

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 596

Matière, Molécules, Matériaux et Géosciences

Spécialité : « *Chimie Physique Chimie Théorique* »

Par

« **Victor RIBAY** »

« **Hyperpolarized ^{13}C NMR for metabolomics** »

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 12 décembre 2024

Unité de recherche : Laboratoire CEISAM UMR 6230

Rapporteurs avant soutenance :

Sami Jannin

Mathilde Hauge Lerche

Professeur, Université de Lyon, France

Associate professor, Université of Denmark, Denmark

Composition du Jury :

Président :

Examineurs : **Jean-Charles Portais**

Sami Jannin

Mathilde Hauge Lerche

James Kempf

Professeur, Université Paul Sabatier Toulouse, France

Professeur, Université de Lyon, France

Associate professor, Université of Denmark, Denmark

Senior Scientist, Bruker Biospin, Massachusetts, USA

Dir. de thèse : **Patrick Giraudeau**

Co-enc de thèse : **Marine Letertre**

Professeur, Nantes Université, France

Maître de conférences, Nantes Université, France

Titre : RMN ^{13}C hyperpolarisée pour la métabolomique

Mots clés : RMN, Hyperpolarisation, Abondance naturelle, Métabolomique, Bio-fluide

Résumé : La RMN ^{13}C hyperpolarisée basée sur la polarisation dynamique nucléaire par dissolution fournit des spectres riches, résolus et répétables en abondance naturelle. L'acquisition de spectre ^{13}C avec une sensibilité inférieure au mM représente une opportunité pour l'analyse de mélange complexe et a déjà été exploré dans un contexte de métabolomique sur des extraits de plantes concentrés. Néanmoins, le gain de sensibilité apporté par la d-DNP s'accompagne de nouveaux défis – connu ou non – qui limitent actuellement un usage généralisé de la méthode en sciences omiques. Dans ce contexte, ces travaux de thèse se concentrent sur l'exploration de son potentiel pour l'analyse de matrices complexes et les sciences omiques. Par exemple, nous avons montré que la d-DNP couplée à la RMN ^{13}C est capable de fournir des spectres riches sur des bio-fluides comme l'urine. De plus, il est possible de retrouver des informations quantitatives uniques grâce aux ajouts dosés sur des métabolites urinaires

inaccessibles en RMN ^1H conventionnelle à cause des forts recouvrements de signaux. Nous proposons également la première application de cette méthode hyperpolarisée émergente à une étude métabolomique impliquant des échantillons cliniques. L'analyse d'échantillon d'urine humaine de patient atteints de différents stages de maladie rénale chronique a été réalisée par RMN ^{13}C hyperpolarisée et par RMN ^1H conventionnelle à haut champ. Les résultats ont mis en lumière la complémentarité des deux méthodes concernant l'annotation de biomarqueur, notamment, la RMN ^{13}C hyperpolarisée a permis l'identification de deux biomarqueurs – la guanine et le guanidoacetate – qui n'ont pas pu être identifié par RMN ^1H à cause des recouvrements de signaux.

Title: Hyperpolarized ^{13}C NMR for metabolomics

Keywords: NMR, Hyperpolarization, Natural abundance, Metabolomics, Biofluid

Abstract: Hyperpolarized ^{13}C NMR relying on dissolution dynamic nuclear polarization (d-DNP) is able to provide rich and highly resolved spectral fingerprint at natural abundance and in a repeatable way. Such ^{13}C NMR spectra with sub-mM limit of detection represents an opportunity for complex mixture analysis and has already been exploited in metabolomic context with concentrated plant extracts. Nevertheless, the gain of sensitivity brought by d-DNP comes with new challenges that currently prevent general use of the method in omics sciences. In this context, this thesis work focuses on the exploration of its potential for complex mixture analysis and omics sciences. For instance, we showed that d-DNP ^{13}C NMR is also able to provide rich spectra on a dilute biofluid, such as urine. Moreover, being able to recover unique quantitative information using standard additions on urinary metabolites

that were inaccessible with conventional ^1H NMR due to strong peak overlap. We reported the first application of this emerging hyperpolarized approach to a metabolomics study involving clinical samples. The analysis of human urine samples from patients with different stage of chronic kidney disease was performed using both hyperpolarized ^{13}C NMR and benchmarked conventional ^1H NMR at high field. The results highlighted the complementarity of biomarker coverage between the two methods, in particular, ^{13}C d-DNP NMR allowed the annotation of two biomarkers – guanine and guanidoacetate – that could not be detected by ^1H NMR because of peak overlap.