons conçu des complexes de Gd^{3+} positivement chargés sur lesquels une aza-éther couronne est greffée (Figure 2). L'interaction type hôte/récepteur entre l'azaéther couronne (anneau bleu sur la Figure 2 a et b) et la fonction amine du NT est renforcée par une interaction électrostatique entre le

carboxylate (charge négative) du NT et le centre métallique (charge positive). La coordination des NTs résulte alors en un changement du nombre d'hydratation du complexe car la molécule d'eau, coordonnée au Gd^{3+} en absence du NT, est remplacée par le carboxylate du NT. Ceci génère une diminution de la relaxivité, détectable sur les images IRM.

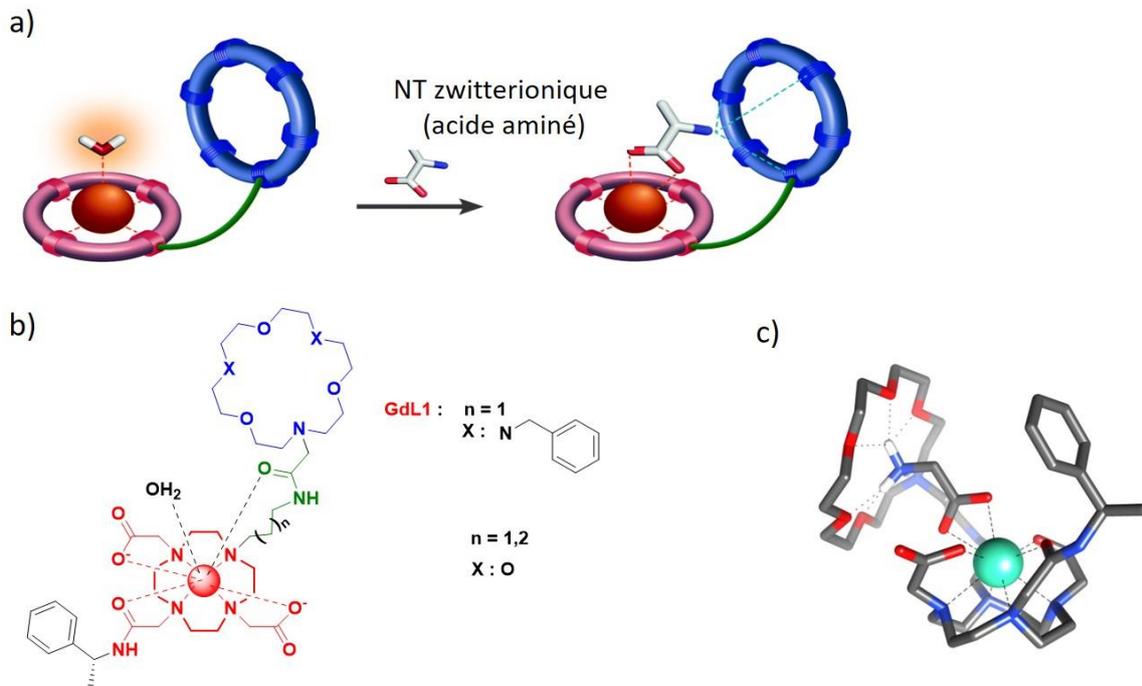


Figure 2. a) Fonctionnement des agents de contraste sensibles aux neurotransmetteurs zwitterioniques. Le remplacement de la molécule d'eau génère une forte diminution de la relaxivité. b) Complexes de Gd^{3+} utilisés pour la détection des neurotransmetteurs. (c) Calculs DFT de la géométrie du complexe ternaire formé avec la glycine. Adaptation de [4] avec la permission de The Royal Society of Chemistry.

L'interaction des NTs zwitterioniques à ces complexes de Gd^{3+} induit une forte diminution de la relaxivité (~80 %), alors qu'aucune variation n'est observée avec d'autres types de NTs (non zwitterioniques) comme la sérotonine, l'acétylcholine, la noradrénaline. Malgré la non-sélectivité vis-à-vis de l'hydrogénocarbonate qui provoque également une diminution de la relaxivité, le composé GdL1 (Figure 2) a pu être utilisé avec succès pour imager la libération des NTs dans une expérience IRM *ex vivo* réalisée sur une tranche de cerveau de souris [6]. La tranche de cerveau est placée dans un fluide cérébrospinal artificiel qui contient l'agent de contraste (Figure 3). Une stimulation neuronale intense est réalisée par l'injection de KCl (40 mM) dans le fluide. Les ions K^+ provoquent la dépolarisation de la membrane et le relargage des neurotransmetteurs qui peut être suivi en IRM. On observe une forte diminution du signal dans différentes structures du cerveau, mais en particulier au centre de l'hippocampe, où est

attendue la libération de la plus grosse quantité de NT (Figure 3e, flèche verte). Cette diminution de signal est le résultat de l'interaction entre les NTs et l'agent contraste, qui conduit à une diminution de la relaxivité et donc de l'intensité du signal IRM. En répétant la même expérience en présence d'une toxine (TTX, tétrodotoxine) qui empêche l'action de K^+ , aucune variation du signal IRM n'est observée. Bien qu'ils soient obtenus dans un contexte *ex vivo*, ces résultats sont importants et constituent une preuve de concept de l'utilité des agents IRM sensibles aux neurotransmetteurs pour les études biologiques.

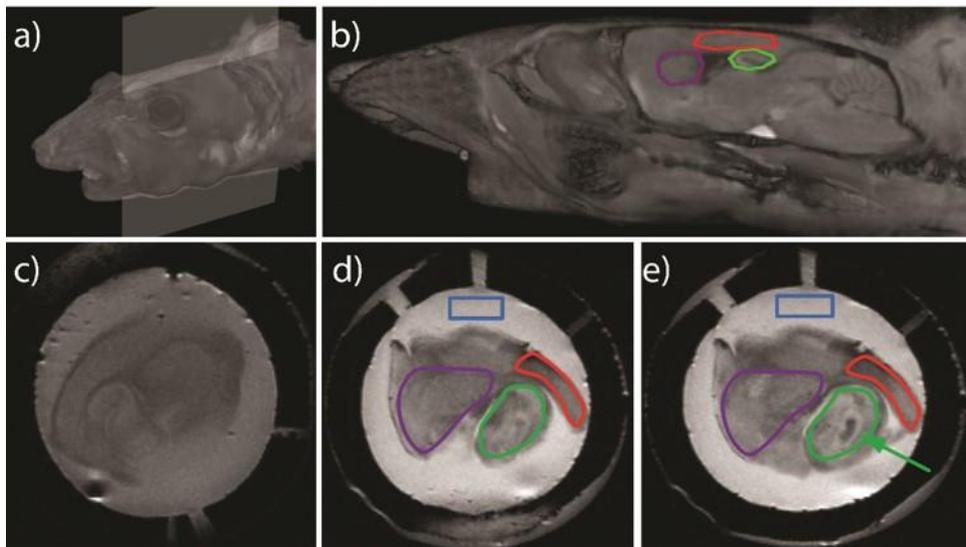


Figure 3. Expériences IRM : images reconstituées (a, b) qui montrent l'orientation de la tranche de cerveau examinée; images IRM de la tranche de cerveau dans un fluide cérébrospinal artificiel sans GdL1 (c) et avec 0.5 mM GdL1 immédiatement (d) et 10 mins (e) après injection de KCl dans le milieu. Une diminution du signal est observée au centre de l'hippocampe entouré en vert. Reproduit de [5] avec la permission de l'American Chemical Society.

Imagerie multimodale IRM et optique pour la détection enzymatique

Les enzymes ont un rôle fondamental dans les processus physiologiques et pathologiques et sont, par essence, des biomarqueurs importants en imagerie. Par ailleurs, la détection enzymatique occupe une place particulière en IRM. Les enzymes travaillent en cycles catalytiques, et de ce fait, une petite quantité d'enzyme peut être capable de transformer une grande quantité de sonde, diminuant ainsi artificiellement le seuil de détection IRM, souvent rédhibitoire pour les biomarqueurs peu concentrés. Réciproquement, l'IRM est intéressante pour la détection enzymatique car elle permet de suivre l'activité, et non seulement la présence de la protéine. Il n'est donc pas étonnant que le tout premier exemple d'agent de contraste IRM

intelligent ait été conçu pour détecter une enzyme, la β -galactosidase [9]. Depuis, un grand nombre de sondes IRM ont été proposées dans la littérature pour le suivi de l'activité des oxydoreductases, des transférases, des hydrolases, etc.

Assurer une bonne reconnaissance et une conversion enzymatique efficace de l'agent de contraste reste souvent un défi. Une stratégie intéressante pour répondre à cette problématique consiste à intégrer un bras auto-immolable dans la molécule, ce qui permet de placer le substrat plus loin du complexe métallique et de diminuer la gêne stérique. En collaboration avec l'équipe de Philippe Durand et Bernard Badet à l'ICSN, nous avons développé une plateforme de complexes de lanthanides pour la détection d'une variété d'activités enzymatiques (Figure 4). Le premier exemple était un complexe d' Yb^{3+} lié à un β -D-galactopiranoside, substrat de la β -galactosidase, *via* un bras autoimmolable de type benzyloxycarbamate [10]. Le clivage enzymatique du substrat déclenche une cascade électronique qui conduit à la destruction spontanée de l'espacateur et à la formation d'une amine. L'échange de protons sur cette amine est suffisamment lent et est à l'origine du signal PARACEST observable. Ce système a plusieurs avantages : (i) c'est une sonde enzymatique « off-on », c'est à dire que le signal IRM apparaît après la coupure enzymatique, donc il est plus facile à observer ; (ii) en choisissant un autre substrat, tout en gardant le reste de la molécule, il est possible de détecter d'autres enzymes, et ainsi l'effet PARACEST peut être optimisé une seule fois pour diverses activités enzymatiques [11].

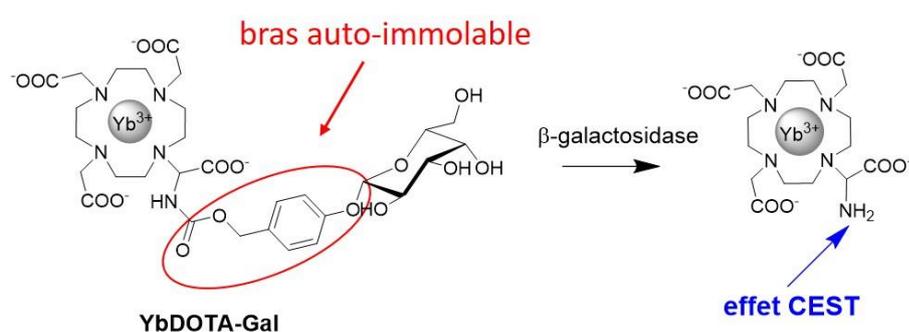


Figure 4. Agent enzymatique auto-immolable pour la détection de la β -galactosidase.

Ce système a été modifié par la suite afin d'être également détectable en imagerie optique. Comme chaque modalité d'imagerie a ses avantages et ses limites, il est souvent intéressant de combiner deux (voire plus) techniques complémentaires, de façon simultanée ou séquentielle. L'objectif est d'obtenir des informations biologiques ou médicales plus sûres, plus détaillées et moins ambiguës. On parle alors d'imagerie bimodale ou multimodale, et idéalement, l'agent

d'imagerie doit intégrer dans une seule entité moléculaire des capacités de détection pour chaque technique. Quand on souhaite combiner l'IRM avec l'imagerie optique, les lanthanides sont particulièrement intéressants car ils combinent des propriétés magnétiques et luminescentes remarquables. Parmi les quatorze lanthanides, douze sont paramagnétiques dont le Gd^{3+} , et plusieurs émettent une luminescence dans la région visible ou proche-infrarouge. Puisqu'ils sont tous chimiquement semblables, il est possible de les chélater avec le même ligand. En fonction du métal choisi, ces complexes sont utilisables pour une détection optique ou IRM, tout en ayant une biodistribution identique. Notre objectif était de proposer une plateforme de détection enzymatique qui, en fonction du lanthanide chélaté, serait capable de fournir une réponse aussi bien dans les deux types de détection IRM, PARACEST (par ex. Tb^{3+} , Yb^{3+} , Dy^{3+} , etc) et relaxation (Gd^{3+}), qu'en imagerie optique (visible : Eu^{3+} , Tb^{3+} ; proche infrarouge : Yb^{3+} , Nd^{3+} , etc). Pour cela, il faut combiner différentes fonctionnalités au sein du ligand : (i) il doit assurer la coordination d'une molécule d'eau dans le complexe de Gd^{3+} , indispensable pour une bonne relaxivité ; (ii) le ligand doit posséder des protons en échange lent afin de produire un effet PARACEST quand il est complexé à d'autres lanthanides paramagnétiques ; (iii) enfin, la structure moléculaire doit également intégrer un groupement chromophore, qui sera capable de sensibiliser la luminescence des lanthanides (absorber l'énergie d'excitation et la transférer sur le cation métallique). Le premier prototype de cette famille (Figure 5) contient une pyridine qui joue le rôle de chromophore [12]. De plus, la pyridine fournit une fonction coordonnante au lanthanide et contribue ainsi à la stabilité du complexe. Elle permet également l'introduction facile du bras auto-immolable dans différentes positions. Ce concept a été testé sur les composés modèles LnL2 et LnL3 (Figure 5), où le premier représente l'agent enzymatique mais sans le substrat et le bras auto-immolable complet et le deuxième est le produit final attendu après coupure enzymatique. Les spectres d'émission indiquent une augmentation de l'intensité de luminescence entre LnL2 et LnL3 (20 fois dans le cas du complexe de Tb^{3+} , émettant dans le visible et 6.5 fois pour l'analogue d' Yb^{3+} , émettant dans le proche infrarouge). Un important effet PARACEST est observé pour les complexes YbL2 et TbL2 comportant une fonction carbamate, effet qui disparaît pour les dérivés amines YbL3 et TbL3. Enfin, quand le Gd^{3+} est complexé à ces deux ligands, on observe une augmentation de ~100% de la relaxivité en passant de GdL2 à GdL3 ($r_1 = 1.91 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ et $3.77 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$; 60 MHz, 25°C). Ce système a été le tout premier exemple d'un design moléculaire unique qui peut permettre la détection enzymatique dans trois modalités d'imagerie, selon le lanthanide complexé [12].

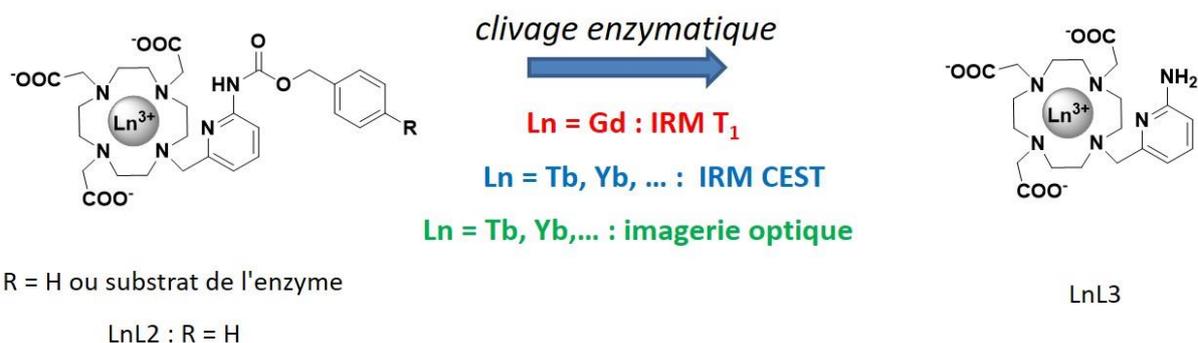


Figure 5. Sondes multimodales pour la détection enzymatique : selon le lanthanide complexé, la détection peut se faire en IRM classique T₁, IRM CEST ou imagerie optique. Le complexe LnL2 est un composé modèle sans le substrat.

Vers le remplacement du Gd³⁺ par un métal plus biocompatible

Depuis quelques années, la recherche s'intensifie pour remplacer le gadolinium par d'autres métaux paramagnétiques qui sont plus biocompatibles. Le Mn²⁺ possède 5 électrons *d* non-appariés, une relaxation électronique lente et une vitesse d'échange d'eau rapide, des propriétés intéressantes pour le développement d'agents de contraste. Ce cation doit aussi être chélaté dans des complexes thermodynamiquement stables, cinétiquement inertes et qui contiennent en plus une molécule d'eau coordonnée au métal pour une bonne efficacité IRM. Des ligands possédant cinq ou six fonctions coordonnantes et une structure rigide et pré-organisée sont les plus adaptés (voir [13] pour une revue récente).

Parmi les ligands macrocycliques, le PC2A-BP (Figure 6) est particulièrement intéressant car il forme un complexe stable et surtout très inerte (le temps de demi-vie de dissociation estimé dans des conditions physiologiques, pH 7.4 et 37°C est tout à fait remarquable, ~80 heures) [14]. Le groupement diphenyle rend possible l'interaction entre le complexe et l'albumine sérique, la protéine la plus abondante dans le sang. Grâce à cette interaction, la relaxivité du complexe est multipliée par six en présence d'albumine et le complexe reste plus longtemps dans la circulation, deux facteurs essentiels pour une application en IRM angiographique. Ainsi, le complexe MnPC2A-BP, injecté à une dose quatre fois inférieure à la normale, a permis de visualiser la microvascularisation dans le cerveau de la souris, invisible sans cet agent de contraste (Figure 6).

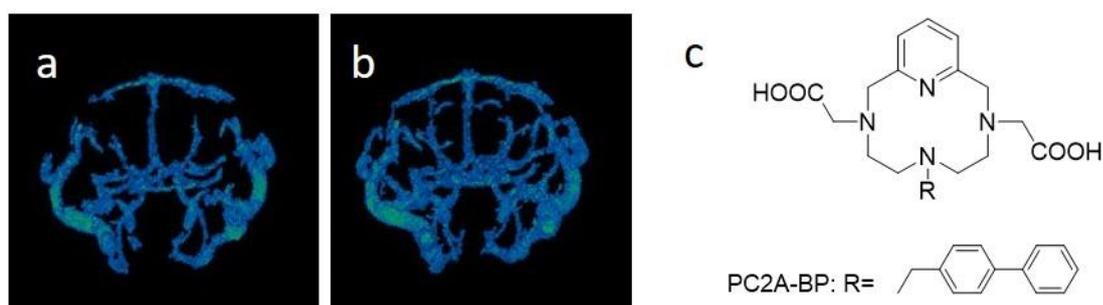


Figure 6. Le complexe MnPC2A-BP permet de visualiser par IRM la microvascularisation dans le cerveau de la souris, même longtemps après injection. Images enregistrées avant (a) et 30 mins (b) après l'injection de l'agent de contraste. (c) Structure du ligand PC2A-BP.

Visualisation de l'état redox du tissu

Dans le corps, l'état redox des espaces extra- et intracellulaires est strictement régulé par de nombreux couples redox biologiques, et tout déséquilibre peut conduire à des situations pathologiques. La visualisation de l'état redox est un objectif majeur aussi bien en imagerie clinique que dans la recherche biomédicale. Ces dernières années, l'imagerie TEP (tomographie par émission de positons) a eu beaucoup de succès cliniques pour détecter l'hypoxie des cellules cancéreuses par exemple, un indicateur déterminant dans la progression tumorale et dans la résistance aux traitements conventionnels. Pour visualiser l'état redox des tissus en IRM, on pense avant tout aux agents de contraste à base de métaux qui possèdent deux formes redox avec des propriétés magnétiques, donc des relaxivités différentes [15]. Ces complexes doivent posséder un potentiel redox adapté au potentiel des régulateurs redox dans l'environnement biologique (par ex. le potentiel de la glutathionne dans la cellule varie entre 240 mV (prolifération) et 170 mV (apoptose) [15]). La conversion entre leurs deux états redox doit être rapide, compatible avec l'imagerie. La complexation stable des deux formes redox du métal avec le même ligand représente souvent un défi de chimie de coordination non-négligeable, mais ce critère est indispensable pour la biocompatibilité du système.

Dans ce contexte, nous avons commencé il y a longtemps à explorer le couple $\text{Eu}^{2+}/\text{Eu}^{3+}$ en utilisant des ligands macrocycliques et cryptates [16]. L' Eu^{2+} est isoélectronique du Gd^{3+} et donc fortement paramagnétique ($S = 7/2$) et efficace en IRM, alors que l' Eu^{3+} a peu d'effet de relaxation. L'optimisation du potentiel redox à des valeurs adaptées à la biologie et la

complexation des deux formes Eu^{2+} et Eu^{3+} avec un seul ligand représentent encore des difficultés, malgré des progrès récents [17].

Le couple $\text{Mn}^{2+}/\text{Mn}^{3+}$ a été également étudié pour le développement des sondes redox. En raison de son plus faible paramagnétisme (souvent en configuration haut spin $S = 2$) et sa relaxation électronique rapide, le Mn^{3+} a des relaxivités moins élevées que le Mn^{2+} . Néanmoins, les mécanismes de relaxation et la dépendance de ces mécanismes en fonction du champ magnétique sont très différents pour les deux cations, et dans certaines conditions, la forme oxydée du complexe peut s'avérer plus efficace comme agent de contraste IRM.

Ici aussi, la stabilisation des formes oxydées et réduites avec le même ligand reste souvent compliquée. P. Caravan et al. ont proposé un ligand Janus « à deux faces » qui offre une coordination différente à Mn^{2+} et Mn^{3+} (Figure 7) [18]. Une inter-conversion rapide entre les deux états du complexe est provoquée par la *L*-cystéine (pour la réduction) ou l'activité peroxydase (pour l'oxydation).

Nous avons développé un dérivé fluoré de porphyrine, capable de former un complexe hydrosoluble et stable à la fois avec Mn^{3+} et Mn^{2+} (Figure 7) [19]. La transformation redox entre les deux est réversible et se fait par réaction avec de l'acide ascorbique (réduction) et de l'oxygène (oxydation). Curieusement, la glutathionne ou la cystéine, deux réducteurs biologiquement importants, ne peuvent pas réduire le $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{porph})$ à cause de leur coordination au métal, et ce malgré un potentiel redox approprié. Cela rend donc le système sélectif à la détection de l'acide ascorbique.

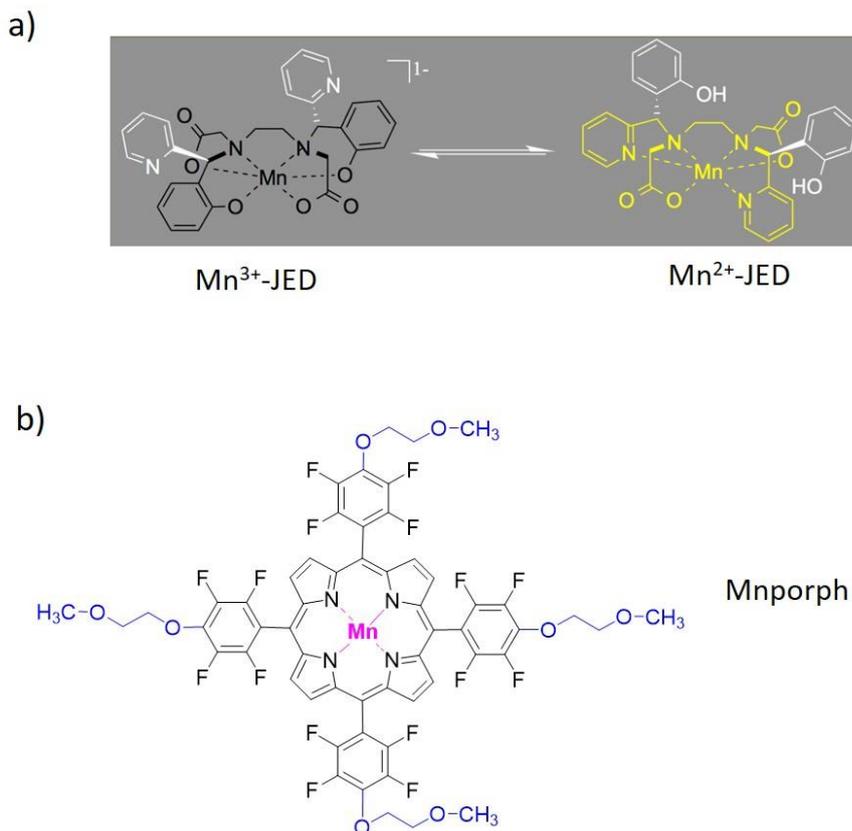


Figure 7. Complexes de Mn pour la détection de l'état redox. a) Complexes formés avec un ligand Janus. Reproduit de [18] avec la permission de l'American Chemical Society. b) Complexe porphyrinique.

L'ingénierie moléculaire pour explorer le vivant

Les complexes métalliques offrent une grande versatilité pour le développement d'agents de contraste IRM classiques T_1 ou PARACEST et aujourd'hui la détection de divers biomarqueurs en imagerie par résonance magnétique devient de plus en plus accessible. Ces nouvelles sondes moléculaires sont spécifiques à une application donnée. Par conséquent, leur translation clinique est difficile et reste encore lointaine. Elle sera probablement limitée à quelques agents qui peuvent représenter un marché important pour justifier les investissements. En revanche, ces complexes sont des outils précieux en imagerie préclinique (imagerie du petit animal) au service des biologistes. Par la visualisation *in vivo* des phénomènes biologiques en temps réel et sans limitation en profondeur, les sondes d'IRM moléculaire permettront de mieux explorer et comprendre le vivant. Les activités de notre équipe s'inscrivent dans ce travail d'ingénierie moléculaire au service de l'imagerie.

L'auteur exprime sa grande reconnaissance à tous ses collaborateurs, collègues, doctorants, post-doctorants avec qui elle a travaillé. Elle remercie en particulier Célia Bonnet, Sara Lacerda, Jean-François Morfin et Agnès Pallier avec qui ces projets sont développés à Orléans depuis une dizaine d'années. Elle remercie le CNRS qui lui donne la possibilité de mener ses recherches en toute liberté et dans d'excellentes conditions de travail, tous les financeurs (ANR, la Ligue contre le Cancer, INCa, la Région Centre Val de Loire, MESRI, GE Healthcare), ainsi que les réseaux européens COST pour les nombreux échanges scientifiques.

Références

- [1]. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging* Eds. Merbach A. E., Helm L., Tóth É. John Wiley & Sons, 2nd edition, Chichester, **2013**.
- [2] Lux J., Sherry A.D. Advances in gadolinium-based MRI contrast agent designs for monitoring biological processes in vivo, *Current Opinion in Chemical Biology* **2018**, *45*, p. 121.
- [3] Lee T., Cai L.X., Lelyveld V.S., Hai A., Jasanoff A. Molecular-Level Functional Magnetic Resonance Imaging of Dopaminergic Signaling, *Science*, **2014**, *344*, p. 533.
- [4] Angelovski G., Tóth É. Strategies for sensing neurotransmitters with responsive MRI contrast agents, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, p. 324.
- [5] Hsieh V., Jasanoff A. Bioengineered Probes for Molecular Magnetic Resonance Imaging in the Nervous System, *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3*, p. 593.
- [6] Oukhatar F., Mème S., Mème W., Szeremeta F., Logothetis N. K., Angelovski G., Tóth É. MRI sensing of neurotransmitters with a crown-ether appended Gd³⁺ complex, *ACS Chem. Neuroscience*, **2015**, *6*, p. 219.
- [7] Oukhatar F., Meudal H., Landon C., Platas-Iglesias C., Logothetis N. K., Angelovski G., Tóth É. Macrocyclic Gd³⁺ complexes with pendant crown ethers designed for binding zwitterionic neurotransmitters, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, p. 11226.
- [8] Oukhatar F., Eliseeva S. V., Bonnet C. S., Placidi M., Logothetis N. K., Petoud S., Angelovski G., Tóth É. Towards MRI and Optical Detection of Zwitterionic Neurotransmitters: Near-Infrared Luminescent and Magnetic Properties of Macrocyclic Lanthanide(III) Complexes Appended with a Crown Ether and a Benzophenone Chromophore, *Inorg. Chem.* **2019**, *58*, p. 13619.
- [9] Moats R. A., Fraser S. E., Meade, T. J. A "smart" magnetic resonance imaging agent that reports on specific enzymatic activity, **1997**, *36*, p. 726.
- [10] Chauvin T., Durand P., Bernier M., Meudal H., Doan B.-T., Noury F., Badet B., Beloeil J.-C., Tóth É. Detection of Enzymatic Activity by PARACEST MRI: A General Approach to Target a Large Variety of Enzymes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, p. 4370.
- [11] Chauvin T., Torres S., Rosseto R., Kotek J., Badet B., Durand P., Tóth É. Lanthanide(III) complexes bearing a self-immolative arm: potential enzyme responsive contrast agents for magnetic resonance imaging, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, p. 1408.
- [12] He J., Bonnet C. S., Eliseeva S. V., Lacerda S., Chauvin T., Retailleau P., Szeremeta F., Badet B., Petoud S., Tóth É., Durand P. Prototypes of Lanthanide(III) Agents Responsive to Enzymatic Activities in Three Complementary Imaging Modalities: Visible/Near-Infrared Luminescence, PARACEST- and T1-MRI, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, p. 2913.
- [13] Botta M., Carniato F., Esteban-Gomez D., Platas-Iglesias C. Mn(II) compounds as an alternative to Gd-based MRI probes, *Fut. Med. Chem.* **2019**, *11*, p. 1461.
- [14] Kálmán F.K., Nagy V., Váradi B., Garda Z., Mème S., Mème W., Tóth É., Tircsó G. Mn(II)-based MRI contrast agent candidate for vascular imaging, *soumis*

- [15] Pinto S. M., Tomé V., Calvete M. J. F., Castro M. M. C.A., Tóth É., Geraldes C. F. G. C. Metal-based redox-responsive MRI CAs, *Coord. Chem. Rev.* **2019**, 390, p. 1.
- [16] Tóth É., Burai L., Merbach A. E. Similarities and Differences between the Isoelectronic GdIII and EuII Complexes with Regard to MRI Contrast Agent Applications, *Coord. Chem. Rev.* **2001**, 216-217, p. 363.
- [17] Lina A. B., Allen M. J. Synthesis, Characterization, and Handling of Eu-II-Containing Complexes for Molecular Imaging Applications, *Front. in Chem.* **2018**, 6, p. 1.
- [18] Gale E. M., Jones C. M., Ramsay I., Farrar C.T., Caravan P. A Janus Chelator Enables Biochemically Responsive MRI Contrast with Exceptional Dynamic Range, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, p. 15861.
- [19] Pinto S. M. A., Calvete M. J. F., Ghica M. E., Soler S., Gallardo I., Pallier A., Laranjo M. B., Cardoso A. M.S., Castro M. M. C. A., Brett C.M.A., Pereira M. M., Tóth É., Geraldes C. F. G. C. A Biocompatible Redox MRI Probe Based on a Mn(II)/Mn(III) Porphyrin, *Dalton Trans.* **2019**, 48, p. 3249.