



HAL
open science

Ingénierie moléculaire et fluorescence pour la reconnaissance de cations toxiques

Vincent Souchon

► **To cite this version:**

Vincent Souchon. Ingénierie moléculaire et fluorescence pour la reconnaissance de cations toxiques. Autre. École normale supérieure de Cachan - ENS Cachan, 2007. Français. NNT : . tel-00255005

HAL Id: tel-00255005

<https://theses.hal.science/tel-00255005>

Submitted on 13 Feb 2008

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.



N° ENSC

**THESE DE DOCTORAT
DE L'ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE CACHAN**

Présentée par

Monsieur Vincent SOUCHON

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE CACHAN

Domaine :

SCIENCES PHYSIQUES et CHIMIQUES

Sujet de la thèse :

**Ingénierie moléculaire et fluorescence
pour la reconnaissance de cations toxiques.**

Thèse présentée et soutenue à Cachan le 19 novembre 2007 devant le jury composé de :

Jacques VICENS	Directeur de Recherches	
Monique MARTIN	Directrice de Recherches	Rapporteur
Dario BASSANI	Directeur de Recherches	Rapporteur
Michel FERRAND	Chercheur CEA	
Isabelle LERAY	Chargée de Recherches	
Bernard VALEUR	Professeur	

Laboratoire de Photophysique et de Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires
(ENS CACHAN/CNRS/UMR 8531)
61, avenue du Président Wilson, 94235 CACHAN CEDEX (France)

Remerciements

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier la Direction du Programme Toxicologie Nucléaire Environnementale, et notamment *Marie-Thérèse Ménager*, pour m'avoir accordé une bourse d'études sur ces trois années.

A l'issue de ces trois années passées au sein du laboratoire de Photophysique et Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires à l'ENS de Cachan, je tiens également à remercier le Professeur *Jacques Delaire* pour m'avoir accueilli dans ce laboratoire. Je lui suis également reconnaissant du temps qu'il m'a consacré pour les expériences d'absorption transitoire et pour son aide en fin de thèse.

J'exprime toute ma gratitude envers le Professeur *Bernard Valeur* pour avoir encadré et guidé ce travail tout au long de ces trois années. Je le remercie de m'avoir transmis une partie de ses connaissances sur ce vaste et passionnant domaine que constitue la spectroscopie de fluorescence. Je lui dois également mes premiers pas en tant qu'« enseignant » et tiens à le remercier pour cette expérience très enrichissante. Je souhaite bien évidemment associer à ces remerciements le Dr. *Isabelle Leray*, Chargée de Recherches au CNRS, pour son soutien au quotidien, ses précieux conseils scientifiques, sa bonne humeur, l'autonomie qu'elle m'a accordée et surtout son souci permanent que tout se déroule pour le mieux. Travailler dans ces conditions fut un réel plaisir et je lui en suis très reconnaissant.

Tous mes remerciements vont également à *Monique Martin*, Directrice de Recherches, et au Dr. *Dario Bassani*, Directeur de Recherches au CNRS pour avoir accepté de juger ce travail en qualité de rapporteurs.

Pour leur participation à mon jury de thèse, je suis très reconnaissant envers le Professeur *Jacques Vicens* et le Dr. *Michel Ferrand*, Chercheur au CEA qui s'est occupé de coordonner et animer le sous-projet Chélation Biologique au sein du Programme Toxicologie Nucléaire Environnementale.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Professeur *Juan Xie*, le Dr. *Olivier David* et *Stéphane Maisonneuve* (Assistant Ingénieur au laboratoire) pour la synthèse de certaines des molécules étudiées pendant ma thèse. Merci également au Professeur *Pierre Audebert* pour m'avoir aidé à réaliser les mesures électrochimiques décrites dans ce manuscrit. Je suis par ailleurs très reconnaissant envers le Dr. *Mathieu Soibinet*, ATER au CNAM en 2007, pour sa collaboration et sa grande implication dans l'étude du senseur fluorescent Rhod-5N. Enfin, tous mes remerciements vont à *Marie-Laure Lavielle* que j'ai eu le plaisir d'encadrer lors de son stage de M1 en 2006, avant qu'elle ne réussisse brillamment le concours de l'agrégation.

Comment ne pas compléter ces remerciements par un tour d'horizon de toutes les personnes que j'ai côtoyées au sein du PPSM et qui ont contribué à faire de ces trois années une expérience inoubliable ? A commencer bien sûr par toutes les personnes qui m'ont aidé bien volontiers quand le besoin s'en faisait sentir : *Jean-Jacques* pour ses réglages du laser à 288 nm et sa modestie après sa performance au marathon de Paris ; *Jean-Pierre* pour son allumage matinal du laser ; *Gilles* pour son expertise en RMN, en modélisation moléculaire et pour avoir amené l'Equipe tous les matins y

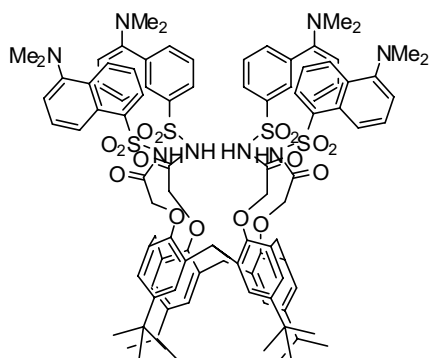
compris quand le SU Agen a été relégué en ProD2 (désolé...) ; *Rémi* pour son initiation à la DFT et ses réflexions toujours lumineuses ; *Jacky* pour ses sauvegardes (parfois ratées) et son savoir-faire informatique et *Andrée*, dont la disponibilité, le dévouement et la gentillesse sont fort appréciables pour régler toutes les paperasseries administratives. Je n'oublie pas bien sûr les autres membres permanents du laboratoire et voudrais leur témoigner toute ma sympathie : la très dynamique *Elena* avec qui j'ai apprécié discuter et dont les talents culinaires ne sont plus à démontrer ; *Valérie* pour l'ambiance sympathique dans le bureau et au laboratoire ; *Elizabeth* pour son encadrement lors de mes enseignements au CNAM ; *Arnaud B.*, fan de DJ Shadow et des Satanic Surfers ; *Laurent* pour son art des commandes et ses tuyaux à prix modiques ; *Cécile* ; *Carine* ; *Christian* ; *Fabien* ; *Keitaro* ; *Rachel* ; *Robert* et *Valérie G.*

Je tiens également à remercier les doctorants et post-doctorants croisés au laboratoire et qui ont, par leur présence, leurs conseils ou leur bonne humeur, contribué à faciliter ces trois années de travail : la toujours souriante *Minh*, ma complice de spectro, de bureau et de paillasse pendant trois années ; *Sophie*, devenue docteur depuis peu et qui sera à n'en pas douter une concurrente coriace au moment de rentrer dans le monde du travail ; *Béatrice* à qui je souhaite une bonne continuation pour sa thèse ; *Emilie B.* et *Emilie D.* collègues de bureau pendant un an ; *Arnaud S.*, jeune marié adorateur de Pedro Miguel Pauleta et du Japon ; *JB*, également supporter inconditionnel du PSG et grand animateur du bureau pendant deux années ; *François*, footballeur et basketteur infatigable ; *Khaled*, importateur officiel de pâtisseries syriennes ; *Jean-Pierre B.* post-doctorant « exceptionnel à 75 % » ; *Han* ; *Minako* ; *Thanh* ; *Hassen* ; *Serge* ; *Michel* ; *Jean-Alexis* ; *Yasukuni* ; *Sébastien*. Que mes amis doctorants extérieurs au laboratoire et fournisseurs officiels de publications auxquels j'ai souvent fait appel (*Damien*, *Mathieu*, *Rémi* et *Xavier*) soient aussi remerciés.

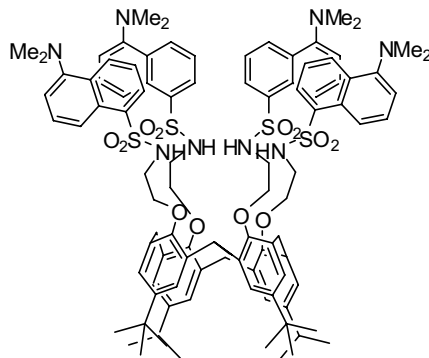
Enfin, un grand merci à toute ma famille, mes amis (footballeurs de la Mean Machine B ou de l'ESPCI, adeptes du Cristal ou autres) pour leur soutien et les moments agréables passés ensemble.

Molécules étudiées

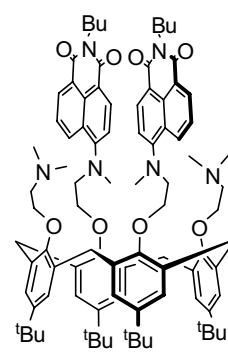
Molécules étudiées



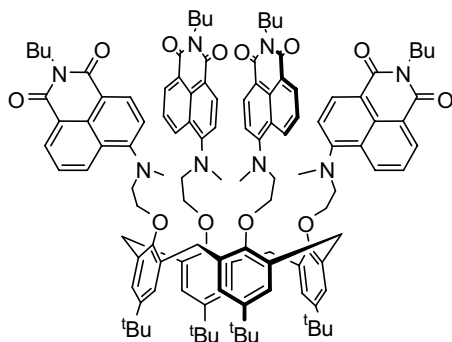
Calix-Dans4



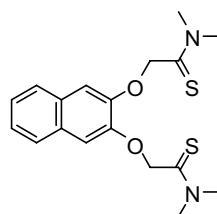
Calix-DNS4



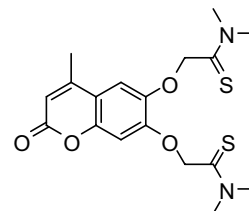
Calix-NAPHT2-Me



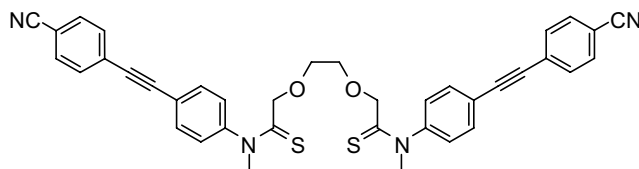
Calix-NAPHT4-Me



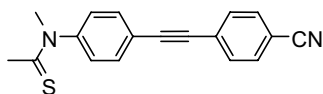
THIO-NAPH



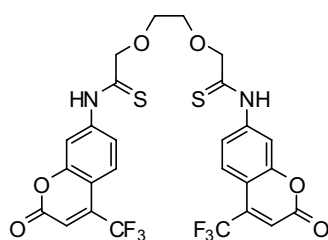
THIO-COU



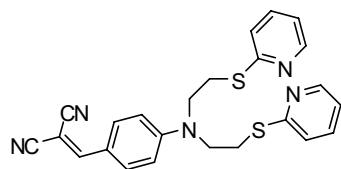
THIO-BAT



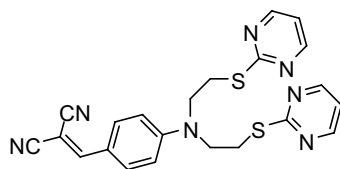
THIO-MOD



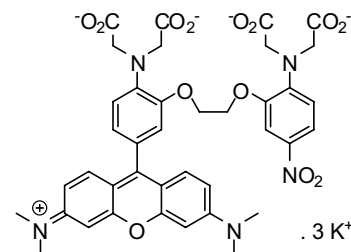
THIO-COU2



PYR-CN

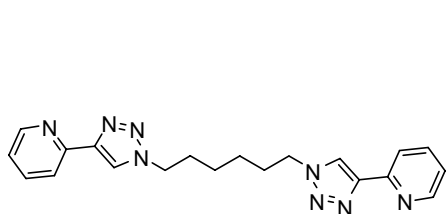


PYRIM-CN

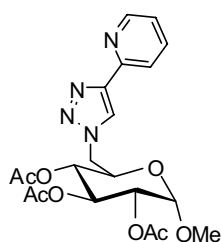


Rhod-5N.3 K⁺

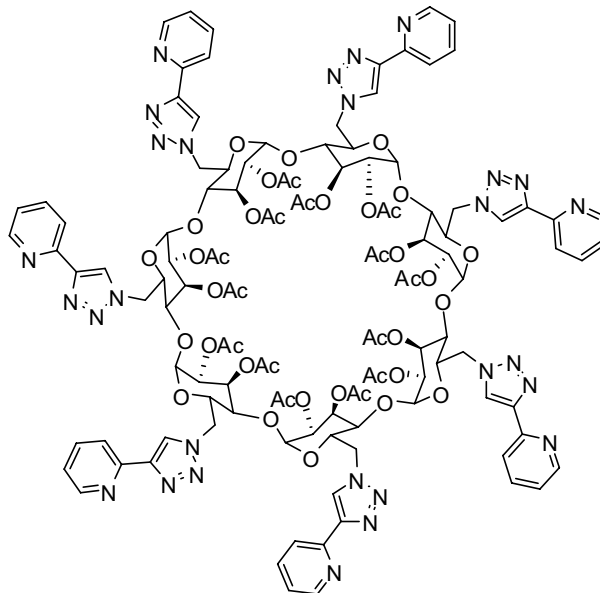
Molécules étudiées



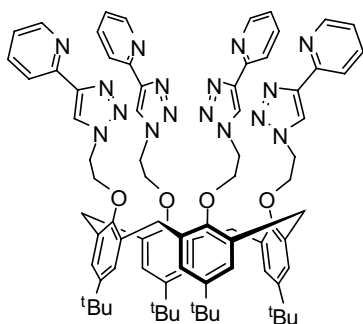
PT-hex-PT



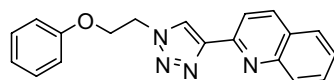
Gluco-PT



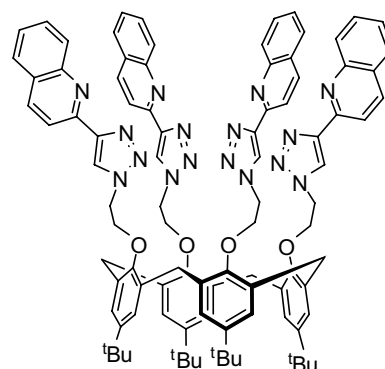
β CD-PT7



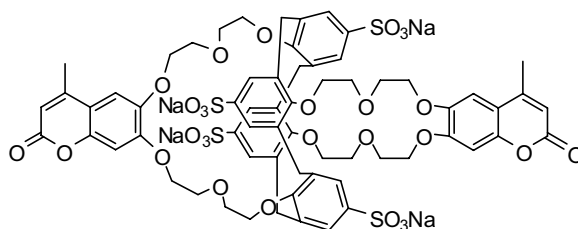
Calix-PT4



QT-MOD



Calix-QT4



Calix-COUSULF

Abréviations

Abréviations

ATP	Adénosine Tri-Phosphate
BAPTA	1,2-Bis(2-AminoPhenoxy)ethane- <i>N,N,N',N'</i> -Tetraacetic Acid
BODIPY	DIPYrrromethene BOron DiFluoride
Bu	Butyle
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CHEMFET	Chemically Modified Field Effect Transistor
DFT	Density Functional Theory
DIBAL-H	Hydruire de diisobutylaluminium
DMF	<i>N,N'</i> -diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
E-AAS	Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy
ENH	Electrode Normale à Hydrogène
EPPS	<i>N</i> -(2-Hydroxyethyl)piperazine- <i>N'</i> -(3-propanesulfonic acid)
éq.	Equivalent
ESI	ElectroSpray Ionization
F-AAS	Flame Atomic Absorption Spectroscopy
GF-AAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy
GP	Groupe partant
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
HSAB	Hard and Soft Acids and Bases
IC	Internal Conversion
ICP	Inductively Coupled Plasma
ISC	InterSystem Crossing
ISE	Ion Selective Electrode
M	Masse molaire
MES	2-morpholinoethanesulfonic acid
MOPS	3-morpholinopropanesulfonic acid
Ms	Mésyle
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ppm	Parties par Million
PCT	Photoinduced Charge Transfer
PDMBI	2-phenyl- <i>N,N'</i> -dimethylbenzimidazoline
PET	Photoinduced Electron Transfer
PVC	Poly Vinyl Chloride
R_F	Rapport frontal
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SLM	Supported Liquid Membrane
SM	Spectroscopie de Masse
TA	Température ambiante
THF	Tétrahydrofurane
Ts	Tosyle
UV	Ultraviolet
WHO	World Health Organisation

Sommaire

Sommaire

<u>INTRODUCTION GENERALE</u>	- 1 -
---	-------

<u>CHAPITRE 1 : CATIONS TOXIQUES ET FLUORESCENCE</u>	- 4 -
---	-------

I. LES METAUX LOURDS (Pb, Cd ET Cs) DANS L'ENVIRONNEMENT	- 5 -
I.1. <i>Propriétés toxicologiques</i>	- 5 -
I.1.1. Le plomb	- 5 -
I.1.2. Le cadmium.....	- 6 -
I.1.3. Le césium et son isotope radioactif ¹³⁷ Cs	- 7 -
I.2. <i>Détection des métaux lourds</i>	- 9 -
I.2.1. Méthodes atomiques et spectrométrie de masse.....	- 9 -
I.2.2. Détection par électrochimie ou fluorescence	- 10 -
II. INTRODUCTION A LA FLUORESCENCE MOLECULAIRE	- 11 -
II.1. <i>Absorption de la lumière et fluorescence</i>	- 11 -
II.2. <i>Détection de cations par fluorescence : principe du fluoroionophore</i>	- 13 -
III. CONCEPTION DES FLUOROIONOPHORES	- 15 -
III.1. <i>Ingénierie de l'entité complexante : l'ionophore</i>	- 15 -
III.1.1. La théorie HSAB	- 15 -
III.1.2. Complexants des cations cibles	- 16 -
III.2. <i>Phénomènes photoinduits pour la détection de cation</i>	- 19 -
III.2.1. Transfert d'électron photoinduit	- 20 -
III.2.2. Transfert de charge photoinduit.....	- 22 -
III.2.3. Transfert d'énergie	- 24 -
III.2.4. Formation d'excimères	- 25 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 27 -

<u>CHAPITRE 2 : SENSEURS FLUORESCENTS SELECTIFS DU PLOMB</u>	- 31 -
---	--------

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	- 32 -
I.1. <i>Fluoroionophores sélectifs du plomb</i>	- 32 -
I.1.1. Fluoroionophores de type PET.....	- 32 -
I.1.2. Fluoroionophores de type PCT	- 33 -
I.1.3. Formation d'excimères.....	- 35 -
I.1.4. Autres fluoroionophores sélectifs.....	- 36 -
I.2. <i>Détection du plomb par Calix-Dans4 en milieu eau/acétonitrile</i>	- 37 -
I.2.1. Propriétés complexantes avec le plomb	- 37 -
I.2.2. Sensibilité de la détection du plomb avec Calix-Dans4	- 38 -
I.2.3. Sélectivité de la détection du plomb avec Calix-Dans4	- 39 -
II. FONCTIONNEMENT DE LA SONDE CALIX-DANS4 EN MILIEU AQUEUX A PH = 6	- 41 -
II.1. <i>Conditions de milieu</i>	- 41 -
II.2. <i>Optimisation du fonctionnement de la sonde</i>	- 42 -
II.2.1. Préambule	- 42 -
II.2.2. Etude en présence de chlorure de magnésium	- 42 -
II.2.3. Etude en présence de chlorure de potassium	- 46 -
II.2.4. Conclusion sur le composé Calix-Dans4 et perspectives.....	- 46 -
III. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVEAUX CALIXARENES COMPORTANT QUATRE ATOMES D'AZOTE COMPLEXANTS	- 48 -
III.1. <i>Etude d'un analogue non carbonylé de Calix-Dans4 : Calix-DNS4</i>	- 48 -
III.1.1. Ingénierie moléculaire et analyse rétrosynthétique	- 48 -
III.1.2. Synthèse de l'analogue Calix-DNS4	- 49 -
III.1.3. Propriétés complexantes de Calix-DNS4	- 50 -
III.1.4. Conclusion sur le composé Calix-DNS4	- 54 -
III.2. <i>Etude de calixarènes azotés excitables au-delà de 400 nm</i>	- 54 -

III.2.1. Rappels sur fluorophores 1,8-naphtalimides	- 54 -
III.2.2. Nouveaux fluoroionophores cibles de type naphtalimide.....	- 56 -
III.2.3. Propriétés photophysiques des composés naphtalimides.....	- 60 -
III.2.4. Propriétés complexantes des composés naphtalimides.....	- 62 -
III.2.5. Conclusion sur les composés de type naphtalimide.....	- 64 -
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES SUR LES FLUOROIONOPHORES SELECTIFS DU PLOMB	- 65 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	- 67 -

CHAPITRE 3 : VERS DE NOUVEAUX FLUOROIONOPHORES SELECTIFS DU CADMIUM

- 71 -

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES ET AXES D'ETUDES.....	- 72 -
I.1. <i>Ligands sélectifs du cadmium</i>	- 72 -
I.1.1. Ligands macrocycliques.....	- 72 -
I.1.2. Ligands incorporant des groupements thioamides	- 73 -
I.2. <i>Fluoroionophores sélectifs du cadmium</i>	- 74 -
I.2.1. Fluoroionophores de type PET.....	- 74 -
I.2.2. Cadmiation électrophile aromatique	- 75 -
I.2.3. Fluoroionophores de type PCT	- 76 -
I.3. <i>Axes de recherche et conception de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium</i>	- 78 -
II. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVEAUX COMPOSÉS DE TYPE THIOAMIDE	- 81 -
II.1. <i>Obtention des composés cibles et effets photophysiques attendus</i>	- 81 -
II.1.1. Synthèse des composés thioamides de type O	- 81 -
II.1.2. Synthèse des composés thioamides de type N	- 82 -
II.2. <i>Etudes des propriétés des composés thioamides</i>	- 85 -
II.2.1. Propriétés photophysiques des ligands thioamides	- 85 -
II.2.2. Propriétés complexantes des ligands thioamides	- 91 -
II.3. <i>Conclusion sur les composés de type thioamide</i>	- 96 -
III. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVELLES PINCES COMPLEXANTES SOUFREES	- 97 -
III.1. <i>Obtention des pinces thiopyridine et thiopyrimidine</i>	- 97 -
III.1.1. Analyse rétrosynthétique	- 97 -
III.1.2. Synthèse des composés PYR-CN et PYRIM-CN.....	- 98 -
III.2. <i>Propriétés photophysiques des ligands PYR-CN et PYRIM-CN</i>	- 99 -
III.3. <i>Propriétés complexantes des ligands PYR-CN et PYRIM-CN</i>	- 100 -
III.3.1. Sensibilité de la détection du mercure par PYR-CN	- 100 -
III.3.2. Sélectivité de la détection du mercure par PYR-CN	- 102 -
III.4. <i>Conclusion sur les composés PYR-CN et PYRIM-CN</i>	- 102 -
IV. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVEAUX COMPOSÉS INCORPORANT LE MOTIF PYRIDIN-2'-YL-1,2,3-TRIAZOLE	- 104 -
IV.1. <i>Click chemistry et synthèse de composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole</i>	- 104 -
IV.1.1. Contexte de l'étude.....	- 104 -
IV.1.2. Synthèse des dérivés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole	- 105 -
IV.2. <i>Propriétés photophysiques des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole</i>	- 107 -
IV.2.1. Etude du sucre modèle Gluco-PT.....	- 107 -
IV.2.2. Etude comparée des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 114 -
IV.3. <i>Propriétés complexantes des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole</i>	- 118 -
IV.3.1. Complexation du cadmium par les composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 118 -
IV.3.2. Sélectivité de la complexation du cadmium par β CD-PT7	- 130 -
IV.3.3. Discussion et conclusion	- 131 -
IV.4. <i>Analogues des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole excitables à plus haute longueur d'onde</i>	- 131 -
IV.4.1. Synthèse de composés substitués par des quinoléines.....	- 132 -
IV.4.2. Etude préliminaire du composé modèle	- 133 -
IV.4.3. Propriétés complexantes de Calix-QT4 avec le cadmium.....	- 134 -
IV.4.4. Conclusion sur les composés de type quinoléine	- 136 -
V. ETUDE D'UNE SONDE COMMERCIALE : LE RHOD-5N	- 138 -
V.1. <i>Etude par spectroscopies stationnaires</i>	- 138 -
V.1.1. Etude du ligand Rhod-5N en absence de cations.....	- 138 -

V.1.2. Complexation du cadmium par le ligand Rhod-5N	- 139 -
V.1.3. Etude de la sélectivité du ligand Rhod-5N	- 141 -
V.2. Etude par fluorimétrie résolue en temps	- 142 -
V.3. Conclusion de l'étude sur le Rhod-5N.....	- 143 -
VI. CONCLUSION GENERALE SUR LES FLUOROIONOPHORES SELECTIFS DE CADMIUM.....	- 145 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 147 -
<u>CHAPITRE 4 : CALIXARENE HYDROSOLUBLE FLUORESCENT POUR LA DETECTION DU CESIUM</u>	- 153 -
I. INTRODUCTION	- 154 -
I.1. Ligands sélectifs du césium	- 154 -
I.1.1. Les podands.....	- 154 -
I.1.2. Les ligands macrocycliques	- 154 -
I.2. Fluoroionophores sélectifs du césium en milieu organique	- 158 -
I.2.1. Fluoroionophores de type benzocouronne	- 158 -
I.2.2. Fluoroionophores de type calixarène	- 159 -
I.3. Calixarènes hydrosolubles sélectifs du césium : voies de synthèse et propriétés	- 162 -
I.3.1. Généralités sur les calixarènes hydrosolubles	- 162 -
I.3.2. Ionophores carboxylés ou hydroxylés	- 163 -
I.3.3. Ionophores sulfonés	- 164 -
I.4. Vers la conception d'un nouveau senseur fluorescent hydrosoluble.....	- 165 -
II. SYNTHÈSE DE LA SONDE CALIX-COUSULF.....	- 166 -
II.1. Analyse rétrosynthétique.....	- 166 -
II.2. Synthèse du fluoroionophore Calix-COUSULF.....	- 166 -
III. PROPRIÉTÉS COMPLEXANTES ET PHOTOPHYSIQUES	- 169 -
III.1. Etude préliminaire du ligand Calix-COUSULF en milieu aqueux.....	- 169 -
III.1.1. Etude dans l'eau : influence du sodium et du pH	- 169 -
III.1.2. Choix du milieu et étude du ligand.....	- 170 -
III.2. Complexation du césium en milieu MES-NaOH à pH = 7	- 171 -
III.2.1. Etudes spectroscopiques	- 171 -
III.2.2. Etude par RMN ¹ H	- 176 -
III.3. Modèle proposé pour la complexation du césium	- 177 -
III.3.1. Interprétation des résultats expérimentaux	- 177 -
III.3.2. Etude par modélisation moléculaire	- 179 -
III.4. Sensibilité et sélectivité pour la détection du césium en milieu MES-NaOH à pH = 7.....	- 184 -
III.4.1. Sensibilité et limite de détection.....	- 184 -
III.4.2. Sélectivité	- 186 -
IV. EXEMPLE D'APPLICATION DE LA SONDE CALIX-COUSULF EN MILIEU AQUEUX	- 188 -
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	- 190 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 191 -
<u>CONCLUSION GENERALE</u>	- 196 -
<u>PARTIE EXPERIMENTALE</u>	- 199 -
I. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION	- 199 -
I.1. Généralités	- 199 -
I.2. Modes opératoires.....	- 200 -
I.2.1. Synthèse des produits du chapitre 2 (plomb)	- 200 -
I.2.2. Synthèse des produits du chapitre 3 (cadmium).....	- 212 -
I.2.3. Synthèse des produits du chapitre 4 (césium)	- 235 -
II. MESURES SPECTROSCOPIQUES	- 240 -
II.1. Instrumentation	- 240 -
II.1.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible	- 240 -
II.1.2. Spectroscopie de fluorescence stationnaire.....	- 240 -

Sommaire

II.1.3. Fluorimétrie impulsionnelle par comptage de photons uniques.....	- 240 -
II.1.4. Absorption transitoire	- 242 -
<i>II.2. Produits et solvants</i>	- 243 -
<i>II.3. Protocoles expérimentaux</i>	- 244 -
II.3.1. Mesure du rendement quantique de fluorescence	- 244 -
II.3.2. Mesure du pH en milieu organo-aqueux.....	- 244 -
II.3.3. Détermination de pK_a et de constantes de stabilité	- 245 -
III. MESURES ELECTROCHIMIQUES	- 245 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 246 -

Introduction générale

Introduction générale

Face aux besoins énergétiques croissants du monde moderne, à la raréfaction des ressources en pétrole et gaz naturel et leur responsabilité sur le réchauffement climatique, le choix de l'énergie nucléaire devient de plus en plus pertinent. Cependant, ce choix technologique s'accompagne de nombreux risques environnementaux qui doivent être pris en compte, étudiés et maîtrisés. En particulier, l'acceptation sociale de l'énergie nucléaire et son utilisation future reposent sur une transparence totale et la capacité des scientifiques à répondre aux interrogations du public, des industriels et des responsables de santé publique quant à l'impact des activités nucléaires sur l'homme et son environnement.

	H																	He	
	Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
	Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
Métaux alcalins	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Au	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
	Cs	Ba	Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
	Fr	Ra	Lr	Uuq	Uup	Uuh	Uus												
	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lanthanides				
	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Actinides				

Figure 1. *Eléments d'intérêt (en noir) pour le programme Toxicologie Nucléaire Environnementale et éléments étudiés dans le cadre de cette thèse (cercles rouges).*

Ainsi, l'impact environnemental des différents composés chimiques utilisés ou générés dans le secteur nucléaire doit être évalué et mesuré, notamment en ce qui concerne certains cations métalliques ou substances radioactives. C'est à cette exigence que le programme Toxicologie Nucléaire Environnementale^a entend répondre. En regroupant autour d'une même thématique physiciens, chimistes et biologistes issus de différents organismes de recherche français (CEA, CNRS, Inserm, Inra), ce programme a permis l'émergence d'une communauté scientifique nouvelle dont l'intérêt commun est l'étude toxicologique de certains métaux lourds ou radionucléides. Il est en effet essentiel de comprendre les mécanismes d'action de ces toxiques pour l'homme et son environnement ainsi que les mécanismes de détoxification. La comparaison des réponses et des stratégies mises en place par différents organismes de la chaîne trophique, des bactéries à l'homme

^a Site internet du programme Toxicologie Nucléaire Environnementale : www.toxnuc-e.org

en incluant les végétaux, doit apporter de nouvelles bases pour la compréhension des processus liés aux intoxications et aux effets de faibles doses sur le vivant, mais aussi pour concevoir des bio-senseurs. Des applications en terme de procédés de dépollution des sols et de traitements d'éventuelles contaminations sont également à l'ordre du jour. Au total, 12 éléments cibles ont donc été définis au sein du programme : tritium, cobalt, nickel, cuivre, zinc, sélénium, cadmium, iode, césium, plomb, uranium et plutonium (*cf.* Figure 1). Tous sont potentiellement toxiques soit chimiquement, soit possèdent des isotopes radioactifs.

Les études réalisées pour évaluer l'impact de ces différents toxiques nécessitent des outils capables de mesurer localement de faibles concentrations en toxiques et de fournir des informations quant à la répartition de ces toxiques dans différents organismes cellulaires. Cependant, les méthodes analytiques satisfaisant à ces exigences n'existent pas toujours et de nouvelles méthodes analytiques performantes et faciles à mettre en œuvre doivent être développées. L'utilisation de la spectroscopie de fluorescence et l'introduction d'un senseur fluorescent organique dans le milieu d'étude constituent alors un choix pertinent en terme de sensibilité, de sélectivité, de coût et bénéficient de la bonne résolution spatiale des techniques d'imagerie de fluorescence. Le processus général d'élaboration de tels senseurs fluorescents peut se résumer en trois étapes successives :

- *concevoir* : faisant appel à la chimie supramoléculaire et à la chimie de coordination, cette démarche d'ingénierie moléculaire a pour but l'optimisation des interactions entre le cation cible et un senseur fluorescent organique. Les contraintes de sélectivité et de sensibilité dans le milieu d'étude et la faisabilité en terme de synthèse doivent être pris en compte.

- *synthétiser* les senseurs fluorescents.
- *étudier* leurs propriétés physicochimiques et photophysiques dans un premier temps dans des milieux modèles puis envisager leur utilisation dans des milieux réels.

Cette démarche a été adoptée pour trois cations cibles dans le cadre du projet Chélation Biologique du programme Toxicologie Nucléaire Environnementale : le plomb (Pb^{2+}), le cadmium (Cd^{2+}) et le césium (Cs^+). La structure du manuscrit est par conséquent divisée en quatre grandes parties : une première partie introductive puis chaque métal étudié fait l'objet d'un chapitre.

Dans le premier chapitre, les propriétés toxicologiques et physicochimiques de chacun des trois cations cibles et les raisons pour lesquelles ils sont étudiés sont rappelées. La notion de *fluoroionophore* en tant que senseur fluorescent sélectif pour la détection de cation est alors introduite et les facteurs rentrant en compte dans la démarche d'ingénierie moléculaire liée à leur conception sont explicités. Enfin, un tour d'horizon des phénomènes photophysiques mis à profit pour la détection de cations métalliques par fluorescence est réalisé.

Le second chapitre est quant à lui consacré à l'étude de fluoroionophores pour la détection sélective du plomb. Une étude bibliographique des fluoroionophores actuellement décrits dans la littérature est réalisée puis l'utilisation de senseurs fluorescents multichromophoriques de type calix[4]arène est envisagée. Pour l'un de ces composés qui avait été préalablement synthétisé et étudié au laboratoire en milieu organo-aqueux, les résultats obtenus dans un milieu compatible avec la biologie cellulaire sont présentés. Les potentialités offertes par les nouveaux calix[4]arènes synthétisés sont également examinées.

Le troisième chapitre regroupe une grande part du travail accompli et concerne la conception, la synthèse et l'étude de nouveaux senseurs fluorescents sélectifs du cadmium. Alors que la toxicité de ce métal est avérée, seuls quelques exemples peu satisfaisants de senseurs fluorescents peuvent être mentionnés. Afin d'expliquer la démarche d'ingénierie moléculaire adoptée, un recensement des différents ionophores sélectifs du cadmium de la littérature est effectué et différents axes de recherche sont explorés : fluoroionophores de type thioamide, pinces complexantes soufrées ou analogues des bipyridines, et sondes commerciales de calcium ayant des potentialités comme sondes de cadmium. Les propriétés photophysiques et complexantes de ces composés sont alors présentées.

Enfin, la conception de fluoroionophores hydrosolubles pour la détection du césium est abordée dans le quatrième chapitre. Après avoir rapporté les récentes avancées concernant les complexants et les senseurs fluorescents de césium en milieu organique ou organo-aqueux, la synthèse d'un nouveau calixarène fluorescent hydrosoluble pour une application en milieu totalement aqueux est présentée. Les résultats obtenus avec le césium pour ce composé en milieu tamponné au pH physiologique sont décrits.

Chapitre 1 : Cations toxiques et fluorescence

I. LES METAUX LOURDS (Pb, Cd ET Cs) DANS L'ENVIRONNEMENT	- 5 -
<i>I.1. Propriétés toxicologiques</i>	- 5 -
I.1.1. Le plomb	- 5 -
I.1.2. Le cadmium.....	- 6 -
I.1.3. Le césium et son isotope radioactif ¹³⁷ Cs	- 7 -
<i>I.2. Détection des métaux lourds</i>	- 9 -
I.2.1. Méthodes atomiques et spectrométrie de masse.....	- 9 -
I.2.2. Détection par électrochimie ou fluorescence	- 10 -
II. INTRODUCTION A LA FLUORESCENCE MOLECULAIRE	- 11 -
<i>II.1. Absorption de la lumière et fluorescence</i>	- 11 -
<i>II.2. Détection de cations par fluorescence : principe du fluoroionophore</i>	- 13 -
III. CONCEPTION DES FLUOROIONOPHORES	- 15 -
<i>III.1. Ingénierie de l'entité complexante : l'ionophore</i>	- 15 -
III.1.1. La théorie HSAB	- 15 -
III.1.2. Complexants des cations cibles	- 16 -
<i>III.2. Phénomènes photoinduits pour la détection de cation</i>	- 19 -
III.2.1. Transfert d'électron photoinduit	- 20 -
III.2.2. Transfert de charge photoinduit.....	- 22 -
III.2.3. Transfert d'énergie	- 24 -
III.2.4. Formation d'excimères	- 25 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 27 -

Chapitre 1 : Cations toxiques et fluorescence

La première partie de ce chapitre introductif sera consacrée à la description des principales caractéristiques toxicologiques des trois cations cibles du programme auxquels nous nous sommes intéressés (plomb, cadmium et césium). Les méthodes de détection actuelles de ces métaux seront également évoquées. Après une brève introduction à la fluorescence moléculaire, le concept de *fluoroionophore* (association d'un fluorophore et d'un ionophore) sera introduit. Les nombreux critères (photophysiques ou relatifs à la chimie de coordination) intervenant dans la conception de tels senseurs seront alors discutés. Finalement, les différentes classes de fluoroionophores existants seront évoquées et illustrées par l'intermédiaire de quelques exemples issus de la littérature.

I. Les métaux lourds (Pb, Cd et Cs) dans l'environnement

I.1. Propriétés toxicologiques

I.1.1. Le plomb

Provenance, caractéristiques et utilisation

Parmi les métaux lourds, le plomb est présent en grande quantité dans la croûte terrestre (13 mg kg⁻¹) essentiellement sous sa forme galène (PbS) et dans une moindre mesure sous forme d'anglésite (PbSO₄) et de cérusite (PbCO₃). Il existe quatre isotopes stables du plomb : ²⁰⁸Pb (51-53 %), ²⁰⁶Pb (23,5-27 %), ²⁰⁷Pb (20,5-23 %), ²⁰⁴Pb (1,35-1,5 %). Si le plomb possède trois degrés d'oxydation distincts (0, +II et +IV), il se trouve majoritairement dans l'environnement sous sa forme Pb(II). Les concentrations usuelles mesurées dans l'environnement sont les suivantes (en absence de source de pollution) : 0,1 ng m⁻³ dans l'air, 1 à 10 µg L⁻¹ dans les eaux de surface, inférieures à 3 µg L⁻¹ dans les eaux de pluies et inférieures à 50 ng L⁻¹ dans les océans.¹

Dans la vie quotidienne, le plomb peut se présenter sous la forme de métal pur, d'alliages métalliques ou bien de substance chimique dérivée (plomb organique par exemple). Ce métal est en effet malléable, facile à usiner, possède une densité élevée et un point de fusion bas (327 °C) et résiste à la corrosion en raison de la formation d'une couche de passivation à sa surface. La principale utilisation du plomb est la fabrication de batteries électriques plomb-acide sulfurique très courantes dans le secteur automobile (représente plus de 80 % de la production totale en plomb). Il est aussi parfois utilisé comme stabilisant pour plastiques (PVC). Quant aux alliages de plomb, ils servent pour la réalisation de soudures, de tuyauteries et d'écrans de protection anti-rayonnement pour l'industrie nucléaire, de munitions, etc. Des pigments à base de plomb sont également utilisés dans la fabrication des verres et de certaines peintures. Face aux effets délétères du plomb et de ses dérivés sur la santé, de nombreuses applications ont dûes être progressivement abandonnées : utilisation du tétraéthyl-plomb comme antidétonnant dans les carburants automobiles, soudures dans les boîtes de conserve, peintures domestiques et canalisations d'eau potable en plomb. Ces utilisations passées, à l'origine d'une dispersion accrue du plomb durant les dernières décennies, représentent à l'heure actuelle un risque important en terme de santé publique.²

Données toxicologiques et réglementaires

La toxicité du plomb est connue depuis de nombreuses années. En effet, le saturnisme (intoxication par le plomb) fut en 1919 parmi les premières maladies à être déclarées maladies professionnelles en France. Même si la toxicité du plomb est de nos jours bien connue, elle continue de faire l'objet de nombreuses études quant à son impact sur le vivant et l'environnement. Ainsi, l'intervention du plomb divalent dans le métabolisme du calcium et du zinc est sans doute à l'origine des nombreux effets délétères observés sur la santé dans la mesure où l'activité biologique des métalloenzymes est alors inhibée.³ Le remplacement du cation Zn²⁺ au cœur de la δ-amino-lévalinate déshydratase, la première enzyme cytosolique impliquée dans la biosynthèse des hèmes, est un exemple classique.^{4,5}

Le plomb se montre particulièrement toxique pour les enfants puisqu'ils l'absorbent et l'accumulent beaucoup plus efficacement que les adultes (50 % du plomb ingéré par un enfant est absorbé contre 10 % chez l'adulte). Une exposition chronique provoque de sérieux dégâts sur le

cerveau, le système nerveux central et les reins, est source d'anémie et de stérilité. Ceci est d'autant plus préoccupant que le plomb est un toxique cumulatif qui se fixe à terme dans le squelette et dont la durée de demi-vie dans l'organisme est de l'ordre de 25 ans. En revanche, le caractère cancérigène du plomb est encore actuellement sujet à discussion.

Devant la toxicité aiguë de ce métal, les recommandations des autorités sanitaires ont été revues fortement à la baisse ces dernières années. Ainsi, l'OMS préconise pour les eaux de boissons une concentration maximale en plomb de $10 \mu\text{g L}^{-1}$.⁶ D'un point de vue légal, la législation actuellement en vigueur en France interdit la consommation d'eaux où la concentration en plomb excède $25 \mu\text{g L}^{-1}$ et une directive de l'Union Européenne prévoit d'abaisser cette valeur à $10 \mu\text{g L}^{-1}$ d'ici 2013.⁷

I.1.2. Le cadmium

Provenance, caractéristiques et utilisation

Le cadmium est contenu dans les sols de l'écorce terrestre à des concentrations comprises entre 0,1 et 1 ppm sous forme de sulfure (CdS) ou de carbonate (CdCO_3) et souvent associé avec des minerais de zinc dont les propriétés physicochimiques sont très proches. L'isotope ^{109}Cd , non présent à l'état naturel, constitue le principal radioélément du cadmium et peut être utilisé comme marqueur en biologie ($T = 463$ jours, $9,6 \times 10^{13} \text{ Bq g}^{-1}$, γ). Les concentrations de cadmium sont inférieures à 5 ng L^{-1} dans les eaux marines et à 1 ng m^{-3} dans l'air. Dans l'environnement, il est présent sous sa forme Cd(II) et forme des complexes avec les chlorures, les carbonates, les citrates, les acides carboxyliques et les protéines (cystéines). Enfin, le cadmium métallique possède une température de vaporisation basse (765°C), ce qui nécessite de prendre en compte sa toxicité par inhalation en particulier dans les fumées de cigarette (une cigarette contient entre 0,1 et $0,3 \mu\text{g}$ de cadmium).⁸

L'utilisation majeure du cadmium dans l'industrie (70 % de la production totale) concerne la fabrication de batteries Ni-Cd. Certains composés contenant du cadmium servent également à la réalisation de pigments pour des verres, des plastiques ou des céramiques ou bien comme additif pour le PVC de manière à améliorer sa résistance à la lumière et à la chaleur. Ses utilisations en tant que revêtement pour l'acier et dans certains alliages sont également à noter. Les principaux rejets atmosphériques de cadmium sont anthropiques et sont liés aux activités industrielles telles que les aciéries, les raffineries, les fonderies, la fabrication de pigments ou l'incinération de déchets. Parfois présent à de fortes concentrations dans les engrais phosphatés, ce mode de dissémination est également à prendre en compte.⁹ Dans les cours d'eau, de fortes concentrations en cadmium sont dues au lessivage de sols contaminés par l'activité humaine, tandis que le réseau de distribution des eaux peut parfois être contaminé en raison des matériaux utilisés pour les tuyauteries.

Données toxicologiques et réglementaires

Le cadmium peut être considéré comme un toxique universel pour les organismes vivants puisque aucun rôle biologique ne lui semble attribué à de rares exceptions près.¹⁰ Possédant des propriétés physicochimiques proches de celles du zinc ou du calcium, il peut se substituer à ces métaux et se fixer sur les métalloprotéines, le glutathion et les protéines affines du calcium (par exemple la calmoduline). Après ingestion, 3 à 7 % du cadmium est absorbé et s'accumule rapidement dans le

rein et le foie où il est stocké pendant une période très longue (15 à 20 ans). Il s'accumule également dans les végétaux tels le riz et le tabac qui sont par la suite consommés par l'homme. Ainsi, une exposition chronique au cadmium provoque de graves dysfonctionnements rénaux et un dérèglement du métabolisme du calcium. Au Japon, plusieurs personnes furent intoxiquées dans les années 50 après avoir ingéré du riz et bu de l'eau contaminés (maladie d'Itaï-Itaï) et ont par la suite présenté des troubles rénaux mortels. Par ailleurs, des études ont montré une augmentation des risques de développer certaines formes de cancers^{11,12} même si le caractère cancérigène du cadmium est encore sujet à discussion.

Dans la mesure où le cadmium est un toxique cumulatif, les valeurs réglementaires ont été fixées à $0,05 \text{ mg m}^{-3}$ dans l'air pour la valeur maximale d'exposition (VME) et à $5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ dans les eaux de boisson.⁷ L'OMS recommande même que cette concentration maximale soit abaissée à $3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.⁶

I.1.3. Le césium et son isotope radioactif ^{137}Cs

Provenance, caractéristiques et utilisation

Le césium est un élément présent naturellement dans la croûte terrestre à l'état de traces (de 1 à 5 ppm suivant les roches) et dont la concentration est comprise entre $0,3$ à $0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ dans les océans et entre $0,004$ à $0,2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ dans les eaux douces.¹³ Du point de vue de ses caractéristiques physicochimiques, le césium appartient à la classe des métaux alcalins tels que le sodium et le potassium dont c'est un analogue chimique. Il se trouve uniquement au degré d'oxydation +I (sous forme oxyde Cs_2O à l'état solide ou sous forme Cs^+ dissoute en milieu aqueux par exemple) et possède 31 isotopes dont la masse varie de 114 à 145. Seul l'isotope 133 est stable, l'isotope radioactif le plus important étant celui de masse 137. En effet, l'isotope ^{137}Cs est un puissant émetteur β^- dont la période de décroissance radioactive est de 30 ans ($3,2 \times 10^{12} \text{ Bq g}^{-1}$). Il donne majoritairement naissance au $^{137\text{m}}\text{Ba}$ qui se transforme alors rapidement en l'isotope 137 stable du baryum en émettant un rayonnement γ ($T = 2,55$ minutes).¹⁴ Une désintégration β^- sans émission de rayonnement γ est également possible (cf. Figure 1-1).

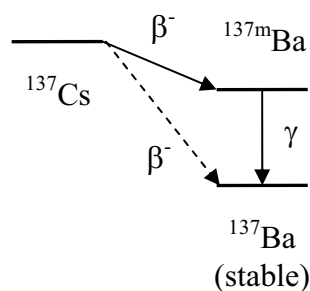


Figure 1-1. Schéma de désintégration radioactive du ^{137}Cs .

En ce qui concerne l'isotope ^{137}Cs radioactif, il n'existe pas à l'état naturel et n'est présent dans l'environnement qu'en raison des essais nucléaires atmosphériques réalisés entre 1945 et 1980 et des rejets des installations nucléaires : accidentels (par exemple à Tchernobyl en 1986 ou à Goiânia en 1987) ou bien dans le cadre de leur fonctionnement normal. Après 40 mois d'utilisation,

le combustible nucléaire d'une centrale de 1300 MWe renferme en effet 3×10^{17} Bq de ^{137}Cs dont l'immense partie est extraite et stockée en tant que déchet, mais dont une faible proportion est rejetée via des effluents liquides ($1,3 \times 10^8$ Bq). De nombreuses recherches sont d'ailleurs menées pour améliorer l'extraction sélective du ^{137}Cs lors du retraitement du combustible irradié et des déchets nucléaires. Le césium 137 peut également être utilisé de manière bénéfique comme source scellée de rayonnement ionisant avec de possibles applications en médecine (radiothérapie) et dans l'industrie (gammagraphie, stérilisation, etc.). En revanche, les utilisations du césium non radioactif sont peu nombreuses. Il peut être employé dans les tubes à vide comme piège à gaz résiduels ou revêtement pour filaments de tungstène ou cathodes. Il constitue également sous sa forme CsI ou CsF l'élément de base des détecteurs de rayons γ et les sels de césium remplacent parfois les sels de sodium ou de potassium utilisés comme catalyseurs en chimie organique. Enfin, l'isotope 133 du césium permet l'obtention d'horloges atomiques et sert notamment à la définition universelle de la seconde.

Données toxicologiques et réglementaires

Possédant des caractéristiques physicochimiques proches du potassium, le césium se distribue dans l'organisme comme son homologue et compétiteur naturel, à savoir de manière homogène dans tout l'organisme en se concentrant préférentiellement dans les tissus mous (muscles). Il est majoritairement excrété par voie urinaire et la période biologique du césium est d'environ 110 jours chez l'homme adulte.¹⁵ Ainsi, la CIPR (Commission Internationale pour la Protection Radiologique) estime à environ 10 μg la masse de césium stable présente chez un adulte, ce qui représente une quantité beaucoup plus faible que les 120 g de potassium contenus en moyenne dans le corps humain. La toxicité chimique du césium est donc insignifiante et seule la radiotoxicité des isotopes radioactifs du césium (le ^{137}Cs en tête) est problématique. D'autant plus que certains végétaux (les champignons notamment) sont capables de bio-accumuler d'importantes quantités de césium radioactif lorsqu'ils poussent sur des sols contaminés.¹⁶ Ingérés de manière chronique, ces aliments représentent alors des risques importants en terme de santé publique puisque le césium est rapidement et facilement assimilé par l'homme. En tant qu'émetteur β^- , son caractère potentiellement cancérigène ne peut être négligé. Les normes actuellement en vigueur sur les produits alimentaires destinés à la consommation sont résumées dans le Tableau 1-1. Ces précautions sont d'autant plus importantes que le ^{137}Cs disséminé sur l'Europe par le nuage de Tchernobyl risque de continuer à polluer la chaîne alimentaire pendant plusieurs décennies dans les régions les plus touchées.¹⁷

Denrée alimentaire	Aliments pour le nourrisson	Produits laitiers	Autres denrées alimentaires	Liquides destinés à la consommation
Activité (Bq kg⁻¹)	< 400	< 1000	< 1250	< 1000

Tableau 1-1. Normes en vigueur concernant l'activité du ^{137}Cs pour la commercialisation de denrées alimentaires au sein de l'Union Européenne.

I.2. Détection des métaux lourds

I.2.1. Méthodes atomiques et spectrométrie de masse

De nombreuses méthodes ont été décrites dans la littérature pour la détection des trois toxiques mentionnés précédemment aussi bien dans des échantillons biologiques (urine, sang, fecès) que dans les eaux de consommation. En particulier, les méthodes de spectrométrie atomique et de masse permettent d'atteindre de très faibles limites de détection, compatibles avec les normes sanitaires actuelles concernant ces toxiques.

Ainsi, il existe trois méthodes principales pour l'analyse des métaux lourds en fonction de la concentration attendue et des limites de détection souhaitées :

- Spectroscopie d'absorption atomique (AAS)¹⁸ : l'échantillon à analyser est chauffé soit par une flamme (F-AAS), soit dans un four en graphite (GF-AAS) jusqu'à provoquer l'atomisation de l'échantillon. A l'état fondamental, les atomes vaporisés absorbent alors la lumière émise par une lampe à des longueurs d'onde caractéristiques de l'élément à analyser. L'intensité de la lumière transmise est mesurée par un détecteur et permet de remonter à la concentration du métal initialement présent dans l'échantillon. La seconde méthode, aussi appelée spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique (E-AAS) permet une atomisation optimale, des limites de détection faibles et peut être compatible avec des échantillons solides. Elle est en revanche plus onéreuse.

- Spectroscopie d'émission atomique (AES)¹⁹ : cette méthode consiste à mesurer l'intensité du rayonnement émis par un élément à une longueur d'onde caractéristique après atomisation de l'échantillon. Généralement, l'étape d'atomisation est réalisée au sein d'un plasma d'argon. On parle alors d'ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy). Si les limites de détection de tels systèmes sont intéressantes et que la détection simultanée de plusieurs éléments est possible, le coût de l'appareillage reste important.

- Spectrométrie de masse couplée à une torche à plasma (ICP-MS)²⁰ : cette méthode non spectroscopique utilise un plasma pour atomiser l'échantillon qui est ensuite analysé par spectrométrie de masse. Les rapports m/z sont alors caractéristiques de l'élément à analyser. Cette méthode est la plus sensible mais représente un investissement financier important.

Concernant les trois toxiques étudiés (Pb, Cd et Cs), l'ordre de grandeur des limites de détection de ces cations en milieu aqueux est reporté dans le Tableau 1-2 en fonction de la méthode utilisée.

	Pb	Cd	Cs
GF-AAS	2	0,3	1
ICP-AES	10	10	0,01
ICP-MS	0,1	-	0,01

Tableau 1-2. Ordre de grandeur des limites de détection en $\mu\text{g L}^{-1}$ pour la détection de métaux lourds dans l'eau.

A noter que les valeurs données pour le césium sont relatives à la détection du césium stable et que les méthodes de détection du césium radioactif (par spectrométrie γ par exemple) ne sont pas

mentionnées. De plus, des étapes préliminaires de séparation (chromatographie) ou de pré-concentration peuvent permettre l'obtention de limites de détection encore plus faibles.

I.2.2. Détection par électrochimie ou fluorescence

Par l'intermédiaire d'électrodes sélectives (ISE), les méthodes électrochimiques de détection de cations permettent généralement d'atteindre des limites de détection sub-micromolaires et une très bonne sélectivité peut être obtenue suivant la conception de l'électrode. Les mesures sont réalisées rapidement, à faible coût et sur de petits volumes. Néanmoins, une calibration préalable reste nécessaire, tout comme l'utilisation d'une électrode de référence et des variations du champ électromagnétique sont également susceptibles de modifier la réponse de l'électrode. De plus, ces méthodes électrochimiques ne permettent pas d'effectuer des mesures d'imagerie, ce qui est un handicap important pour des applications en milieu hétérogène comme peut l'être le milieu cellulaire.

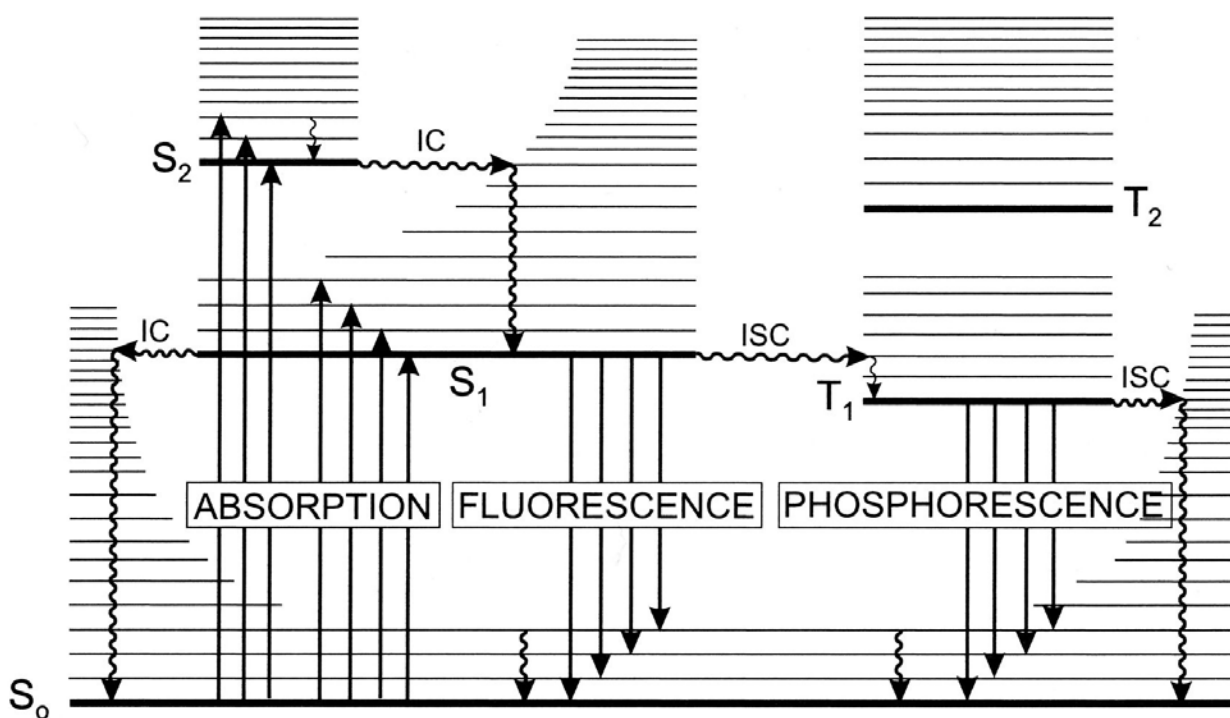
Bien que peu répandue actuellement, l'utilisation de senseurs basés sur la fluorescence moléculaire pour la détection de métaux lourds ou de cations offre également de nombreux avantages. Certes, la spectroscopie de fluorescence souffre parfois de la stabilité chimique et photochimique limitée de certains fluorophores organiques, mais cette technique, peu onéreuse à l'usage, demande un faible investissement financier au niveau de l'appareillage contrairement aux autres méthodes décrites précédemment. De plus, combinée avec un travail d'ingénierie moléculaire approprié, elle permet aussi bien d'atteindre des limites de détection de l'ordre du nM que de mesurer des concentrations millimolaires. La mesure s'effectue rapidement, sur de faibles volumes et peut être réalisée en présence d'autres espèces chimiques de manière sélective. La réalisation de systèmes portatifs de type optode^{21,22} (système utilisant une fibre optique pour le transport de l'information lumineuse) est également possible, permettant ainsi la réalisation de mesures directes sur le lieu de prélèvement des échantillons.

Mais surtout, à l'inverse des méthodes atomiques et de spectrométrie de masse précédemment décrites et des méthodes électrochimiques, un des principaux avantages de la fluorescence réside essentiellement dans la possibilité de réaliser de l'imagerie sous microscope. Avec une résolution spatiale de l'ordre de quelques centaines de nanomètres, l'observation de phénomènes à l'échelle subcellulaire est particulièrement intéressante pour les biologistes et l'accès aux concentrations locales d'un toxique au sein d'une cellule est susceptible d'apporter de nombreux renseignements sur les mécanismes d'action de ce toxique. Enfin, la résolution temporelle de l'ordre de la milliseconde des détecteurs utilisés en microscopie permet également d'envisager le suivi de processus biologiques au cours du temps.

II. Introduction à la fluorescence moléculaire

II.1. Absorption de la lumière et fluorescence

Le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure 1-2)²³ permet la visualisation de l'ensemble des processus possibles lors de l'excitation d'une molécule isolée (c'est-à-dire sans interaction avec le solvant) à partir de son état fondamental électronique S_0 : absorption du photon d'excitation, conversion interne, relaxation vibrationnelle, fluorescence, croisement intersystème et phosphorescence. Des niveaux vibrationnels sont associés à chaque état électronique (états singulets $S_0, S_1, S_2 \dots$ et états triplets $T_1, T_2 \dots$).



Temps caractéristiques :

Absorption : 10^{-15} s

Fluorescence : 10^{-10} - 10^{-7} s

Croisement intersystème (ISC) : 10^{-10} - 10^{-8} s

Relaxation vibrationnelle : 10^{-12} - 10^{-10} s

Conversion interne (IC) : 10^{-11} - 10^{-9} s

Phosphorescence : 10^{-6} -1 s

Figure 1-2. Diagramme de Perrin-Jablonski (d'après référence 23).

L'absorption est un phénomène très rapide au regard des autres processus de la Figure 1-2 : le principe de Franck-Condon stipule que ce laps de temps très court d'environ 10^{-15} s, pendant lequel les électrons sont redistribués, ne permet pas aux noyaux de se déplacer. En solution, l'absorption de la lumière se traduit par une décroissance exponentielle du faisceau incident, selon la loi de Beer-Lambert :

$$A(\lambda) = \log \frac{I_0}{I_t} = \varepsilon(\lambda) \cdot l \cdot C \quad \text{eq. 1-1}$$

où $A(\lambda)$ est l'absorbance à la longueur d'onde λ , I_0 l'intensité du faisceau incident, I_t l'intensité du faisceau transmis, l le chemin optique, $\varepsilon(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde λ et C la concentration en chromophore.

La *fluorescence*, pour les espèces dont la liberté vibrationnelle est réduite, est un processus de désexcitation radiative, en compétition avec la désexcitation non radiative par conversion interne et relaxation vibrationnelle, qui intervient à partir du premier niveau vibrationnel du premier état excité S_1 de la molécule. Par conséquent, ses caractéristiques ne dépendent pas de la longueur d'onde d'excitation. Le déplacement spectral de la fluorescence vers les plus grandes longueurs d'onde par rapport au spectre d'absorption est couramment appelé *déplacement de Stokes*. Ce dernier dépend fortement du solvant utilisé.

Dans le cas le plus simple d'une solution contenant une espèce fluorescente A excitée par un pulse lumineux très court à $t = 0$, une certaine proportion de ces molécules est amenée dans l'état excité S_1 . La cinétique de désexcitation suit alors la loi suivante :

$$-\frac{d[{}^1A^*]}{dt} = (k_r^S + k_{nr}^S)[{}^1A^*] \quad \text{eq. 1-2}$$

où $[{}^1A^*]$ représente la population de molécules A à l'état excité S_1 , k_r^S la constante de vitesse de désexcitation radiative et k_{nr}^S la constante de vitesse globale de désexcitation non radiative (somme des constantes de vitesse de conversion interne $S_1 \rightarrow S_0$ et de croisement inter-système k_{ic}^S et k_{isc}^S). L'intensité de fluorescence mesurée à l'instant t étant proportionnelle à la proportion de molécules à l'état excité, la résolution de cette équation différentielle implique une décroissance exponentielle de l'intensité de fluorescence caractérisée par la *durée de vie* de l'état excité τ_S correspondant au temps d'occupation moyen de l'état excité S_1 peut être définie :

$$i_F(t) = k_r^S [{}^1A^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right) \quad \text{eq. 1-3}$$

$$\text{avec} \quad \tau_S = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S} \quad \text{eq. 1-4}$$

Le *rendement quantique de fluorescence* Φ_F est défini comme le rapport du nombre de photons émis par fluorescence sur le nombre de photons absorbés. Le rendement quantique d'un composé est mesuré par rapport à une référence dont le rendement quantique est connu (*cf.* partie expérimentale). La *brillance* B_S est définie comme le produit du coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde d'excitation et du rendement quantique de fluorescence ($B_S = \varepsilon \times \Phi_F$). Plus elle est élevée, plus le nombre de photons émis est grand et facile à détecter. Typiquement, une valeur supérieure à $30000 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ est idéale pour des applications en biologie.

Connaissant les valeurs de Φ_F et de la durée de vie τ_S , les valeurs des différentes constantes de vitesse k_r^S et k_{nr}^S peuvent être calculées via les relations suivantes :

$$k_r^S = \frac{\Phi_F}{\tau_S} \quad \text{eq. 1-5}$$

$$k_{nr}^S = \frac{1 - \Phi_F}{\tau_S} \quad \text{eq. 1-6}$$

II.2. Détection de cations par fluorescence : principe du fluoroionophore

Si la spectroscopie de fluorescence est une technique analytique particulièrement sensible (possibilité d'imagerie sur des molécules uniques), il est nécessaire de l'associer à la chimie supramoléculaire pour en faire une méthode de détection efficace et sélective de cations métalliques. Des composés associant une entité de reconnaissance du cation cible (ionophore) à un transducteur optique fluorescent (fluorophore) via un espaceur ou non sont susceptibles de remplir ces critères : ce sont les *fluoroionophores*. S'avérant particulièrement prometteuses, les méthodes de détection basées sur de tels composés ont fait l'objet de nombreuses revues ces dernières années.^{24,25,26,27,28}

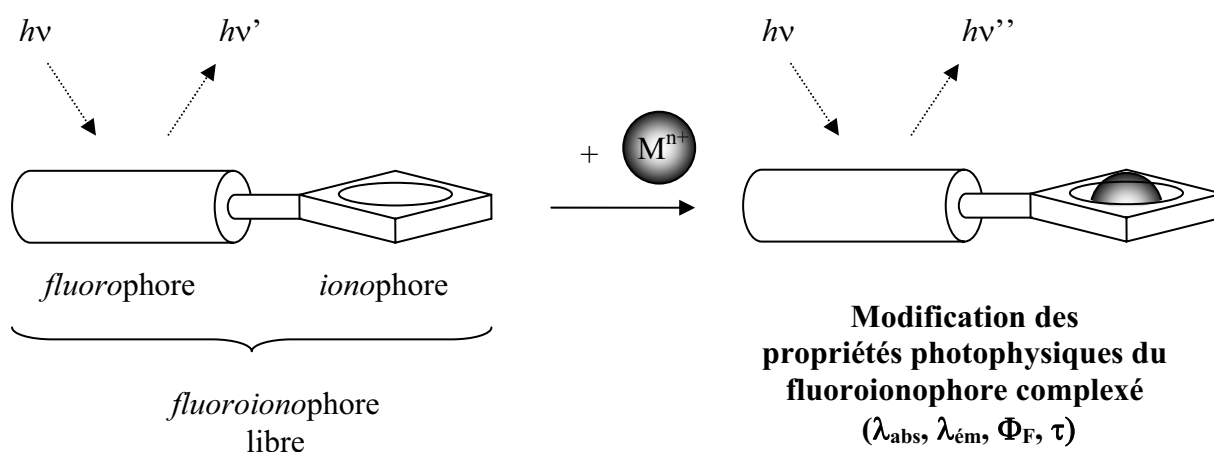


Figure 1-3. Principe de fonctionnement d'un fluoroionophore.

La reconnaissance d'un cation cible est assurée par l'ionophore dont la conception fait appel à la chimie supramoléculaire et à la chimie de coordination. Le choix de cette entité complexante constitue une grande part du travail d'ingénierie moléculaire pour la conception de nouveaux fluoroionophores car celle-ci se doit de posséder une bonne affinité et une bonne sélectivité pour le cation cible. Plus les constantes de stabilité des complexes formés sont élevées, plus il sera aisé de détecter de faibles concentrations en cation.

La présence du cation complexé au sein de l'ionophore peut modifier certaines propriétés photophysiques du fluorophore adjacent. Des déplacements spectraux en émission (et/ou en absorption), des modifications du rendement quantique de fluorescence permettent alors de déterminer la concentration du cation dans le milieu d'étude. Suivant le fluorophore choisi, plusieurs phénomènes photoinduits peuvent être à l'origine des modifications des propriétés photophysiques en présence de cation : transfert d'électron ou de charge photoinduits, formation d'excimères, transfert d'énergie, etc. Ces mécanismes seront détaillés dans le paragraphe suivant. Plus les changements des propriétés photophysiques du fluorophore sont importants en présence de cation, plus la détection est aisée.

Les contraintes liées au milieu dans lequel le cation doit être détecté doivent être prises en compte dans la conception des fluoroionophores. En effet, la nature du solvant (proticité, polarité), le pH du milieu, la force ionique et la présence éventuelle de cations interférents sont autant de

paramètres susceptibles de modifier l'affinité de l'ionophore pour un cation ou les propriétés photophysiques du fluorophore. Ainsi, il existe de nombreux exemples de fluoroionophores fonctionnant en milieu organique polaire (dans l'acétonitrile notamment) mais dont les propriétés complexantes sont dramatiquement diminuées en présence d'eau. De même, l'absence d'effets du pH sur les propriétés complexantes et photophysiques est un avantage. La faible solubilité de certains fluoroionophores organiques en milieu aqueux peut également s'avérer problématique et la fonctionnalisation par des groupements hydrosolubles est parfois indispensable pour une utilisation en milieu aqueux. Enfin, l'autofluorescence des milieux biologiques pour des longueurs d'onde d'excitation inférieures à 400 nm doit être prise en compte. Dans la mesure où des applications en biologie sont l'objectif final, la conception de fluoroionophores efficaces et sélectifs en milieu aqueux, fonctionnant au pH physiologique et excitables dans le visible est donc préférable.

Enfin, il convient de distinguer deux types de sélectivité pour les fluoroionophores : la sélectivité thermodynamique et la sélectivité photophysique. La première est relative à l'entité complexante et dépend de l'ionophore qui complexe plus ou moins efficacement différents cations. La sélectivité photophysique signifie en revanche que les effets photophysiques observés sont caractéristiques d'un cation donné et que l'absence d'effet ne signifie pas toujours que la complexation n'a pas lieu. La sélectivité effective d'un fluoroionophore est la résultante de ces deux sélectivités. L'importance de chaque composante peut être évaluée via des expériences de compétitivité.

III. Conception des fluoroionophores

L'objectif de ce paragraphe est de présenter les différents paramètres à prendre en compte pour la conception de nouveaux fluoroionophores pour la détection de cations métalliques. La première partie sera donc consacrée à l'optimisation de la partie ionophore, puis les différents types de fluoroionophores et les phénomènes photophysiques mis en jeu dans chaque cas seront décrits en se basant sur des exemples classiques issus de la littérature.

III.1. Ingénierie de l'entité complexante : l'ionophore

Comme son nom l'indique, l'ionophore (littéralement « qui porte l'ion ») désigne une molécule capable de complexer un ion. Afin que cette complexation soit optimale en terme d'affinité et de sélectivité pour un cation donné, les atomes de la première sphère de coordination du cation métallique et la géométrie du ligand doivent être choisis suivant les principes généraux de la chimie de coordination.

III.1.1. La théorie HSAB

Introduite dans les années 1960 par Pearson, la théorie HSAB (Hard and Soft Acids and Bases) a pour but d'interpréter une grande part des interactions entre espèces chimiques par des interactions de type acido-basique. Sur la base de résultats expérimentaux, le concept de *dureté* et *mollesse* a alors été introduit et les acides et les bases de Lewis ont été classés en deux catégories : dur ou mou. Ainsi, les acides *durs* comportent généralement des atomes accepteurs de petite taille, hautement chargés et ne possédant pas de doublets non liants sur leur couche de valence. Les acides *mous* possèdent des atomes accepteurs peu chargés et de grande taille, facilement polarisables et peu électronégatifs. Les atomes donneurs des bases *dures* se caractérisent par une électronégativité forte, une faible polarisabilité et sont difficiles à oxyder. Une base avec des atomes donneurs présentant des propriétés inverses est dite *molle*. Il découle de ces définitions opérationnelles le principe suivant : les interactions acido-basiques dur-dur et mou-mou sont favorisées au détriment des interactions dur-mou.²⁹ Les acides durs auront alors plus d'affinité pour des atomes donneurs durs tels que l'oxygène et dans une moindre mesure l'azote. Inversement, les acides mous interagiront préférentiellement avec des bases soufrées ou phosphorées molles.

	Durs	Intermédiaires	Mous
Acides de Lewis	H ⁺ , Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Cs ⁺ , Be ²⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Sn ²⁺ , Al ³⁺ , Cr ³⁺ , Fe ³⁺ , Ti ⁴⁺ , Pu ⁴⁺ , UO ₂ ²⁺ , Ln ³⁺	Fe ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	Cu ⁺ , Ag ⁺ , Au ⁺ , Hg ₂ ²⁺ , Pd ²⁺ , Cd ²⁺ , Pt ²⁺ , Hg ²⁺
Bases de Lewis*	H ₂ O, OH ⁻ , F ⁻ , AcO ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ , ROH, RO ⁻ , R ₂ O, NH ₃ , RNH ₂	C ₆ H ₅ NH ₂ , C ₅ H ₅ N, N ₃ ⁻ , Br ⁻ , SO ₃ ²⁻	R ₂ S, RSH, RS ⁻ , I ⁻ , SCN ⁻ , R ₃ P, S ₂ O ₃ ²⁻ , CN ⁻ , CO, H ⁻ , R ⁻ , C ₂ H ₄ , C ₆ H ₆

* R = alkyle ou aryle

Tableau 1-3. Classification des acides et bases de Lewis suivant Pearson.³⁰

Bien que le concept de dureté ait été introduit dans un premier temps de manière uniquement qualitative sur la base de résultats expérimentaux, Pearson a par la suite tenté de définir une échelle de dureté absolue en fonction des potentiels d'ionisation et des affinités électroniques des composés

étudiés.³¹ Si l'échelle de dureté obtenue ne permet pas de couvrir l'ensemble des résultats expérimentaux, elle demeure très intéressante pour comparer deux acides de Lewis entre eux, en particulier pour les trois cations étudiés (Pb^{2+} , Cd^{2+} et Cs^+). Ainsi, le caractère intermédiaire du cation Pb^{2+} doit être souligné. Le choix des atomes complexants pour ce cation est donc particulièrement vaste.³² Le cation Cd^{2+} est quant à lui plus mou que le plomb et surtout plus mou que Zn^{2+} dont c'est un analogue chimique. La mise en oeuvre d'atomes complexants mous (soufre) pour la complexation sélective de ce cation paraît donc appropriée. Enfin, le cation Cs^+ possède un rayon ionique élevé, une faible électronégativité, est facilement polarisable et pourrait par conséquent être considéré comme un cation mou dans la classification dressée par Pearson. Cependant, la plupart des ligands du césium décrits dans la littérature (*cf.* chapitre 4) sont à base de fonctions polyéthers. Expérimentalement, Cs^+ se comporte donc davantage comme un cation dur et les atomes d'oxygène sont les meilleurs candidats pour la complexation du césium. Il demeure en revanche plus mou que les autres cations alcalins Na^+ et K^+ .

III.1.2. Complexants des cations cibles

Une fois les fonctions complexantes déterminées suivant leur affinité pour le cation cible, leur organisation dans l'espace doit être optimisée de manière à ce que la complexation soit la plus efficace possible. La chimie de coordination des cations cibles ainsi que les structures moléculaires des ligands utilisés jouent alors un rôle essentiel.

Chimie de coordination des cations cibles

Chaque cation possède une chimie de coordination particulière et la conception d'ionophores sensibles et sélectifs doit être en accord avec celle-ci. Ainsi, chaque cation possède un rayon ionique différent dont la valeur (qui dépend du nombre de coordination du cation) doit permettre de juger de la distance devant séparer deux groupements complexants. Un nombre de coordination privilégié peut également être défini après analyse des structures cristallographiques décrites dans la littérature pour les complexes stables de ce cation.³³ Les coordinences privilégiées des trois cations cibles et leur rayon ionique sont reportés dans le Tableau 1-4.

	Configuration électronique	Rayon ionique (Å)*	Coordinence
Pb^{2+}	$[\text{Xe}] 4f^{14}5d^{10}6s^2$	1,19	2 → 10
Cd^{2+}	$[\text{Kr}] 5s^04d^{10}$	0,95	4 → 6
Cs^+	$[\text{Xe}] 6s^0$	1,67	6 → 8

* pour une coordinence égale à 6

Tableau 1-4. Caractéristiques des cations cibles.

Le cas du plomb au degré d'oxydation +II mérite que l'on s'y attarde car il possède une chimie de coordination extrêmement complexe comme l'atteste le grand nombre de coordinences qu'il peut adopter dans ses complexes (de 2 à 10). Ainsi, Pb^{2+} possède deux électrons 6s sur sa couche de valence et un effet de *paire inerte* peut être observé pour ce cation. Cet effet se caractérise par une résistance de la paire d'électrons 6s à être arrachée, à participer à des liaisons covalentes ou à former des liaisons hydrogènes. Alors que l'énergie nécessaire pour interagir avec ce doublet non liant est très élevée, les orbitales d et f sont déstabilisées et s'étendent radialement. Il

en résulte une paire d'électrons de valence stable et relativement inerte, responsable d'une répartition non sphérique des électrons autour du cation Pb^{2+} .³⁴

Comme le montre la Figure 1-4, cette paire d'électrons peut être activée stéréochimiquement dans certains complexes de plomb si bien que les atomes donneurs des ligands alentour se répartissent seulement dans un hémisphère (sphère de coordination hémidirigée), le second hémisphère étant encombré par le doublet non liant. Dans ce cas, le cation Pb^{2+} se comporte comme un cation de taille plus petite et les constantes de complexation des complexes sont fortement augmentées. La présence dans la sphère de coordination d'au moins trois atomes d'azote favorise cette activation stéréochimique de la paire inerte du plomb si bien que les ligands azotés possèdent une excellente affinité pour le plomb.³⁵

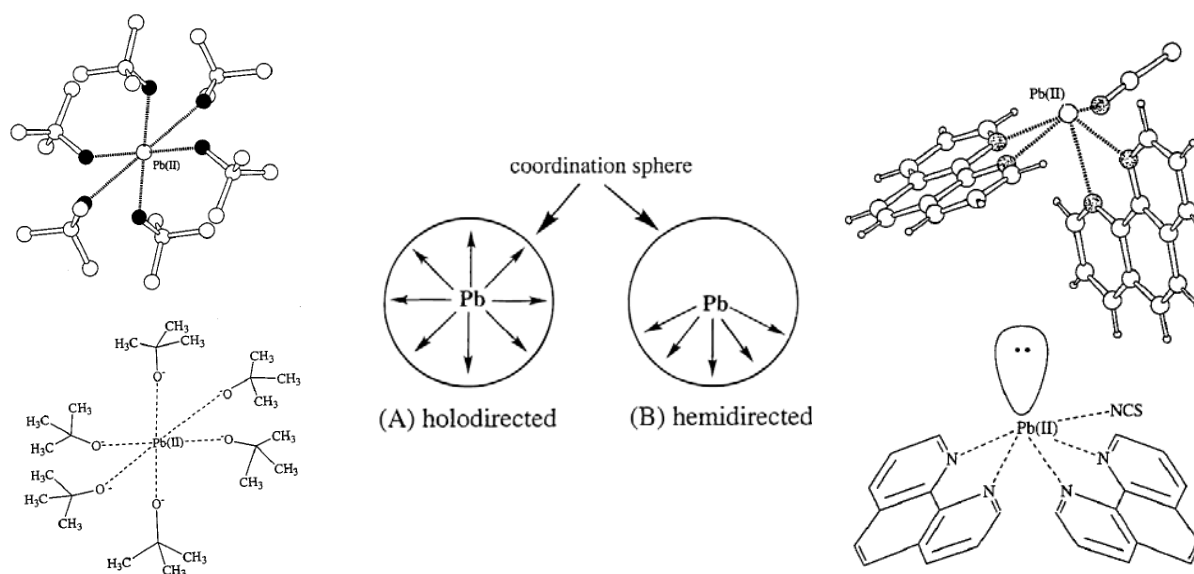


Figure 1-4. Principe de l'activation stéréochimique de la paire inerte du plomb (d'après la référence 34).

Structure des ligands (chélatants, macrocycles)

Certains ligands présentent plusieurs fonctions complexantes reliées entre elles de manière covalente et susceptibles de se lier à un cation métallique. Comparativement à leurs analogues monodentes, ces ligands dits chélatants ou polydentes forment des complexes plus stables. Cet effet stabilisateur (*effet chélate*) est généralement dû à un effet entropique. En effet, si l'on considère le mouvement d'une des fonctions complexantes d'un ligand polydente, celui-ci s'effectue dans un volume restreint et non pas dans toute la solution puisque au moins une des fonctions complexantes reste dans la sphère de coordination. De manière générale, la formation d'un cycle chélatant à cinq atomes (pour lequel la répulsion entre les atomes donneurs est minimale) est privilégiée pour les cations volumineux, tandis que des cycles à six atomes sont envisageables pour les cations plus petits.³⁶

L'utilisation de ligands macrocycliques mène également à la formation de complexes particulièrement stables. Comme le montre l'exemple de la Figure 1-5, les lanthanides forment des complexes plus stables avec les éthers couronnes qu'avec leurs analogues linéaires alors qu'ils possèdent des structures cristallographiques voisines. L'origine de cet *effet macrocyclique* est majoritairement entropique puisque le ligand linéaire doit modifier considérablement sa

conformation pour se rapprocher de celle du macrocyclole lors de la complexation. La correspondance entre la taille du macrocyclole (si tant est qu'elle soit définissable puisque les macrocycloles sont très flexibles) et celle du cation hôte joue un rôle important mais n'est pas un critère suffisant pour expliquer la stabilité de certains complexes macrocycloles.



Figure 1-5. Illustration de l'effet macrocyclole par les constantes de stabilité des complexes de La^{3+} dans le carbonate de propylène à 25°C.

Ces deux effets (chélate et macrocyclole) mettent en évidence l'importance de la préorganisation des sites de complexation du ligand pour l'obtention de complexes stables. L'exemple des cryptands (ligands macropolycycloles capables « d'encapsuler » un cation) montre que des complexes très stables peuvent être obtenus avec ces ligands totalement préorganisés. En revanche, leur synthèse est difficile et leur structure étant particulièrement rigide, les cinétiques de complexation sont souvent lentes.

Il apparaît alors que la fixation de groupements chélatants flexibles sur une structure préorganisée constitue une alternative judicieuse pour l'obtention d'ionophores de cations métalliques. En particulier, les composés incorporant des fonctions complexantes greffées sur une architecture supramoléculaire macrocyclole de type calixarène ont fait l'objet de nombreuses études.³⁷

Les calixarènes pour la complexation de cations

Les calixarènes sont des macrocycloles formés de n unités phénoliques ($n = 4-20$) reliées entre elles par des ponts méthylènes sur les positions *ortho* des cycles phénols.^{38,39} Ils doivent leur nom générique « calixarène » à un vase grec (le calix crater – cf. Figure 1-6) dont la forme rappelle celle de la molécule comportant quatre unités phénoliques, le suffixe arène ayant été ajouté pour signifier la présence de cycles aromatiques. Bien que découverts depuis longtemps, la chimie des calixarènes n'a réellement pris son essor qu'à la suite des travaux de Gutsche qui les a synthétisés en une étape, avec des rendements satisfaisants et un bon contrôle du nombre d'unités phénoliques au sein de la structure macrocyclole.⁴⁰

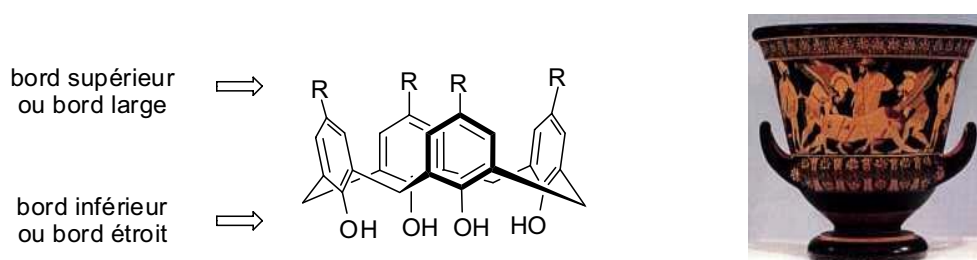


Figure 1-6. Calix[4]arène en conformation cône et photographie du calix crater.

Les calix[4]arènes, c'est-à-dire comportant quatre unités phénoliques, possèdent une taille idéale pour la complexation de cations, comparativement aux calix[6]arènes et calix[8]arènes dont la taille de la cavité est plus grande. Ils peuvent adopter plusieurs conformations différentes (*cf.* Figure 1-7), chacune d'entre elles pouvant être facilement identifiable par RMN ^1H grâce aux signaux caractéristiques des protons des ponts méthylènes. La fonctionnalisation par des groupements encombrants stériquement sur les fonctions phénols ou bien en position *para* des cycles phénols empêche la rotation de ces cycles et permet de figer le calixarène dans une conformation donnée. La conformation des calix[4]arènes est importante car elle influence grandement les propriétés complexantes de ces composés.⁴¹

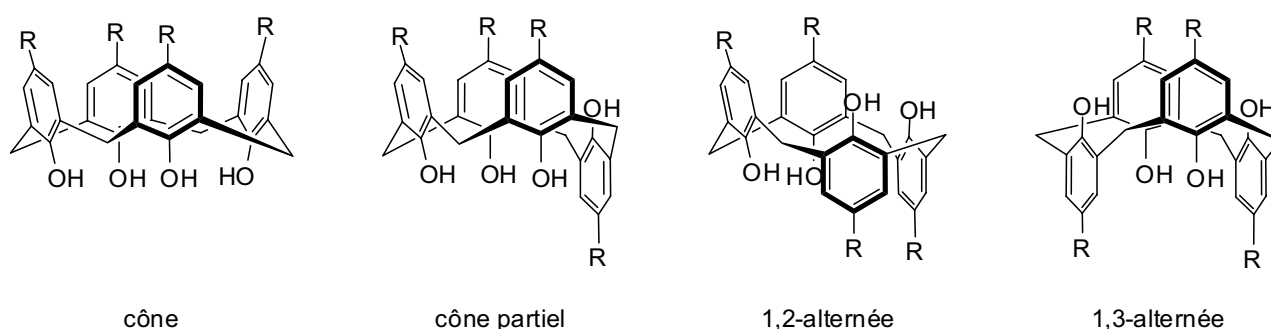


Figure 1-7. Conformations possibles pour les calix[4]arènes.

Ils offrent en outre de multiples possibilités de fonctionnalisation, aussi bien au niveau de leur bord inférieur, que de leur bord supérieur ou des ponts méthylènes.⁴² Le greffage de fonctions complexantes sur les hydroxyles du bord inférieur étant le plus aisé du point de vue de la synthèse, il existe dans la littérature de nombreux exemples de calix[4]arènes fonctionnalisés sur ces positions et qui ont été employés pour la complexation de cations. Suivant les groupes complexants utilisés, une sélectivité envers un cation particulier peut être obtenue. De manière non exhaustive, l'incorporation de fonctions esters, cétones,⁴³ amides⁴⁴ et acides carboxyliques⁴⁵ permet la complexation de métaux alcalins ou alcalino-terreux tandis que des complexants de métaux lourds font appel à des fonctions oxydes de phosphine pour Pb(II) ,⁴⁶ thioéthers ou dithiocarbamates pour Hg(II) ,⁴⁷ etc. Ce type de composés permet l'élaboration de senseurs électrochimiques de cations particulièrement sélectifs,⁴⁸ et lorsqu'ils sont fonctionnalisés par des fluorophores adaptés, permettent la détection de nombreux cations par fluorescence.^{49,50}

Ceci ne représente que quelques références issues de la littérature et les exemples les plus significatifs de ligands calixarènes fluorescents ou non pour les cations cibles étudiés dans ce manuscrit (Pb^{2+} , Cd^{2+} et Cs^+) seront mentionnés dans la partie bibliographique introductive à chaque chapitre.

III.2. Phénomènes photoinduits pour la détection de cation

Une fois la partie ionophore optimisée en terme de sensibilité et de sélectivité pour un cation cible, le choix du fluorophore doit s'effectuer de manière à ce que des modifications spectrales importantes soient observées en présence du cation. De manière générale, la modification de quatre mécanismes photoinduits peut être mise à profit pour la détection de cation par des

fluoroionophores : le transfert d'électron photoinduit (PET = Photoinduced Electron Transfer), le transfert de charge photoinduit (PCT = Photoinduced Charge Transfer), le transfert d'énergie et la formation d'excimère.⁵¹

III.2.1. Transfert d'électron photoinduit

Principe du transfert d'électron

Le transfert d'électron photoinduit est un processus provoquant généralement une inhibition de la fluorescence et jouant un rôle majeur dans la photosynthèse ou dans l'élaboration de cellules photovoltaïques reposant sur le principe d'une séparation de charges photoinduite. En effet, lorsqu'un fluorophore est excité, le saut d'un électron de sa HOMO vers sa LUMO modifie les propriétés oxydo-réductrices du fluorophore et il peut alors se comporter soit comme un donneur d'électron, soit comme un accepteur d'électron. Dans le premier cas, un électron peut être transféré de l'orbitale LUMO du fluorophore excité vers une orbitale vacante basse en énergie d'une espèce pauvre en électron : il s'agit d'un transfert d'électron oxydatif du point de vue du fluorophore. Dans le cas inverse, le fluorophore excité peut être réduit en présence d'une espèce facilement oxydable : on parle alors de transfert d'électron réductif (*cf.* Figure 1-8). Typiquement, les amines tertiaires constituent d'excellents donneurs d'électrons capables de réduire un fluorophore excité.

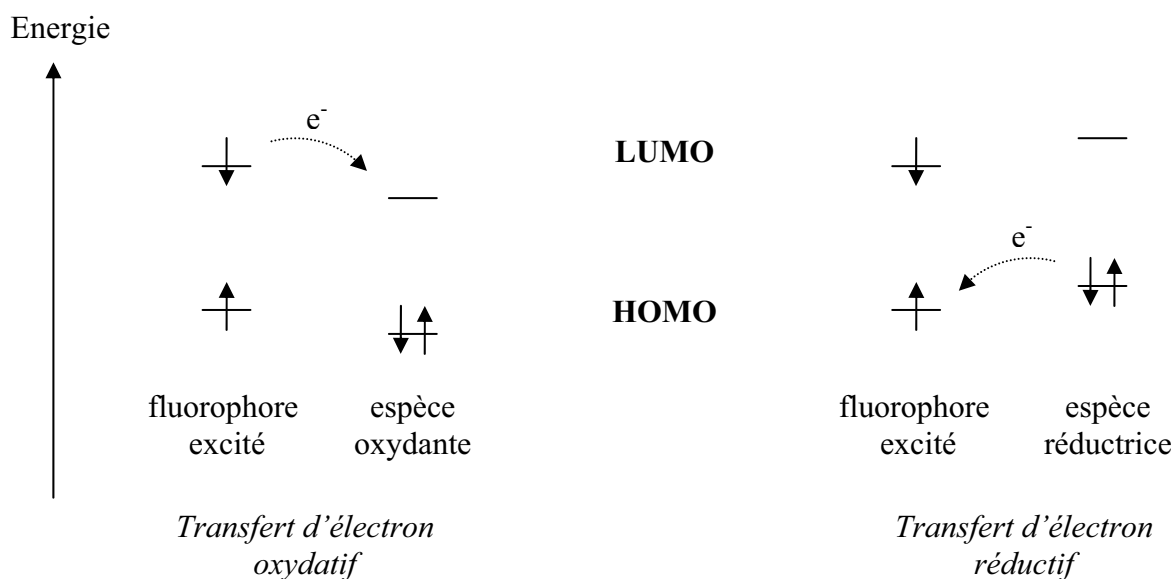


Figure 1-8. Inhibition de fluorescence par transfert d'électron photoinduit (PET) oxydatif ou réductif.

Ce processus de transfert d'électron n'est thermodynamiquement possible que si la variation d'enthalpie libre ΔG^0 liée à cette réaction de transfert est négative. Son calcul peut être réalisé à partir de l'équation de Rhem-Weller ci-dessous :

$$\Delta G^0 = E_{D^{*+}/D}^0 - E_{A/A^{\bullet-}}^0 - \Delta E_{00} - \Delta H_{solv} - \frac{e^2}{4\pi\epsilon r}$$

où ΔG^0 représente l'enthalpie libre standard de la réaction de transfert d'électron, $E_{D^{*+}/D}^0$ le potentiel standard d'oxydation du donneur d'électron, $E_{A/A^{\bullet-}}^0$ le potentiel standard de réduction de l'accepteur

d'électron, ΔE_{00} l'énergie d'excitation du fluorophore (passage à l'état excité), e la charge de l'électron, ε la constante diélectrique du solvant et r la distance entre les ions formés.

D'un point de vue cinétique, ces réactions de transfert d'électron sont généralement très rapides à température ambiante par rapport à la durée de vie de l'état excité et le transfert d'électron est souvent limité par la diffusion.

Application aux fluoroionophores de type PET

Une modification du transfert d'électron photoinduit lors de la complexation peut être mise à profit pour la conception de fluoroionophores. Soit la présence du cation inhibe le transfert d'électron et une augmentation du rendement quantique de fluorescence est observée avec la complexation (interrupteur de type OFF-ON), soit le phénomène inverse a lieu entraînant une inhibition de fluorescence (interrupteur de type ON-OFF). Par exemple, le rendement quantique de fluorescence du composé PET-1 (cf. Figure 1-9) augmente en présence de Pb^{2+} car l'amine tertiaire à laquelle le cation est complexé est appauvrie en électron et le transfert d'électron de l'amine vers le fluorophore excité devient impossible.⁵² Dans le cas du composé PET-2, le transfert d'électron est un transfert d'électron oxydatif mettant en jeu le fluorophore excité et le cation Hg^{2+} . La complexation provoque alors une inhibition de fluorescence.⁵³

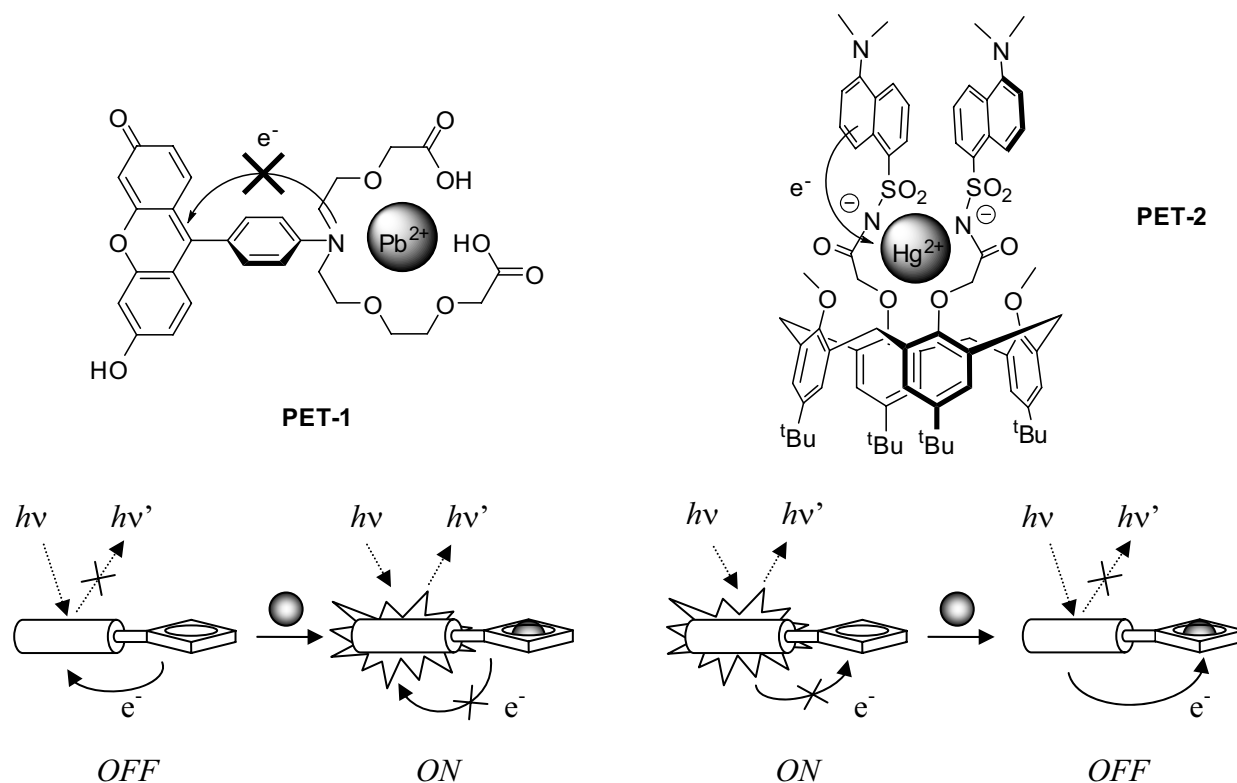


Figure 1-9. Fluoroionophores de type PET OFF-ON (à gauche) et ON-OFF (à droite).

Les fluoroionophores de type OFF-ON sont plus intéressants du point de vue de la détection de cation car il existe de nombreux phénomènes non spécifiques responsables d'une inhibition de fluorescence (collision, effet d'atome lourd). A noter que pour ce type de fluoroionophores, les spectres d'absorption et de fluorescence ne subissent pas ou peu de déplacements spectraux, ce qui exclut la possibilité de mesures ratiométriques.

III.2.2. Transfert de charge photoinduit

Le transfert de charge photoinduit est un phénomène qui intervient pour des fluorophores possédant un groupement électrodonneur (NMe₂, OMe, etc.) conjugué à un groupement électroattracteur (C=O, P=O, CN, etc.). Lors de l'excitation lumineuse, il se produit un transfert de charge photoinduit du groupement donneur vers le groupement accepteur. Celui-ci conduit en règle générale à un état excité dont le moment dipolaire est exalté par rapport à l'état fondamental. Cette exaltation est notamment à l'origine de l'augmentation du déplacement de Stokes avec la polarité du solvant (*solvatochromisme positif*).

Ainsi, dans les solvants polaires, plus le moment dipolaire à l'état excité est élevé, plus cet état est stabilisé et plus les longueurs d'onde d'absorption et d'émission sont décalées vers les basses énergies. La modification des propriétés acceptrices ou électrodonneuses des groupements impliqués dans le transfert de charge photoinduit est donc susceptible de conduire à d'importants déplacements spectraux. L'utilisation de fluorophores à transfert de charge pour la conception de fluoroionophores peut alors être envisagée de deux manières différentes : soit le cation interagit avec le groupement accepteur, soit l'interaction se fait avec le groupement donneur.⁵⁴ Ces deux cas sont illustrés ci-dessous à l'aide de deux exemples caractéristiques (PCT-1 et PCT-2) :

- cation en interaction avec l'accepteur : dans le cas du composé PCT-1, les cations sont complexés au sein de l'aza-couronne et par le groupement carbonyle de la coumarine. Le transfert de charge photoinduit du groupement judolidyle donneur vers la lactone acceptrice est renforcé car le cation appauvrit le groupement accepteur en électrons (*cf.* Figure 1-10). Des déplacements bathochromes en absorption et en émission sont alors observés. Ceux-ci sont d'autant plus importants que la densité de charge du cation complexé est élevée.⁵⁵

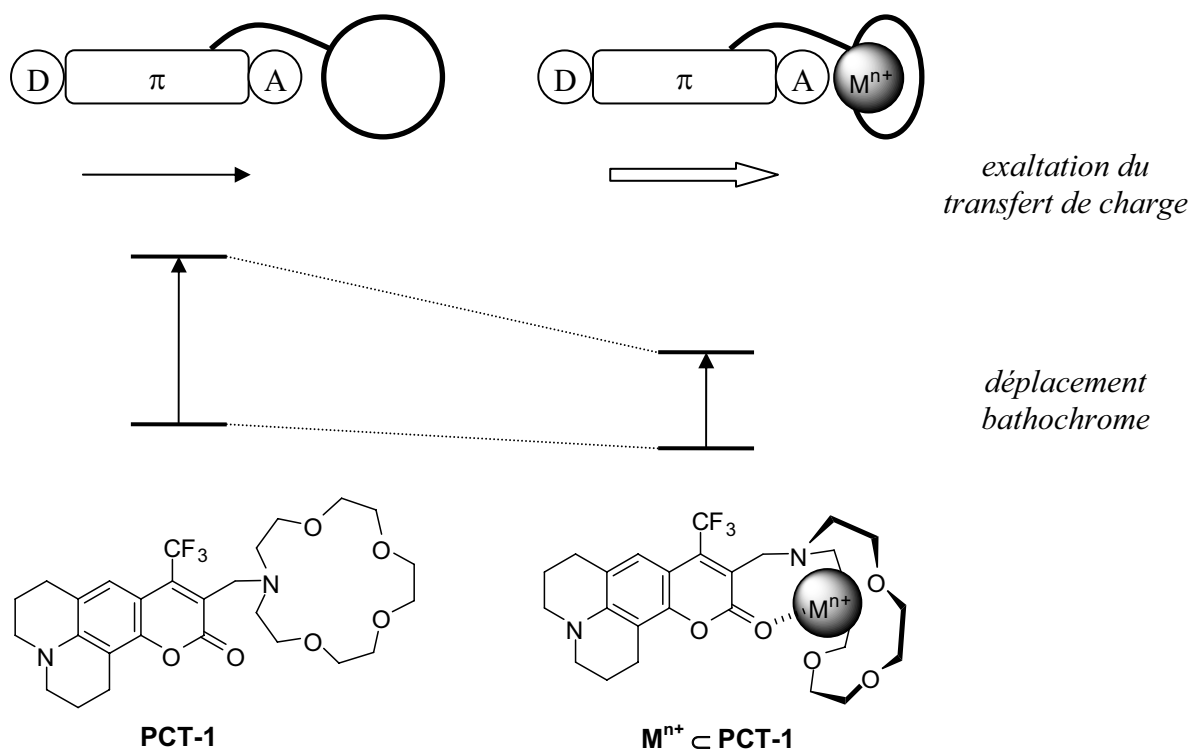


Figure 1-10. Fluoroionophores de type PCT (interaction du cation avec le groupement accepteur).

• cation en interaction avec le donneur : la présence d'une charge positive à proximité du groupement donneur du composé PCT-2 (azote de l'aza-couronne) l'appauvrit en électron. Le transfert de charge photoinduit est donc réduit en présence de cation et les spectres d'absorption et de fluorescence sont décalés vers les courtes longueurs d'onde. Il a de plus été observé que ce déplacement spectral est plus important en absorption qu'en émission.⁵⁶ En effet, si le transfert de charge est suffisamment efficace (comme c'est le cas pour PCT-2), l'atome d'azote peut devenir polarisé négativement si bien que cet atome ne participe plus à la complexation du cation. Le spectre de fluorescence du complexe diffère donc peu de celui du ligand libre. On parle alors de photorupture de l'interaction entre le cation et le donneur. Cette photorupture et la libération réversible du cation Sr^{2+} vers le solvant après l'excitation ont pu être mis en évidence par absorption transitoire picoseconde.⁵⁷

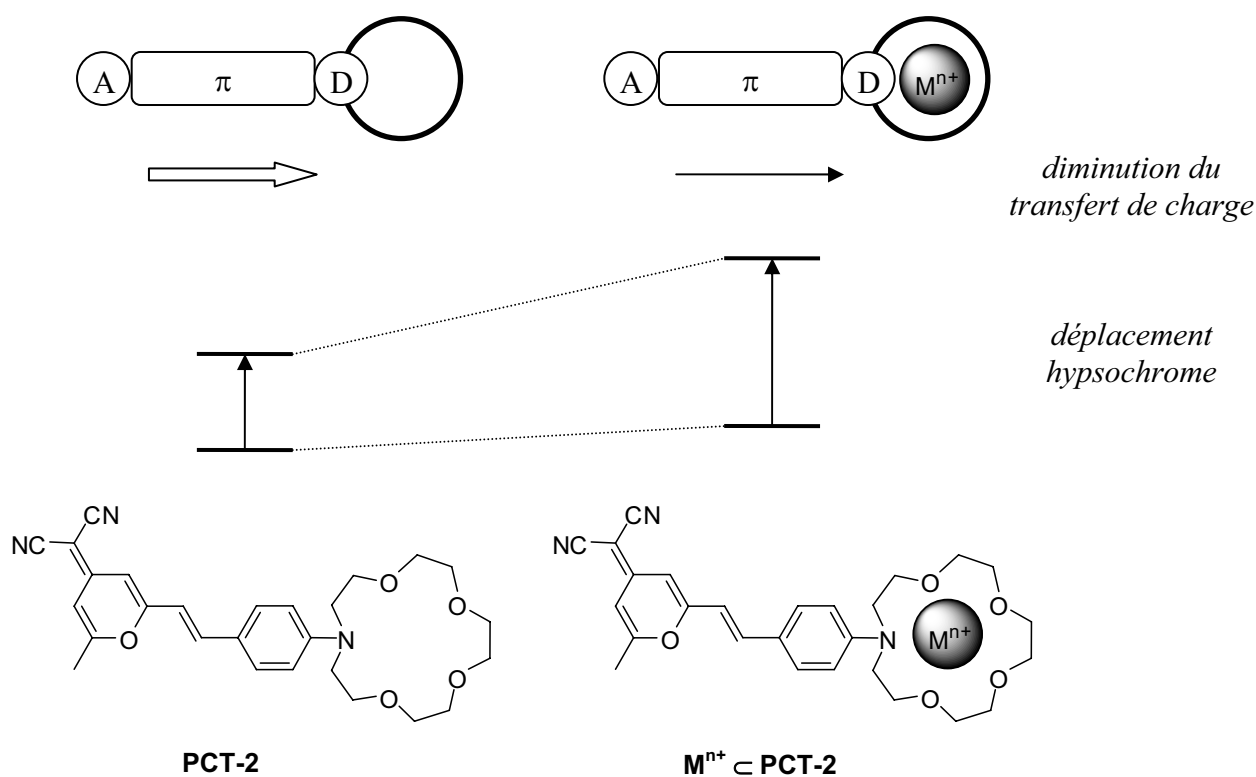


Figure 1-11. Fluoroionophores de type PCT (interaction du cation avec le groupement donneur).

Les fluoroionophores de type PCT sont particulièrement intéressants du point de vue de la détection car les déplacements spectraux induits par la complexation autorisent la réalisation de mesures ratiométriques en émission ou en excitation (c'est-à-dire la mesure du rapport de deux intensités de fluorescence à deux longueurs d'onde d'émission ou d'excitation différentes). Cette mesure est indépendante de la concentration en senseur fluorescent, des variations d'intensité de la source excitatrice, de la sensibilité de l'appareil, du photoblanchiment et des effets de filtre interne. Elle permet alors d'atteindre de meilleures limites de détection.

III.2.3. Transfert d'énergie

Le transfert de l'énergie d'excitation d'un fluorophore 1 (donneur) vers un fluorophore 2 (accepteur) est possible à condition qu'il existe un recouvrement entre le spectre d'émission du donneur et le spectre d'absorption de l'accepteur. Il peut d'effectuer de manière radiative, c'est-à-dire par émission d'un photon par le donneur puis réabsorption de celui-ci par l'accepteur ; ou bien de manière non radiative : on parle alors de transfert d'énergie résonnant. En solution diluée, ce deuxième mécanisme est le plus probable.

Dans le cas d'un transfert d'énergie non radiatif où le couplage entre le donneur et l'accepteur est très faible, deux mécanismes différents (présentés sur la Figure 1-12) peuvent intervenir : un mécanisme d'interaction coulombien dipole-dipole (de type Förster) ou un mécanisme d'échange (de type Dexter).

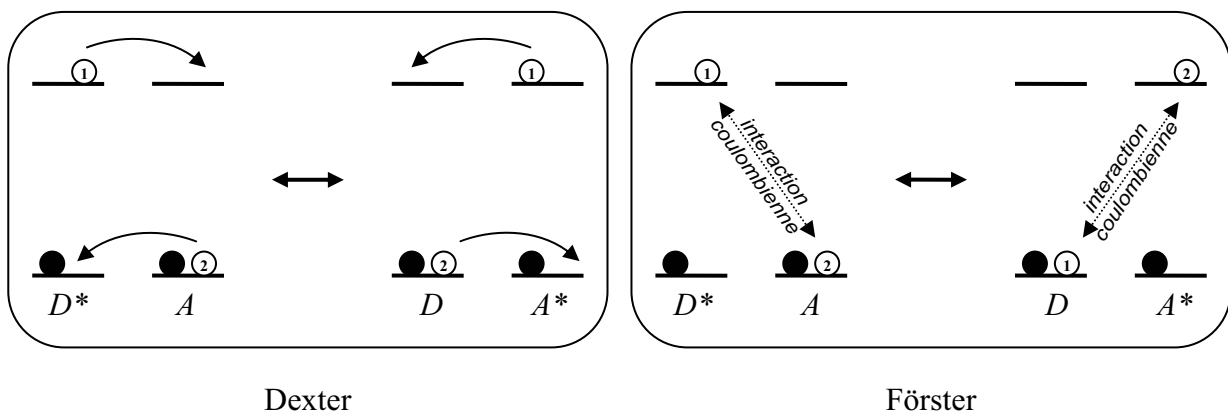


Figure 1-12. Mécanismes de transfert d'énergie résonnant de type Dexter et Förster.

Le transfert d'énergie de type Dexter décroît de manière exponentielle avec la distance entre le donneur et l'accepteur et n'est par conséquent pas observable pour des distances interchromophoriques élevées. En revanche, la théorie du transfert d'énergie de type Förster prévoit une décroissance en $1/r^6$ de la constante de vitesse de transfert d'énergie (cf. équations ci-dessous), le rendant ainsi possible pour des distances de l'ordre de 80 à 100 Å.

$$k_t = \frac{1}{\tau_D^0} \left[\frac{R_0}{r} \right]^6 \quad \text{eq. 1-7}$$

$$R_0 = \frac{9000(\ln 10)\kappa^2\Phi_D^0}{128\pi^5 N_A n^4} \int_0^\infty I_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda \quad \text{eq. 1-8}$$

où k_t représente la constante de vitesse de transfert d'énergie, τ_D^0 la durée de vie du donneur en l'absence d'accepteur, R_0 le rayon de Förster, r la distance entre le donneur et l'accepteur, κ^2 le facteur d'orientation, Φ_D^0 le rendement quantique de fluorescence du donneur en l'absence d'accepteur, N_A le nombre d'Avogadro, n l'indice de réfraction du milieu, $I_D(\lambda)$ l'intensité de fluorescence normalisée du donneur et $\varepsilon_A(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire de l'accepteur.

Comme le montrent ces relations, le rayon de Förster R_0 correspond à la distance entre le donneur et l'accepteur pour laquelle l'efficacité du transfert d'énergie est de 50 %. Quant à l'intégrale de l'équation 1-8, elle représente le recouvrement spectral entre l'émission du donneur et l'absorption de l'accepteur. Plus elle est grande, plus le transfert d'énergie est efficace.

Ainsi, la complexation d'un cation est susceptible de modifier de différentes manières le processus de transfert d'énergie : soit en modifiant la distance et/ou l'orientation entre le donneur et l'accepteur (paramètres κ^2 et r modifiés), soit en augmentant ou en diminuant le recouvrement spectral entre l'émission du donneur et l'absorption de l'accepteur.^{58,59} A titre d'exemple (*cf.* Figure 1-13), la complexation du cation Na^+ par les fonctions carbonyles du calixarène EN-1 exalte le transfert d'énergie entre le pyrène (donneur) et le groupement carboxyanthracène (accepteur) par modification de l'orientation et de la distance entre les deux chromophores.⁶⁰ Le composé EN-2 se comporte différemment. En effet, la fluorescence du donneur naphthalène est exaltée lorsque le cation Cs^+ est complexé au sein de la couronne. Le recouvrement avec le spectre d'absorption de la coumarine est donc augmenté et le transfert d'énergie favorisé en présence du cation.⁶¹

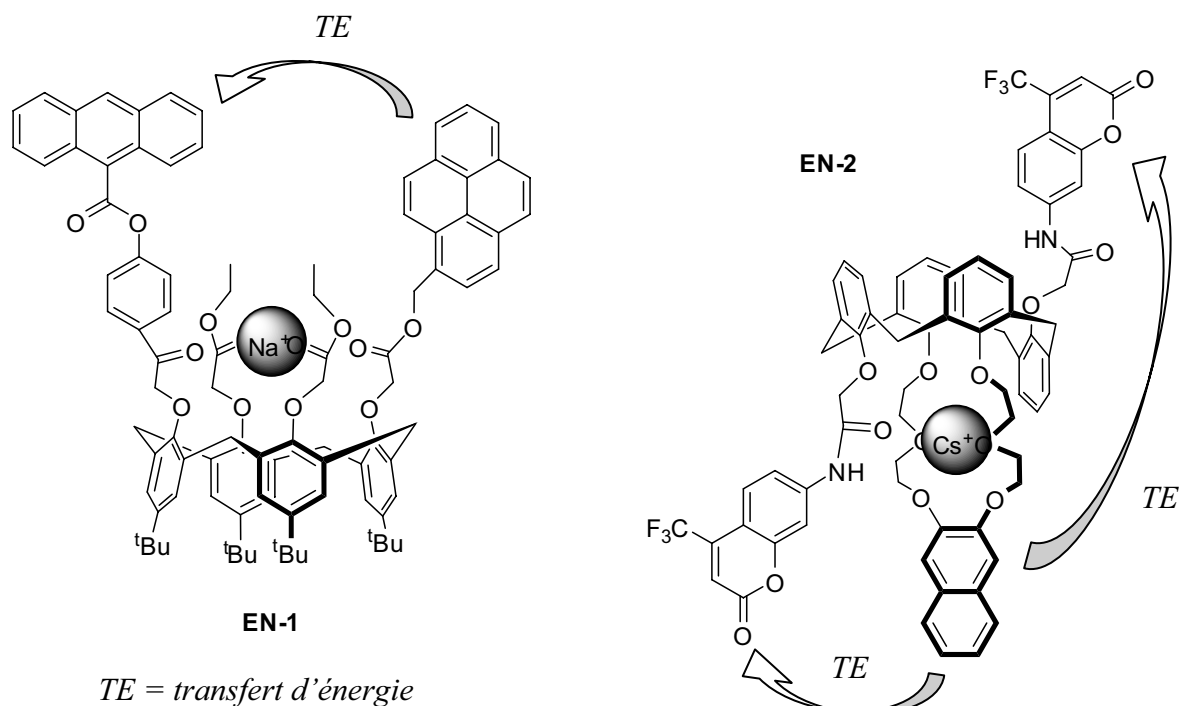


Figure 1-13. Exemples de fluoroionophores avec transfert d'énergie.

La possibilité d'effectuer avec ce type de fluoroionophores des mesures ratiométriques constitue un atout important. Cependant, le contrôle de la distance qui sépare le donneur et l'accepteur est parfois difficile et d'importantes modifications spectrales ne seront observées que si cette distance varie autour de la valeur de R_0 avec la complexation.

III.2.4. Formation d'excimères

Par définition, un excimère est un dimère qui se forme à l'état excité par collision entre une molécule excitée et une molécule identique dans son état fondamental. L'excimère est généralement

stable à l'état excité mais est dissociatif à l'état fondamental. Dans la mesure où il résulte d'une stabilisation à l'état excité, la fluorescence de l'excimère est déplacée vers les basses énergies par rapport au monomère et sa bande de fluorescence est déstructurée. L'excimère possède une durée de vie propre et les mesures de fluorescence résolues en temps à la longueur d'onde d'émission de l'excimère font souvent apparaître un temps de montée qui résulte de la cinétique de formation de l'excimère à partir du monomère excité. La formation d'un excimère est généralement limitée par la diffusion si bien qu'aux concentrations très faibles utilisées pour la spectroscopie de fluorescence en solution, la formation d'excimères intermoléculaires est peu probable. En revanche, la formation d'excimères intramoléculaires est possible à condition que celle-ci s'effectue suffisamment rapidement comparativement à la durée de vie de l'état excité du monomère.

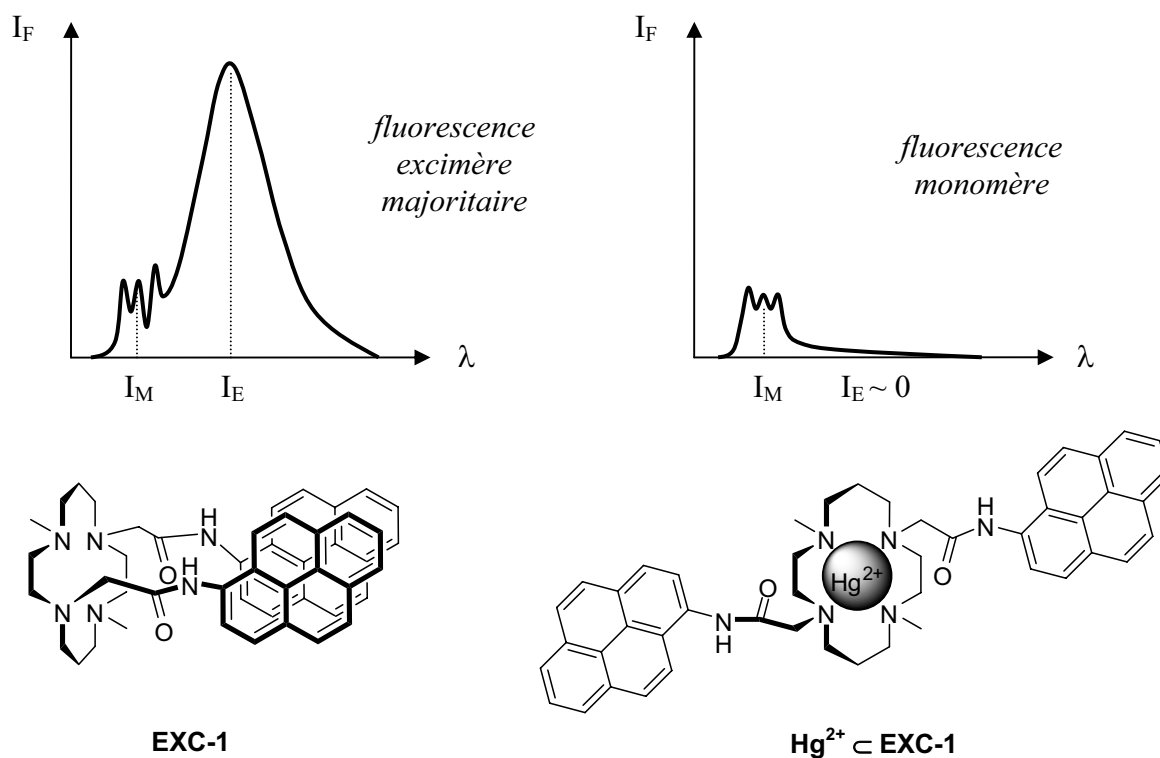


Figure 1-14. Fluoroionophores avec formation d'excimères.

Ainsi, lors de la complexation d'un cation par une entité complexante substituée par au moins deux fluorophores identiques, d'importants changements conformationnels peuvent survenir et modifier la distance entre ces fluorophores. La formation de l'excimère est alors plus ou moins favorisée et le rapport des intensités de fluorescence des bandes monomères et excimères (I_E/I_M) varie. Comme le montre la Figure 1-14 pour le composé EXC-1, la complexation du mercure par le cyclame modifie la conformation du ligand et éloigne les deux groupements pyrènes l'un de l'autre. La fluorescence excimère est alors inhibée et la détection du mercure peut alors être réalisée par l'intermédiaire d'une mesure ratiométrique en émission.⁶² A noter que le pyrène et l'anthracène sont couramment utilisés pour la formation d'excimères intramoléculaires.

Références bibliographiques

- [1] A. Pichard, M. Bisson, C. Hulot, J.P. Lefèvre, H. Magaud, D. Oberson-Geneste, A. Morin, G. Pépin et C. Gillet. INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques). "*Plomb et ses dérivés*", **2002**.
- [2] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES - Public Health Service - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. "*Toxicological profile for lead*", **2005**.
- [3] H.A. Godwin. "*The biological chemistry of lead*", Curr. Opin. Chem. Biol., **2001**, 5, 223-227.
- [4] M.J. Warren, J.B. Cooper, S.P. Wood et P.M. Shoolingin-Jordan. "*Lead poisoning, haem synthesis and 5-aminolaevulinic acid dehydratase*", Trends Biochem. Sci., **1998**, 23, 217-221.
- [5] N.L. Pauza, M.J.P. Cotti, L. Godar, A.M.F. de Sancovich et H.A. Sancovich. "*Disturbances on Delta aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) enzyme activity by Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ , K^+ and Li^+ : analysis based on coordination geometry and acid-base Lewis capacity*", J. Inorg. Biochem., **2005**, 99, 409-414.
- [6] World Health Organisation. "*Guidelines for Drinking-water Quality : incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations. – 3rd ed.*", **2006**.
- [7] Directive 98/83/CE du Conseil du 3 Novembre 1998. "*The quality of water intended for human consumption*", **1998**, L330/32-54.
- [8] A. Pichard, M. Bisson, R. Diderich, C. Hulot, J.P. Lefèvre, S. Levêque, H. Magaud, A. Morin, G. Pépin, L. Cornu et C. Gillet. INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques). "*Cadmium et ses dérivés*", **2000**.
- [9] S. Satarug, J.R. Baker, S. Urbenjapol, M. Haswell-Elkins, P.E.B. Reilly, D.J. Williams et M.R. Moore. "*A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population*", Toxicol. Lett., **2003**, 137, 65-83.
- [10] T.W. Lane et F.M.M. Morel. "*A biological function for cadmium in marine diatoms*", Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **2000**, 97, 4627-4631.
- [11] C.T. McMurray et J.A. Tainer. "*Cancer, cadmium and genome integrity*", Nat. Genet., **2003**, 34, 239-241.
- [12] Y.H. Jin, A.B. Clark, R.J.C. Slebos, H. Al-Refai, J.A. Taylor, T.A. Kunkel, M.A. Resnick et D.A. Gordenin. "*Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair*", Nat. Genet., **2003**, 34, 326-329.
- [13] K. Beaugelin-Seiller, S. Roussel-Debet, P. Germain, C. Colle, C. Adam et J. Garnier-Laplace. IRSN (Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire). "*Fiche radionucléide : Césium 137 et environnement*", **2005**.
- [14] P. Bérard, B. Le Guen, M.L. Perrin, A. Desprès, E. Gaillard-Lecanu, V. Chambrette, J. Brenot et D. Robeau. IRSN (Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire). "*Fiche radionucléide : Césium 137 + Baryum 137m - Aspects sanitaires*", **2001**.
- [15] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES - Public Health Service - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. "*Toxicological profile for cesium*", **2004**.
- [16] P. Kalac. "*A review of edible mushroom radioactivity*", Food Chem., **2001**, 75, 29-35.

- [17] J.T. Smith, R.N.J. Comans, N.A. Beresford, S.M. Wright, B.J. Howard et W.C. Camplin. "Pollution - Chernobyl's legacy in food and water", *Nature*, **2000**, 405, 141-141.
- [18] J. Vandegans, A.M. de Kersabiec et M. Hoenig. "Spectroscopie d'absorption atomique", *Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation (PE 2825)*.
- [19] R. Kellner, J.M. Mermet, M. Otto et H.M. Widmer. "Analytical Chemistry" Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.
- [20] J.M. Mermet et E. Poussel. "Couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse", *Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation (PE 2720)*.
- [21] E. Bakker, P. Buhlmann et E. Pretsch. "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics", *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 3083-3132.
- [22] P. Buhlmann, E. Pretsch et E. Bakker. "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors", *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1593-1688.
- [23] B. Valeur. "Molecular Fluorescence - Principles and Applications" Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [24] J.P. Desvergne et A.W. Czarnik. "Chemosensors of Ion and Molecule Recognition" NATO ASI series, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1997**.
- [25] A.P. de Silva, H.Q.N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A.J.M. Huxley, C.P. McCoy, J.T. Rademacher et T.E. Rice. "Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches", *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 1515-1566.
- [26] B. Valeur et I. Leray. "Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition", *Coord. Chem. Rev.*, **2000**, 205, 3-40.
- [27] L. Prodi, F. Bolletta, M. Montalti et N. Zaccheroni. "Luminescent chemosensors for transition metal ions", *Coord. Chem. Rev.*, **2000**, 205, 59-83.
- [28] J.F. Callan, A.P. de Silva et D.C. Magri. "Luminescent sensors and switches in the early 21st century", *Tetrahedron*, **2005**, 61, 8551-8588.
- [29] R.G. Pearson. "Hard and Soft Acids and Bases", *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3533-3539.
- [30] R.G. Pearson. "Hard and Soft Acids and Bases, HSAB, Part 1", *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45, 581-587.
- [31] R.G. Parr et R.G. Pearson. "Absolute Hardness – Companion Parameter to Absolute Electronegativity", *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 7512-7516.
- [32] J. Parr. "Some recent coordination chemistry of lead(II)", *Polyhedron*, **1997**, 16, 551-566.
- [33] N.N. Greenwood et A. Earnshaw. "Chemistry of the Elements" Butherworth-Heinemann, Oxford, **1997**.
- [34] L. Shimoni-Livny, J.P. Glusker et C.W. Bock. "Lone pair functionality in divalent lead compounds", *Inorg. Chem.*, **1998**, 37, 1853-1867.
- [35] R.D. Hancock et A.E. Martell. "Ligand design for selective complexation of metal-ions in aqueous-solution", *Chem. Rev.*, **1989**, 89, 1875-1914.
- [36] D.F. Shriver et P.W. Atkins. "Chimie Inorganique, Traduction française" De Boeck Université, Paris, **2001**.
- [37] A. Ikeda et S. Shinkai. "Novel cavity design using calix[n]arene skeletons: Toward molecular recognition and metal binding", *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 1713-1734.

- [38] C.D. Gutsche. "*Calixarenes Revisited*" The Royal Society of Chemistry, London, **1998**.
- [39] Z. Asfari, V. Böhmer, J. Harrowfield et J. Vicens. "*Calixarenes 2001*" Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **2001**.
- [40] C.D. Gutsche et R. Muthukrishnan. "*Calixarenes .1. Analysis of product mixtures produced by base-catalyzed condensation of formaldehyde with para-substituted phenols*", J. Org. Chem., **1978**, 43, 4905-4906.
- [41] K. Iwamoto et S. Shinkai. "*Syntheses and ion selectivity of all conformational isomers of tetrakis((ethoxycarbonyl)methoxy)calix[4]arene*", J. Org. Chem., **1992**, 57, 7066-7073.
- [42] V. Böhmer. "*Calixarenes, macrocycles with (almost) unlimited possibilities*", Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **1995**, 34, 713-745.
- [43] F. Arnaud-Neu, E.M. Collins, M. Deasy, G. Ferguson, S.J. Harris, B. Kaitner, A.J. Lough, M.A. McKervey, E. Marques, B.L. Ruhl, M.J. Schwingweill et E.M. Seward. "*Synthesis, X-Ray crystal-structures, and cation-binding properties of alkyl calixaryl esters and ketones, a new family of macrocyclic molecular receptors*", J. Am. Chem. Soc., **1989**, 111, 8681-8691.
- [44] F. Arnaud-Neu, M.J. Schwingweill, K. Ziat, S. Cremin, S.J. Harris et M.A. McKervey. "*Selective alkali and alkaline-earth cation complexation by calixarene amides*", New J. Chem., **1991**, 15, 33-37.
- [45] F. Arnaud-Neu, G. Barrett, S.J. Harris, M. Owens, M.A. McKervey, M.J. Schwingweill et P. Schwinte. "*Cation complexation by chemically-modified calixarenes .5. Protonation constants for calixarene carboxylates and stability-constants of their alkali and alkaline-earth complexes*", Inorg. Chem., **1993**, 32, 2644-2650.
- [46] F. Cadogan, P. Kane, M.A. McKervey et D. Diamond. "*Lead selective electrodes based on calixarene phosphine oxide derivatives*", Anal. Chem., **1999**, 71, 5544-5550.
- [47] A.T. Yordanov et D.M. Roundhill. "*Electronic absorption spectroscopy for the investigation of the solution binding of gold, palladium, mercury and silver salts to the lower rim substituted calix[4]arenes 25,26,27,28-(2-N,N-dimethyldithiocarbamoylethoxy)calix[4]arene and 25,26,27,28-(2-methylthioethoxy)calix[4]arene*", Inorg. Chim. Acta, **1998**, 270, 216-220.
- [48] D. Diamond et M.A. McKervey. "*Calixarene-based sensing agents*", Chem. Soc. Rev., **1996**, 25, 15-24.
- [49] J.S. Kim et D.T. Quang. "*Calixarene-Derived Fluorescent Probes*", Chem. Rev., **2007**, 107, 3780-3799.
- [50] B. Valeur et I. Leray. "*Ion-responsive supramolecular fluorescent systems based on multichromophoric calixarenes: A review*", Inorg. Chim. Acta, **2007**, 360, 765-774.
- [51] B. Valeur. "*Principles of fluorescent probe design for ion recognition*" dans "*Probe Design and Chemical Sensing, Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol. 4*", J.R. Lakowicz (ed.), Plenum, New-York, **1994**, pp. 21-48.
- [52] Q. He, E.W. Miller, A.P. Wong et C.J. Chang. "*A Selective Fluorescent Sensor for Detecting Lead in Living Cells*", J. Am. Chem. Soc., **2006**, 128, 9316-9317.
- [53] R. Metivier, I. Leray et B. Valeur. "*Lead and mercury sensing by calixarene-based fluoroionophores bearing two or four dansyl fluorophores*", Chem.Eur. J., **2004**, 10, 4480-4490.
- [54] B. Valeur et I. Leray. "*PCT (Photoinduced Charge Transfer) Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition*" dans "*New Trends in Fluorescence Spectroscopy -*

- Applications to Chemical and Life Sciences*", B. Valeur et J.C. Brochon (eds.), Springer-Verlag, Berlin, **2001**, pp. 187-206.
- [55] J. Bourson, J. Pouget et B. Valeur. "Ion-responsive fluorescent compounds .4. Effect of cation binding on the photophysical properties of a coumarin linked to monoaza-crown and diaza-crown ethers", *J. Phys. Chem.*, **1993**, 97, 4552-4557.
- [56] J. Bourson et B. Valeur. "Ion-responsive fluorescent compounds .2. Cation-steered intramolecular charge-transfer in a crowned merocyanine", *J. Phys. Chem.*, **1989**, 93, 3871-3876.
- [57] P. Plaza, I. Leray, P. Changenet-Barret, M.M. Martin et B. Valeur. "Reversible bulk photorelease of strontium ion from a crown ether-linked merocyanine", *Chem. Phys. Chem.*, **2002**, 3, 668-674.
- [58] B. Valeur, J. Pouget, J. Bourson, M. Kaschke et N.P. Ernsting. "Tuning of Photoinduced Energy-Transfer in a bichromophoric coumarin supermolecule by cation binding", *J. Phys. Chem.*, **1992**, 96, 6545-6549.
- [59] K. Kikuchi, H. Takakusa et T. Nagano. "Recent advances in the design of small molecule-based FRET sensors for cell biology", *Trends in Anal. Chem.*, **2004**, 23, 407-415.
- [60] T. Jin. "A new Na⁺ sensor based on intramolecular fluorescence energy transfer derived from calix[4]arene", *Chem. Commun.*, **1999**, 2491-2492.
- [61] M.H. Lee, D.T. Quang, H.S. Jung, J. Yoon, C.H. Lee et J.S. Kim. "Ion-induced FRET on-off in fluorescent calix[4]arene", *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 4242-4245.
- [62] S.Y. Moon, N.J. Youn, S.M. Park et S.K. Chang. "Diametrically disubstituted cyclam derivative having Hg²⁺-selective fluoroionophoric behaviors", *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 2394-2397.

Chapitre 2 : Senseurs fluorescents sélectifs du plomb

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	- 32 -
I.1. Fluoroionophores sélectifs du plomb	- 32 -
I.1.1. Fluoroionophores de type PET.....	- 32 -
I.1.2. Fluoroionophores de type PCT	- 33 -
I.1.3. Formation d'excimères.....	- 35 -
I.1.4. Autres fluoroionophores sélectifs.....	- 36 -
I.2. Détection du plomb par Calix-Dans4 en milieu eau/acétonitrile.....	- 37 -
I.2.1. Propriétés complexantes avec le plomb	- 37 -
I.2.2. Sensibilité de la détection du plomb avec Calix-Dans4	- 38 -
I.2.3. Sélectivité de la détection du plomb avec Calix-Dans4	- 39 -
II. FONCTIONNEMENT DE LA SONDE CALIX-DANS4 EN MILIEU AQUEUX A PH = 6	- 41 -
II.1. Conditions de milieu	- 41 -
II.2. Optimisation du fonctionnement de la sonde.....	- 42 -
II.2.1. Préambule	- 42 -
II.2.2. Etude en présence de chlorure de magnésium	- 42 -
II.2.3. Etude en présence de chlorure de potassium	- 46 -
II.2.4. Conclusion sur le composé Calix-Dans4 et perspectives.....	- 46 -
III. SYNTHÈSE ET ÉTUDE DE NOUVEAUX CALIXARENES COMPORTANT QUATRE ATOMES D'AZOTE COMPLEXANTS	- 48 -
III.1. Etude d'un analogue non carbonylé de Calix-Dans4 : Calix-DNS4.....	- 48 -
III.1.1. Ingénierie moléculaire et analyse rétrosynthétique	- 48 -
III.1.2. Synthèse de l'analogue Calix-DNS4	- 49 -
III.1.3. Propriétés complexantes de Calix-DNS4	- 50 -
III.1.4. Conclusion sur le composé Calix-DNS4	- 54 -
III.2. Etude de calixarènes azotés excitables au-delà de 400 nm	- 54 -
III.2.1. Rappels sur fluorophores 1,8-naphtalimides	- 54 -
III.2.2. Nouveaux fluoroionophores cibles de type naphtalimide.....	- 56 -
III.2.3. Propriétés photophysiques des composés naphtalimides.....	- 60 -
III.2.4. Propriétés complexantes des composés naphtalimides.....	- 62 -
III.2.5. Conclusion sur les composés de type naphtalimide.....	- 64 -
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES SUR LES FLUOROIONOPHORES SÉLECTIFS DU PLOMB	- 65 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 67 -

Chapitre 2 : Senseurs fluorescents sélectifs du plomb

La lutte contre le saturnisme est devenue depuis quelques années une priorité des programmes de santé publique. La teneur maximale admissible en plomb dans l'eau potable est actuellement fixée à $25 \mu\text{g L}^{-1}$ et doit atteindre $10 \mu\text{g L}^{-1}$ d'ici 2013. Du fait de sa très forte toxicité et de son impact environnemental, le plomb est considéré dans le cadre du programme Toxicologie Nucléaire Environnementale comme un cation d'intérêt et les mécanismes d'action de ce toxique sont à l'étude aussi bien dans les plantes, qu'au niveau cellulaire. En particulier, l'équipe d'Elisabeth Mintz, au sein du laboratoire de Biophysique Moléculaire et Cellulaire de Grenoble (UMR CNRS-CEA-UJF 5090), souhaite étudier le transport du plomb par une protéine de type ATPase. L'utilisation d'une sonde fluorescente capable de mesurer efficacement la concentration en plomb dans ce milieu d'étude reste un défi en termes de solubilité, sélectivité, et sensibilité. Forts de l'expérience du laboratoire dans le domaine des senseurs fluorescents sélectifs de métaux lourds, et plus particulièrement du plomb, deux axes de recherche se sont imposés : d'une part l'optimisation d'une sonde déjà synthétisée au laboratoire, le Calix-Dans4 ; d'autre part la synthèse et l'étude de nouveaux composés.

Après un tour d'horizon des différents fluoroionophores sélectifs du plomb récemment décrits dans la littérature, les principales propriétés complexantes et photophysiques du composé Calix-Dans4 en absence et en présence de plomb seront présentées. Les résultats obtenus en milieu eau/acétonitrile seront brièvement rappelés avant que ne soit évoqué le cahier des charges concernant la future utilisation de la sonde (longueur d'onde d'excitation, pH, ions interférents, nature du milieu tampon, etc.). Les conditions nécessaires à l'utilisation de la sonde dans ce type de milieu seront alors décrites, l'accent étant mis en particulier sur les problèmes de photodégradation de la sonde en milieu majoritairement aqueux. Puis, la synthèse d'un analogue non carbonylé de Calix-Dans4 sera décrite, ainsi que ses propriétés complexantes et photophysiques dans des milieux mixtes. Enfin, de nouveaux calixarènes azotés substitués par des groupements naphthalimides excitables à des longueurs d'onde supérieures à 400 nm seront étudiés.

I. Rappels bibliographiques

I.1. Fluoroionophores sélectifs du plomb

La chimie de coordination du plomb est particulièrement intéressante compte tenu du fait qu'il peut adopter dans ses complexes des géométries très différentes (*cf.* Chapitre 1). Il est également en mesure d'interagir efficacement aussi bien avec des atomes durs (oxygène) qu'avec des atomes mous (soufre et azote). Aussi, des composés de structures très variées, avec divers effets photophysiques associés à la complexation, ont été étudiés.

I.1.1. Fluoroionophores de type PET

Plusieurs exemples de fluoroionophores sélectifs du plomb de type PET (OFF-ON ou ON-OFF) ont été décrits dans la littérature. Les entités de reconnaissance utilisées pour la complexation du cation sont celles couramment employées en chimie supramoléculaire (calixarènes, macrocycles) avec des fonctions polyéthers ou bien amides comportant plusieurs atomes d'oxygène complexants.

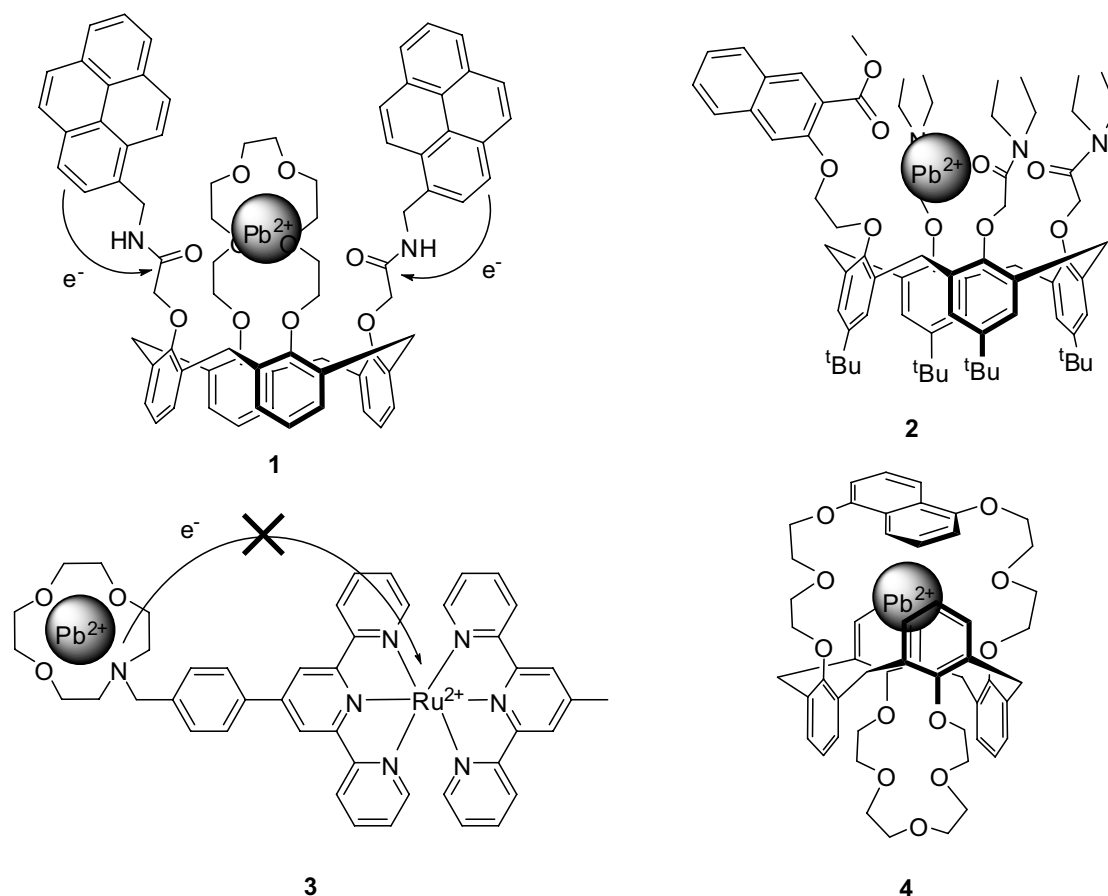


Figure 2-1. Exemples de fluoroionophores de type PET sélectifs du plomb.

Ainsi, en l'absence de cation, la fluorescence du composé **1** dans l'acétonitrile est relativement intense et est caractéristique d'une fluorescence de type monomère. L'ajout de perchlorate de plomb provoque une importante inhibition de la fluorescence par un processus PET (ON-OFF), du fait de la formation d'un complexe de stoechiométrie 1:1 ($\log \beta = 7,74$).¹ En effet, les 2 fonctions carbonyles participent à la complexation du cation au sein de la couronne(6). Le

transfert d'électron entre le pyrène excité et les groupements amides déficients en électrons est rendu possible, entraînant alors une diminution du rendement quantique de fluorescence. Cet effet est néanmoins beaucoup plus faible dès lors qu'un solvant protique est utilisé : les groupements amides sont rendus moins complexants du fait de liaisons hydrogène formées avec le solvant.

Un processus similaire est également à l'origine de la détection du plomb par **2**. La complexation du cation Pb^{2+} aux fonctions *N,N*-diéthylacétamides greffées sur le squelette calixarène entraîne une baisse de 70 % de l'intensité de fluorescence du groupement méthoxycarboxynaphtalène dans un milieu $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 3:1 à $\text{pH} = 5,2$.² La constante de formation du complexe de stoechiométrie 1:1 dans ce milieu est de $6,5 \times 10^4$. Si la sélectivité photophysique de cette sonde est remarquable envers de nombreux cations (métaux de transition, alcalins et alcalino-terreux), la sélectivité chimique n'est pas satisfaisante, surtout vis-à-vis du sodium. En présence simultanée de plomb et de sodium, aucun effet n'est observé en absorption et en émission, la sonde **2** se liant préférentiellement au sodium.

Soto *et al.* ont pour leur part développé toute une série de fluoroionophores dont l'entité de reconnaissance est une couronne azotée, et où le fluorophore est un complexe de ruthénium de type $\text{Ru}(\text{tpy})_2^{2+}$.³ De telles couronnes, qui combinent des atomes d'oxygène et d'azote, sont connues pour complexer efficacement les gros cations des métaux de transition, au détriment de cations dont le rayon ionique est plus faible. Ainsi, l'ajout de plomb en milieu organo-aqueux ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 7:3) entraîne une exaltation de fluorescence de **3** de l'ordre de 30 %. En effet, la complexation à l'azote de la couronne inhibe le transfert d'électron vers le fluorophore et provoque une augmentation du rendement quantique de fluorescence. Si la possibilité de travailler en présence d'eau et en excitant dans le visible à 480 nm sont des avantages indéniables, le faible rendement quantique de luminescence de **3** ($\Phi_F \sim 5 \times 10^{-5}$) et la faible sélectivité pour Pb^{2+} vis-à-vis de Cd^{2+} sont gênants.

Concernant le calixarène **4**, la formation d'un complexe ML avec le plomb entraîne une inhibition quasi-totale de l'intensité de fluorescence du fluorophore naphthalène.⁴ Dans l'acétonitrile, la constante de formation de ce complexe est de 6×10^4 . Le principal cation interférent est le potassium avec qui **4** forme un complexe de type M_2L avec un cation au sein de chaque boucle complexante. De plus, aucune indication n'est fournie sur la possibilité de détecter le plomb en milieu aqueux.

I.1.2. Fluoroionophores de type PCT

D'abord synthétisé par Valeur *et al.* et étudié comme senseur de calcium,⁵ le composé **5** s'est révélé un très bon senseur de plomb dans l'acétonitrile ($\log \beta_{\text{ML}} = 6,02$). La complexation du cation au sein de la couronne azotée provoque une diminution du transfert de charge de l'atome d'azote de la couronne vers la fonction carbonyle et l'azote de la benzoxazinone. Un important déplacement spectral hypsochrome en résulte ainsi qu'une exaltation de fluorescence du fait de la rigidification de la couronne et de la diminution des constantes de vitesse des voies de désexcitation non radiatives.⁶ Néanmoins, l'ajout de solvants protiques tels que l'eau ou l'éthanol inhibe la fluorescence de la benzoxazinone ce qui limite l'usage de ce composé aux milieux non protiques.

Le composé **6** possède également un macrocycle azoté comme site de reconnaissance du cation. Afin d'expliquer l'importante exaltation de fluorescence ainsi que le déplacement hypsochrome des spectres d'absorption observés avec la complexation dans l'acétonitrile, Chen *et*

al. ont émis l'hypothèse de la formation d'un complexe de stoechiométrie 2:2 dans lequel chaque cation est en interaction avec l'azote de la couronne et les deux fonctions carbonyles du second ligand.⁷ A l'inverse des spectres d'absorption, les spectres d'émission sont peu déplacés vers le bleu car le cation est en interaction à la fois avec les groupements donneurs et accepteurs impliqués dans le transfert de charge photoinduit. Cependant, la présence de seulement 5 % d'eau diminue l'efficacité de la sonde (affinité pour le plomb de deux ordres de grandeur inférieure et effets photophysiques moins marqués).

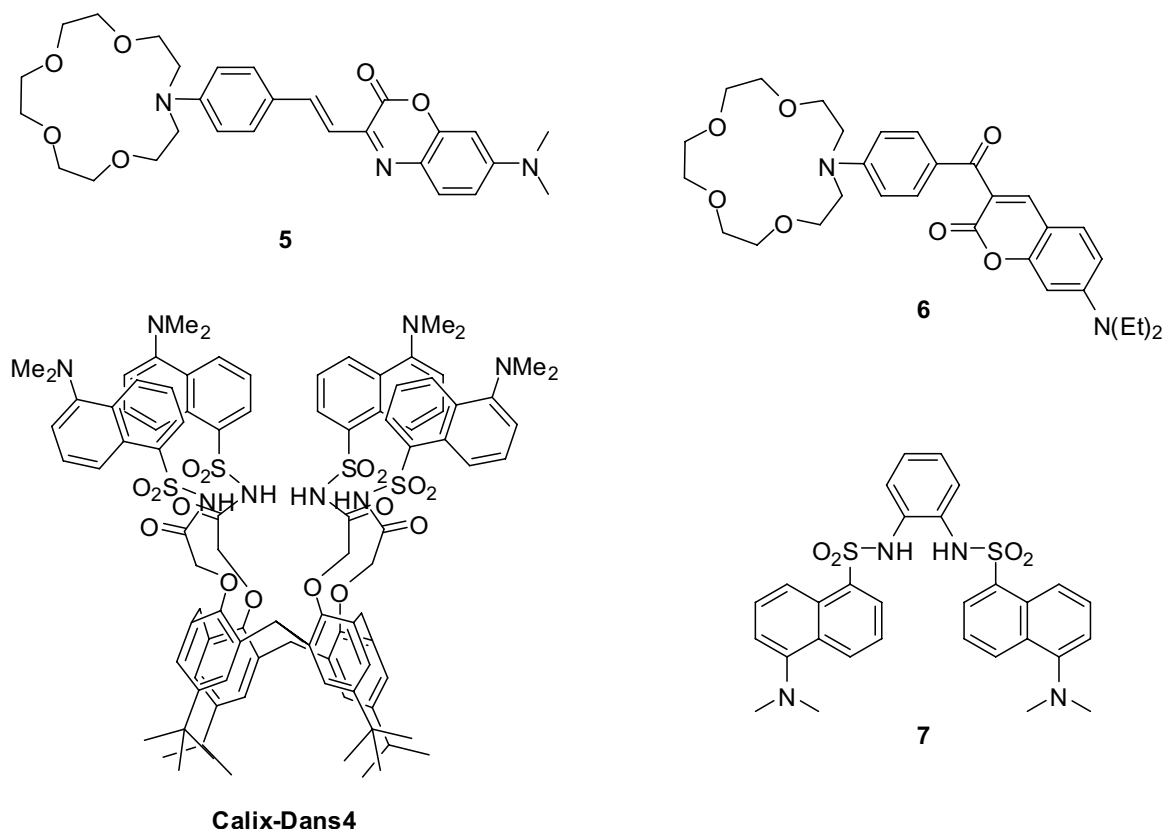


Figure 2-2. Exemples de fluoroionophores de type PCT sélectifs du plomb.

Le calixarène tétrasubstitué par quatre groupements carboxysulfonamides Calix-Dans4, synthétisé et étudié dans notre équipe en milieu organo-aqueux, s'est avéré particulièrement sensible et sélectif.^{8,9} Les très fortes constantes de stabilité mesurées pour les complexes formés avec le plomb ont été expliquées par le phénomène d'activation de la paire inerte du plomb, qui intervient lorsqu'au moins trois atomes d'azote participent à la complexation du cation (*cf.* Chapitre 1). Les principaux résultats concernant ce composé seront rappelés dans le paragraphe I.2 de ce chapitre.

Par la suite, de nouveaux fluoroionophores incorporant des fonctions dansyles très sensibles à la polarité de leur micro-environnement ont été développés. En effet, Kavallieratos *et al.* ont montré que les dérivés de l'*ortho*-phénylènediamine substitués par deux fonctions sulfonamides sont d'excellents extractants du plomb.¹⁰ La synthèse de 7, qui possède deux groupements dansyles qui se déprotonnent lors de la complexation par le plomb, a permis d'obtenir un extractant efficace, sélectif et fluorescent : en présence de 2,2 équivalents de diisopropylamine, 99,5 % du plomb contenu dans une solution de nitrate de plomb à 3,5 mM sont extraits en phase organique dans le

dichloroéthane ($[7] = 3,5 \text{ mM}$). La complexation du plomb se traduit alors par une diminution de 30 % de l'intensité de fluorescence mais aucun déplacement spectral n'est observé.¹¹

I.1.3. Formation d'excimères

La formation d'excimères intramoléculaires dans des calixarènes fonctionnalisés par des groupements pyrènes est une des voies couramment employée pour la conception de senseurs de cations. En modifiant la conformation du ligand, le cation favorise ou défavorise la formation d'excimères intramoléculaires. Pour le composé **8**, la complexation du plomb induit plusieurs phénomènes. En l'absence de cation dans CH_3CN , le spectre de fluorescence présente une bande monomère et une seconde excimère à 470 nm ($I_{\text{excimère}}/I_{\text{monomère}} = 1,52$). Lors de la complexation par Pb^{2+} , l'effet d'atome lourd et le transfert d'électron photoinduit du pyrène vers les groupements carbonyles provoquent la diminution de la fluorescence monomère. La diminution de la fluorescence excimère résulte du changement conformationnel induit par la complexation : les deux groupements carbonyles étant complexés au cation, les deux pyrènes sont rejetés loin l'un de l'autre, empêchant ainsi la formation d'un excimère.¹² La constante de formation du complexe de stoechiométrie 1:1 est de $5,2 \times 10^5$.

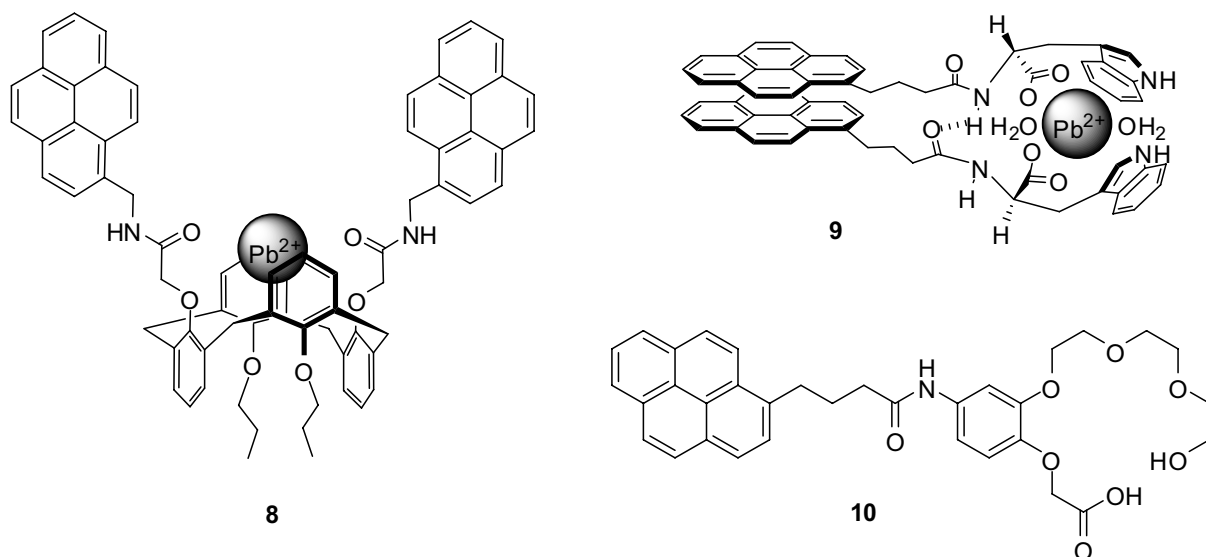


Figure 2-3. Exemples de fluorosélectifs de plomb de type excimère.

Les composés **9** et **10** de la Figure 2-3 forment quant à eux des excimères intermoléculaires en présence de plomb. **9** forme ainsi un complexe de type ML_2 dans un milieu eau/DMSO 98:2 à $\text{pH} = 6,4$ ($K_{12} = 1,09 \times 10^6$). Dans ce dimère, le cation Pb^{2+} est stabilisé par interaction électrostatique avec deux groupements carboxylates (un par ligand), et par interaction non covalente avec les deux noyaux indoles du tryptophane. Egalement stabilisé par liaison hydrogène entre les deux fonctions amides de chaque ligand, l'édifice supramoléculaire formé possède une fluorescence monomère inhibée par rapport au ligand libre, tandis qu'une importante fluorescence excimère apparaît. Le cation Pb^{2+} complexé par deux ligands induit en effet un rapprochement spatial des deux groupements pyrènes de chaque ligand. Une très faible limite de détection a pu être atteinte ($0,15 \mu\text{M}$) et une excellente sélectivité vis-à-vis de nombreux cations a été observée.¹³

L'approche utilisée par Hayashita *et al.* pour la conception de **10** est similaire mais nécessite d'ajouter un agent favorisant la formation du dimère en milieu aqueux : une γ -cyclodextrine.¹⁴ L'inclusion de deux pyrènes au sein de la cavité hydrophobe de la cyclodextrine est favorisée par la complexation du plomb au niveau des deux pinces complexantes oxygénées (une par ligand). L'ajout de plomb dans un milieu eau/méthanol 98:2 à pH = 4,3 entraîne alors une diminution de la fluorescence monomère du pyrène et une augmentation de la fluorescence excimère. Une limite de détection de 10 μM a été mesurée et aucune interférence notable avec les principaux métaux de transition (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} et Cd^{2+}) n'a été mise en évidence.

I.1.4. Autres fluoroionophores sélectifs

Certains fluoroionophores sélectifs du plomb décrits dans la littérature fonctionnent suivant un principe différent de ceux énoncés précédemment. A titre d'exemple, Kwon *et al.* ont récemment synthétisé un dérivé de la rhodamine B (**11**) dont la fluorescence est multipliée d'un facteur 100 en présence de plomb dans l'acétonitrile.¹⁵ En l'absence de cation, le composé n'absorbe pas dans le visible et n'est pas fluorescent. L'ajout de plomb provoque une aromatisation réversible de la molécule, se traduisant par une importante exaltation de fluorescence. Ce senseur est particulièrement sélectif, possède une constante de complexation élevée ($\log K = 5,3$ dans CH_3CN) mais ne fonctionne pas en milieu aqueux.

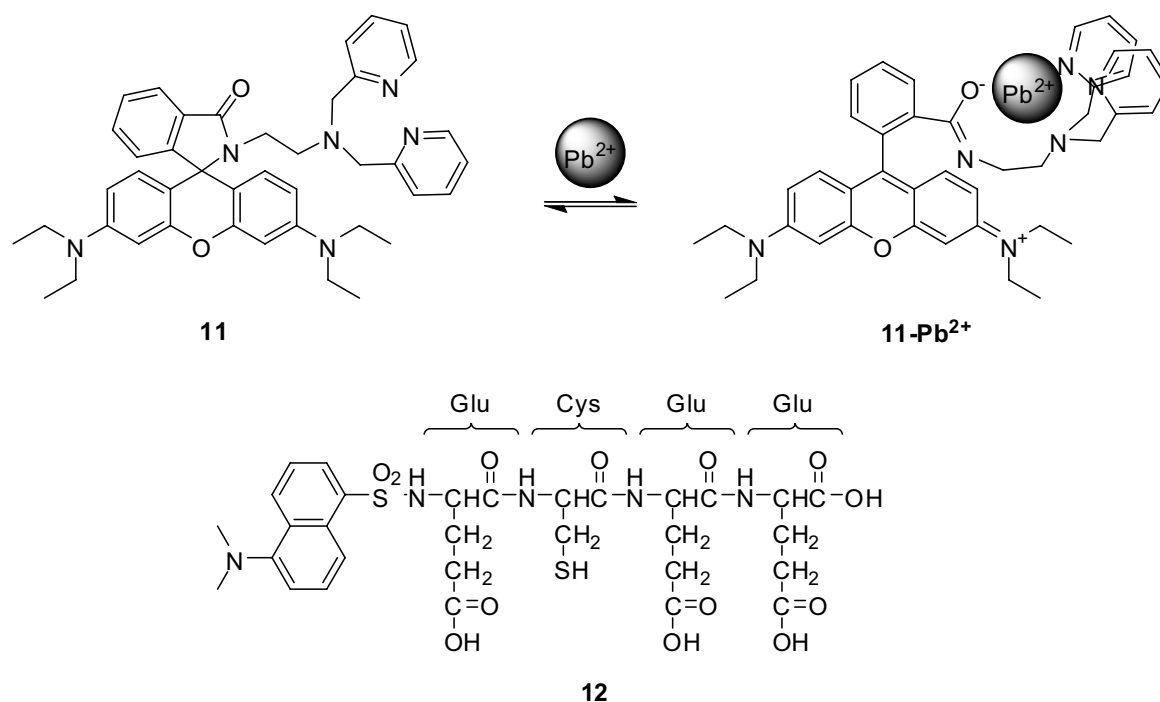


Figure 2-4. Exemples de fluoroionophores sélectifs de plomb.

En ce qui concerne le composé **12**, un groupement dansyle fluorescent permet la détection du plomb. En milieu tamponné à pH = 7,1, la complexation du plomb par les groupements carboxylates des trois acides aminés glutamates et le soufre de la cystéine entraîne un changement de polarité dans le microenvironnement du groupe dansyle. Cela se traduit par un déplacement vers le bleu du spectre d'émission de **12** et par une exaltation du rendement quantique de fluorescence.¹⁶

Si la possibilité de réaliser une mesure ratiométrique et la sélectivité pour le plomb sont intéressantes, l'affinité n'est pas très élevée ($EC_{50}^{Pb^{2+}} = 120 \mu M$).^a

I.2. Détection du plomb par Calix-Dans4 en milieu eau/acétonitrile

Le composé Calix-Dans4 est un calixarène substitué par quatre groupements carboxysulfonamides (cf. Figure 2-2) dont les propriétés photophysiques et complexantes ont fait l'objet de nombreuses études au sein de notre équipe. Les résultats obtenus au cours de la thèse de Rémi Métivier, dont une partie est présentée ici, ont d'ailleurs fait l'objet de plusieurs publications.^{8,9,17} Dans un milieu mixte eau/acétonitrile 40:60 tamponné par la lutidine et $HClO_4$ à $pH = 5,2$, ce calixarène s'est révélé très sensible et hautement sélectif vis-à-vis du plomb.

I.2.1. Propriétés complexantes avec le plomb

L'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence stationnaire de Calix-Dans4 avec l'ajout de thiocyanate de plomb est représentée sur la Figure 2-5. La concentration en ligand est maintenue constante tout au long du dosage. Les cinétiques de complexation sont suffisamment rapides à $20^\circ C$ pour se dérouler dans le temps du mélange de la solution.

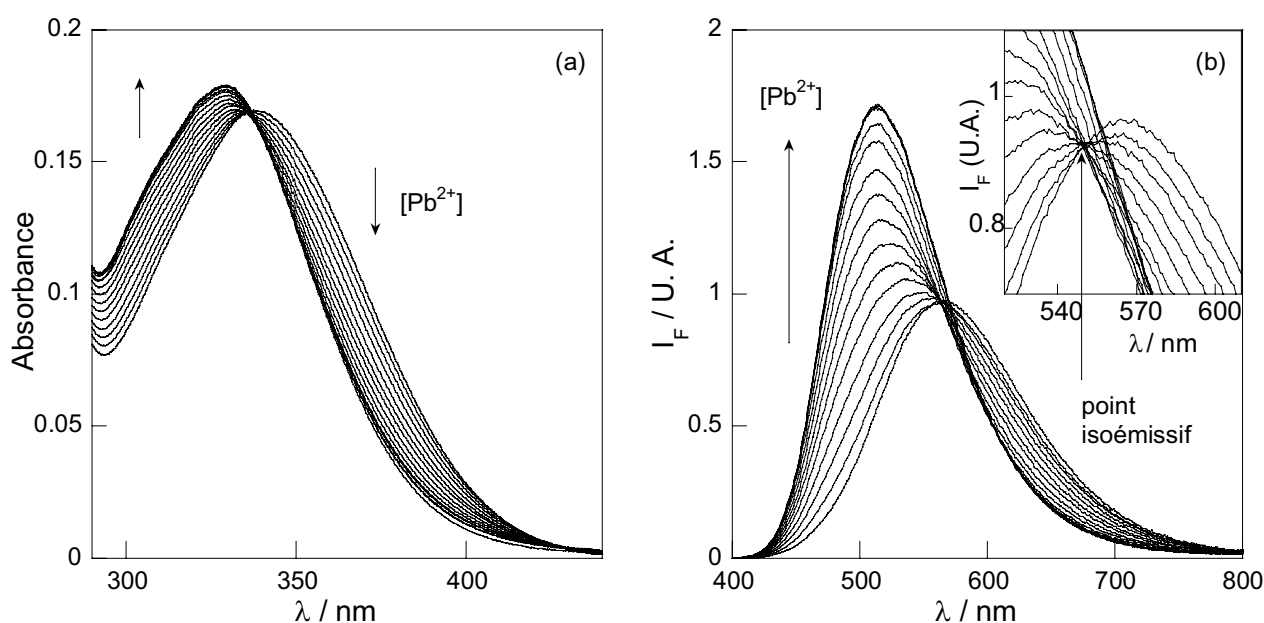


Figure 2-5. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) des spectres de fluorescence ($\lambda_{exc} = 350 \text{ nm}$) de Calix-Dans4 dans CH_3CN/H_2O 6:4 à $pH = 5,2$ (tampon lutidine- $HClO_4$) avec des ajouts croissants de thiocyanate de plomb. En encart : zoom sur l'évolution des spectres de fluorescence non corrigés de l'absorbance.

Les spectres sont déplacés vers les courtes longueurs d'onde (de 9 nm en absorption et de 52 nm en fluorescence) et la fluorescence est exaltée d'un facteur 1,4 ($\Phi_F(L) = 0,12 \pm 0,012$; $\Phi_F(ML) = 0,17 \pm 0,017$). En effet, à $pH = 5,2$ en l'absence de cation, il a été montré que trois des quatre fluorophores dansyles sont protonnés. La complexation du cation Pb^{2+} s'accompagne d'une

^a $EC_{50}^{Pb^{2+}}$ représente la concentration en plomb pour laquelle la variation du rapport des intensités de fluorescence à 510 et 557 nm atteint 50 % de sa variation totale.

déprotonation des hydrogènes des fonctions carboxysulfonamides des fluorophores dansyles, provoquant une importante modification des propriétés photophysiques du ligand (*cf.* Figure 2-6). Ce phénomène de déprotonation induite par la complexation est couramment observé pour les fluoroionophores comportant des groupements carboxysulfonamides à proximité du site de complexation, du fait du faible pK_a de ces protons (de l'ordre de 6,3).^{18,19,20}

L'ajustement numérique des faisceaux de courbes d'absorption et de fluorescence, effectué grâce au logiciel SPECFITTM sur la base d'un modèle faisant intervenir deux complexes successifs de stoechiométrie 2:3 (M_2L_3) puis 1:1 (ML), permet le calcul des constantes de complexation apparentes pour ces deux complexes. Les valeurs de ces constantes, particulièrement élevées ce qui traduit la très forte affinité du Calix-Dans4 pour le plomb, sont regroupées dans le Tableau 2-1 ci-dessous.

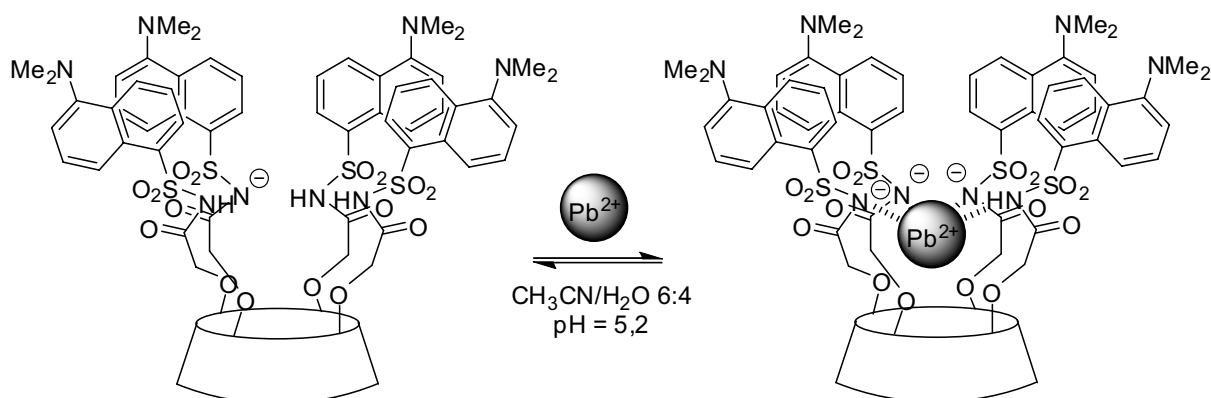


Figure 2-6. Complexation du plomb par Calix-Dans4 à pH = 5,2.

Complexe	M_2L_3	ML
$\log K_{\text{apparente}}$	$33,5 \pm 1,5$	$10,0 \pm 0,5$

Tableau 2-1. Constantes de stabilité des complexes formés par Calix-Dans4 avec le plomb en milieu CH_3CN / H_2O 6:4 à pH = 5,2 (tampon lutidine- $HClO_4$).

I.2.2. Sensibilité de la détection du plomb avec Calix-Dans4

L'ajout de plomb induit un important déplacement spectral de la fluorescence de Calix-Dans4. Une mesure ratiométrique de la fluorescence à deux longueurs d'onde d'émission caractérisant au mieux le déplacement hypsochrome dû à la complexation a été réalisée. Les deux longueurs d'onde sont choisies aux maxima des spectres de fluorescence du ligand libre et des complexes, c'est-à-dire 565 nm et 515 nm. Une droite de calibration est tracée en portant le rapport $I_F(515 \text{ nm}) / I_F(565 \text{ nm})$ en fonction de la concentration en plomb (*cf.* Figure 2-7) et une limite de détection de $4,2 \mu\text{g L}^{-1}$ a finalement été mesurée.

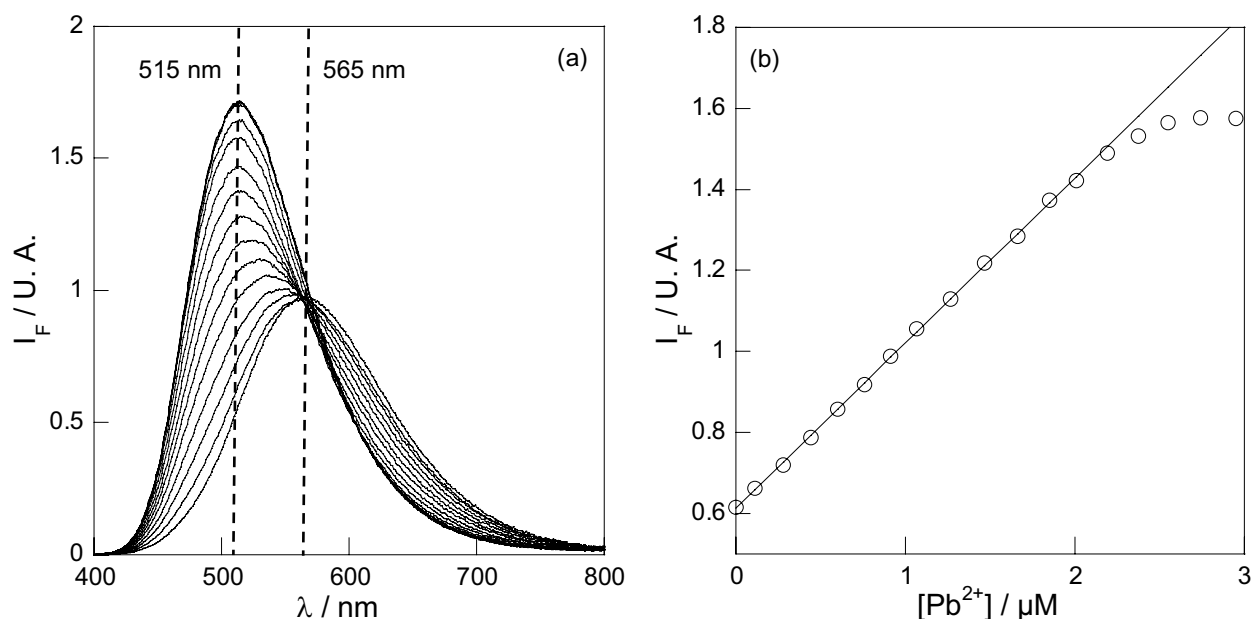


Figure 2-7. (a) Réponse ratiométrique de l'intensité de fluorescence et (b) droite de calibration du composé Calix-Dans4 pour la détection du plomb par fluorimétrie stationnaire ($[L] = 3,6 \times 10^{-6} \text{ M}$) dans un solvant $\text{CH}_3\text{CN} / \text{H}_2\text{O}$ 6:4 à $\text{pH} = 5,2$ (tampon lutidine- HClO_4).

I.2.3. Sélectivité de la détection du plomb avec Calix-Dans4

La détermination de la sélectivité de Calix-Dans4 vis-à-vis du plomb nécessite de connaître l'ensemble des constantes de stabilité avec les autres cations considérés, ainsi que les effets photophysiques associés aux complexes correspondants. Une série de dosages a été effectuée en absorption et / ou fluorescence, et les faisceaux de courbes ont été ajustés numériquement grâce au logiciel SPECFITTM. Les constantes de stabilité ainsi que les spectres d'absorption et de fluorescence correspondant à chacun de ces complexes sont présentés dans le Tableau 2-2 et la Figure 2-8.

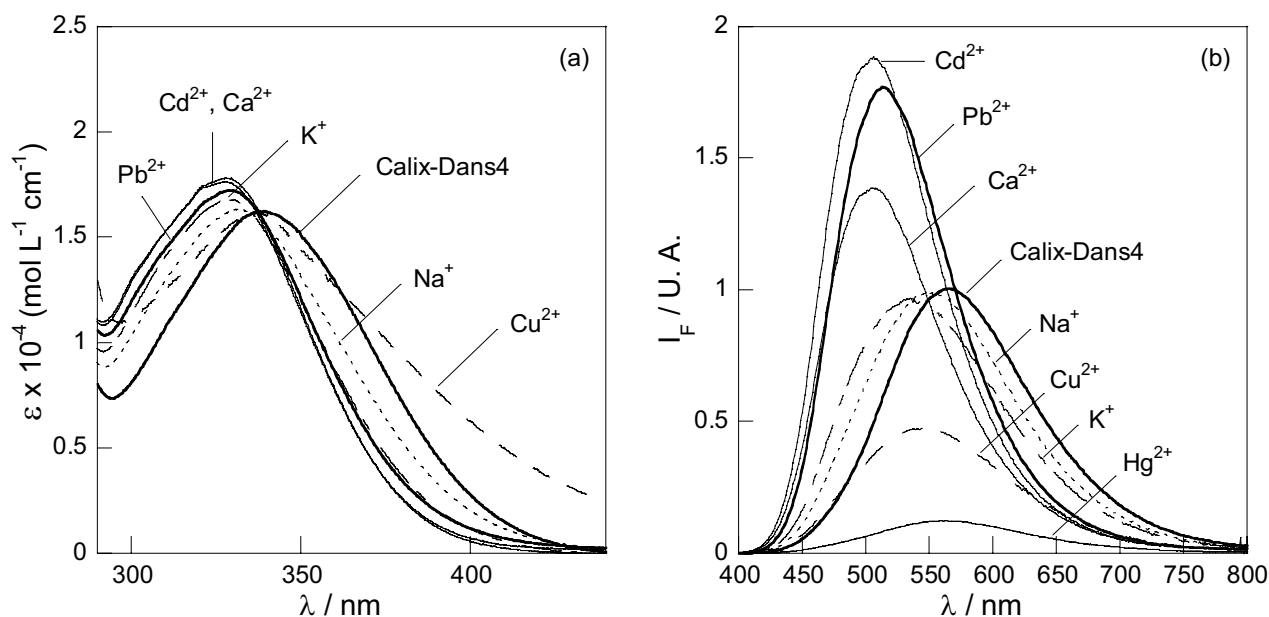


Figure 2-8. (a) Courbes des coefficients d'absorption molaire et (b) spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) du ligand L et de différents complexes métalliques ML de Calix-Dans4 reconstruits par le logiciel SPECFITTM à partir des faisceaux de courbes obtenus dans un solvant $\text{CH}_3\text{CN} / \text{H}_2\text{O}$ 6:4 à $\text{pH} = 5,2$ (tampon lutidine- HClO_4).

	$\log K_{\text{apparente}} \text{ (ML)}$	Sélectivité ^(a,b) $K(\text{Pb}^{2+}) / K(\text{M}^{n+})$		$\log K_{\text{apparente}} \text{ (ML)}$	Sélectivité ^(a,b) $K(\text{Pb}^{2+}) / K(\text{M}^{n+})$
Pb^{2+}	$33,5 \pm 1,5$ ^(c,d) $10,0 \pm 0,5$ ^(c)	– –	Zn^{2+}	–	–
Hg^{2+}	$5,89 \pm 0,07$ ^(e)	$2,6 \times 10^4$	Ca^{2+}	$7,40 \pm 0,28$ ^(c)	1250
Cd^{2+}	$7,24 \pm 0,08$ ^(f)	1150	K^+	$3,69 \pm 0,05$ ^(f)	$3,9 \times 10^6$
Cu^{2+}	$4,83 \pm 0,09$ ^(c)	$3,1 \times 10^5$	Na^+	$4,88 \pm 0,04$ ^(f)	$2,5 \times 10^5$

(a) calcul de sélectivité moyenne compte tenu des erreurs sur les constantes de stabilité ; (b) calcul de sélectivité avec $\log K(\text{Pb}^{2+}) = 10,0 \pm 0,5$; (c) détermination de $\log K$ par spectroscopies d'absorption et de fluorescence, (d) valeurs de $\log K$ pour un complexe M_2L_3 ; (e) détermination de $\log K$ par spectroscopie de fluorescence uniquement ; (f) détermination de $\log K$ par spectroscopie d'absorption uniquement.

Tableau 2-2. Constantes de complexation de Calix-Dans4 avec quelques cations compétitifs déterminées en absorption et / ou en fluorescence par le logiciel SPECFITTM dans un solvant $\text{CH}_3\text{CN} / \text{H}_2\text{O}$ 6:4 à $\text{pH} = 5,2$ (tampon lutidine- HClO_4).

La sélectivité thermodynamique vis-à-vis du plomb est supérieure à 1000 pour Ca^{2+} , Cd^{2+} et Hg^{2+} , voire même supérieure à 10^5 pour Na^+ , K^+ et Cu^{2+} . Seul Zn^{2+} ne présente aucune propriété de complexation. Il faut considérer ces valeurs comme une borne largement inférieure à la réalité puisqu'elles ne tiennent pas compte du complexe M_2L_3 extrêmement stable que Calix-Dans4 forme avec le plomb (un rapport de constante de stabilité pour plusieurs stoechiométries de complexes est sans signification). L'ajout de cuivre Cu^{2+} provoque une extinction modérée de la fluorescence et un faible déplacement spectral. Seul un léger déplacement de spectre est observé pour Na^+ et K^+ , révélateur d'une très faible interaction de ces cations avec Calix-Dans4. Enfin, Ca^{2+} et Cd^{2+} induisent des effets comparables à ceux du plomb. En particulier, le déplacement spectral est très prononcé, l'exaltation est du même ordre de grandeur que celle induite par Pb^{2+} . Ces deux cations représentent donc la principale interférence vis-à-vis du plomb.

Il devient donc évident, au vu des constantes de stabilité apparentes du Tableau 2-2 et des effets photophysiques associés aux différents complexes, que la sélectivité effective de Calix-Dans4 vis-à-vis du plomb est réduite en présence d'un grand excès de calcium ou de cadmium (1 mM) et la détection du plomb dans de tels milieux paraît difficilement envisageable. Néanmoins, l'utilisation de la sonde en présence de cations alcalins ou alcalino-terreux comme le sodium, le potassium et le calcium en faible quantité devrait être possible. L'étude des propriétés de ce ligand dans des conditions compatibles avec les expériences de biologie cellulaire réalisées dans le cadre du programme Toxicologie Nucléaire Environnementale est par conséquent une étape importante pour la valorisation de Calix-Dans4 comme fluoroionophore sélectif de plomb utilisable en biologie.

II. Fonctionnement de la sonde Calix-Dans4 en milieu aqueux à pH = 6

II.1. Conditions de milieu

Dans le but de pouvoir optimiser le fonctionnement de la sonde fluorescente Calix-Dans4, Elisabeth Mintz et son équipe du laboratoire de Biophysique Moléculaire et Cellulaire nous ont fourni un cahier des charges très précis, fixant les différentes caractéristiques du milieu d'utilisation de la sonde. L'ensemble de ces caractéristiques est récapitulé dans la figure ci-dessous.

Objectifs de l'utilisation de la sonde
<ul style="list-style-type: none"> • Mesure du plomb disponible dans différents milieux utilisés dans les expériences. • Mise en évidence d'un transport du plomb par une protéine (ATPase).
Nature et composition du milieu dans lequel la sonde est introduite
<ul style="list-style-type: none"> • Milieu : H₂O (addition possible de DMSO jusqu'à 20 % en volume). • Tampon de type MES, MOPS ou EPPS à 50 mM amené au pH voulu par la potasse ou la soude. Domaine de pH acceptable : 6 à 8. • Présence de KCl à hauteur de 100 à 200 mM (pouvant être supprimé, mais avec un effet inhibiteur probable sur le fonctionnement de l'ATPase). • Présence de MgCl₂ (le substrat de l'ATPase est le MgATP), en général 5 mM. • Présence d'ions calcium : [Ca²⁺] ~ 5 μM. • Présence d'ATP, de 10⁻⁶ à 10⁻³ M. • Présence de lambeaux et vésicules de membranes natives (protéines).
Domaine de concentration en plomb
<ul style="list-style-type: none"> • [Pb²⁺] ~ 1-100 μM initialement sous forme d'acétate de plomb.
Longueur d'onde d'excitation
<ul style="list-style-type: none"> • λ_{exc} > 350 nm (présence de protéines dans le milieu).

Figure 2-9. Cahiers des charges pour l'utilisation de la sonde Calix-Dans4 en milieu compatible avec la biologie par l'équipe d'Elisabeth Mintz (laboratoire de Biophysique Moléculaire et Cellulaire).

Les contraintes imposées par ce cahier des charges sont nombreuses. Tout d'abord, la principale exigence est l'utilisation d'un solvant très majoritairement aqueux. Seul le DMSO peut être utilisé comme co-solvant organique dans une limite de 20 % afin de solubiliser la sonde Calix-Dans4 dans le milieu d'étude. De plus, la détection de concentrations en plomb de l'ordre de la dizaine de micromoles par litre doit s'effectuer à un pH compris entre 6 et 8 pour que le fonctionnement de l'enzyme soit peu perturbé. Or, le pH optimal d'utilisation dans un milieu acétonitrile/eau 6:4 était de 5,2 afin de favoriser la complexation du plomb par la forme neutre du fluorophore dansyle, plutôt que la complexation par la forme basique déprotonnée. La présence de nombreux cations compétitifs, dont certains à de très fortes concentrations (K⁺ par exemple), est

également à prendre en compte et une forte concentration en ions chlorures peut s'avérer préjudiciable du fait de leur effet inhibiteur sur la fluorescence. Enfin, la longueur d'onde d'excitation doit être supérieure à 350 nm de manière à s'affranchir de l'autofluorescence du milieu biologique.

Ces différents facteurs ont été pris en compte successivement afin d'optimiser les conditions de fonctionnement de la sonde Calix-Dans4.

II.2. Optimisation du fonctionnement de la sonde

II.2.1. Préambule

Le cahier des charges requiert l'utilisation exclusive de l'eau comme solvant, le DMSO pouvant être utilisé conjointement dans des proportions inférieures à 20 %. Compte tenu de la faible solubilité de la sonde Calix-Dans4 dans l'eau, les premiers essais ont été réalisés avec le pourcentage maximal autorisé en DMSO, à savoir 20 %. Ce dernier peut néanmoins être abaissé jusqu'à 5 % sans que les problèmes de solubilité de la sonde ne deviennent gênants pour les mesures. Les expériences présentées par la suite ont donc été réalisées dans un milieu eau/DMSO 95:5 v/v.

Par ailleurs, il avait été démontré que le pH optimum pour la complexation était de 5,2. Celui-ci était fixé par l'utilisation d'un tampon lutidine-HClO₄, présentant l'avantage de ne pas faire intervenir de cations interférents. Afin de respecter le cahier des charges tout en se rapprochant le plus possible des conditions expérimentales précédemment optimisées, un milieu tamponné par le MES^a (50 mM) et ajusté à pH = 6 par ajout de soude NaOH, a été choisi.

Enfin, le thiocyanate de plomb Pb(SCN)₂ comme source de plomb(II) a été remplacé par de l'acétate de plomb Pb(OAc)₂. En effet, ce dernier est la source de plomb utilisée lors des expériences menées sur le fonctionnement de l'ATPase, et possède une meilleure solubilité que le thiocyanate de plomb en milieu aqueux.

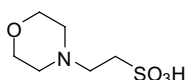
II.2.2. Etude en présence de chlorure de magnésium

Mise au point des conditions expérimentales

Des mesures préliminaires en absorption et en fluorescence stationnaire pour le ligand Calix-Dans4 sont réalisées dans les conditions suivantes : solvant eau/DMSO 95:5 à pH = 6,0 (tampon MES 50 mM ajusté par ajout de NaOH) en présence de chlorure de magnésium (5 mM). Elles conduisent à la mise en évidence d'une photodégradation relativement rapide de la sonde Calix-Dans4 dans des conditions d'éclairement standards. Ce phénomène est également observé en absence de chlorure de magnésium et dans des milieux plus riches en DMSO (20 % en volume).

En effet, le ligand Calix-Dans4 comporte quatre fonctions carboxysulfonamides. Dans la littérature, il a été montré que des composés similaires de type *N*-tosyle amide pouvaient être déprotégés photochimiquement en présence d'un photosensibilisateur (PDMBI) dans un solvant

^a MES = acide 2-morpholinoethanesulfonique



eau/acétonitrile 1:13 avec d'excellents rendements.²¹ Le mécanisme de photodégradation de Calix-Dans4 n'a cependant pas pu être déterminé mais se traduit vraisemblablement par la rupture de la liaison S-N de la fonction carboxysulfonamide. Expérimentalement, le pH et la proportion d'eau influent sur ce mécanisme mais il est difficile de savoir, d'un point de vue mécanistique, à quel niveau ces facteurs interviennent.

Afin de minimiser l'influence de ce phénomène et de ne mesurer que les effets dus à la complexation du ligand par le plomb, les conditions d'éclairement ont été optimisées de sorte que la puissance du faisceau incident n'induisse pas de photodégradation et permette la mesure d'un signal de fluorescence suffisamment intense. Le faisceau lumineux d'excitation est atténué par utilisation d'un filtre passe haut dont la transmittance à 380 nm a été mesurée à 0,72 %. Les fentes du monochromateur en excitation sont assez fines de manière à diminuer la quantité de lumière incidente (dispersion de 1,89 nm). La présence du filtre et l'utilisation de fentes étroites en excitation conduisent à une diminution drastique de la lumière incidente. Ce faisant, les fentes en émission sont choisies très larges (18,9 nm) de sorte à recueillir le maximum de photons émis et à avoir un rapport signal/bruit le plus élevé possible. Les temps d'intégration sont également allongés et la concentration en ligand est choisie relativement élevée (10 μM), quitte à exciter ce dernier dans la queue de sa bande d'absorption (à 380 nm).

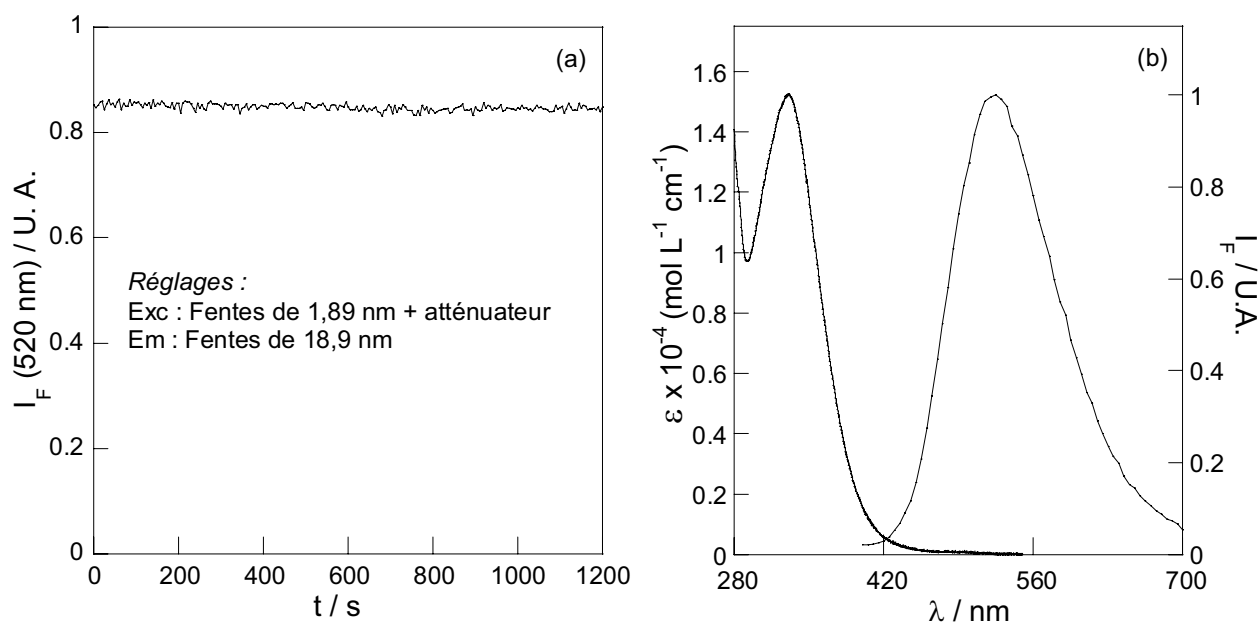


Figure 2-10. (a) Evolution de l'intensité de fluorescence à 520 nm en fonction du temps et (b) coefficient d'absorption molaire et spectre de fluorescence normé du ligand Calix-Dans4 (10 μM) dans un solvant $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 95:5 à pH = 6,0 (tampon MES-NaOH 50 mM) en présence de MgCl_2 (5 mM), $\lambda_{\text{exc}} = 380$ nm.

L'ensemble de ces optimisations permet de s'affranchir des problèmes de photodégradation de la sonde, comme le montre l'évolution de l'intensité de fluorescence de Calix-Dans4 à 520 nm en fonction du temps (Figure 2-10 (a)). La diminution de l'intensité de fluorescence est ainsi inférieure à 1 %, pour une exposition sur un intervalle de temps de 1200 s. Le spectre d'absorption et le spectre de fluorescence de Calix-Dans4 sont enregistrés dans ces conditions et présentés sur la Figure 2-10 (b).

Complexation du plomb

Au vu des résultats précédents, la complexation du plomb par le Calix-Dans4 dans un milieu eau/DMSO 95:5, tamponné par MES-NaOH (50 mM) à pH = 6 en présence de chlorure de magnésium (5 mM) a été effectuée. Les mesures en absorption et en émission sont réalisées dans les conditions d'éclairage décrites précédemment et la concentration en ligand est maintenue constante à 10 μM tout au long du dosage (*cf.* Figure 2-11).

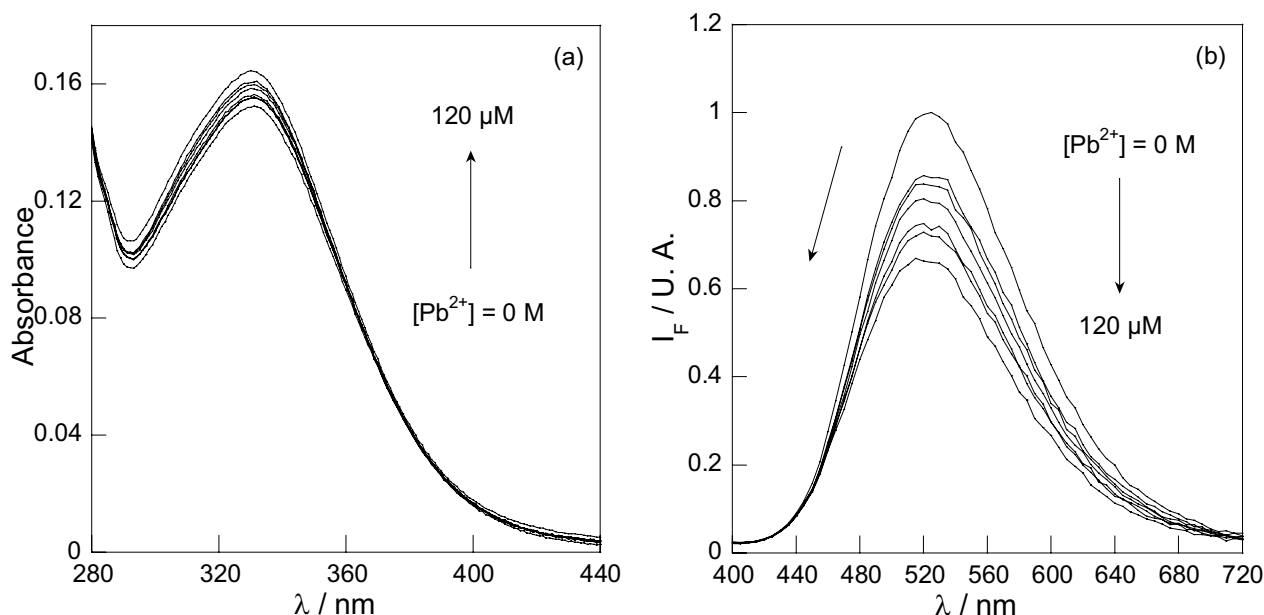


Figure 2-11. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) de Calix-Dans4 avec des ajouts croissants d'acétate de plomb dans un milieu eau/DMSO 95:5, tamponné par MES-NaOH (50 mM) à pH = 6 en présence de chlorure de magnésium (5 mM).

La complexation du ligand Calix-Dans4 par le plomb induit une légère augmentation du coefficient d'absorption molaire du ligand et s'accompagne d'une inhibition de la fluorescence (diminution de 35 % de l'intensité de fluorescence à 520 nm). Un léger déplacement spectral vers les faibles longueurs d'onde est observé : en absence de plomb, le maximum de l'intensité de fluorescence se situe à 525 nm, tandis que la présence de plomb à une concentration de 120 μM le déplace à 515 nm. Néanmoins, si le déplacement spectral en émission est significatif, sa valeur n'est qu'indicative compte tenu de la largeur des fentes utilisées en émission (18,9 nm).

A titre de comparaison avec les résultats en milieu $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 6:4 à pH = 5,2, les effets photophysiques sont beaucoup moins importants en terme de déplacement spectral et une inhibition de fluorescence est observée au lieu d'une exaltation. Cela peut s'expliquer par la proportion plus importante de fluorophores déprotonnés à pH = 6. La complexation du plomb ne s'accompagnant pas d'une déprotonation des fluorophores dansyles, les effets photophysiques observés sont de moindre ampleur. Enfin, la saturation du ligand intervient bien au delà d'un équivalent de plomb ajouté ($[\text{Pb}^{2+}] > 150 \mu\text{M}$). L'ajustement numérique des spectres de fluorescence à l'aide du logiciel SPECFITTM permet d'accéder, en utilisant un modèle faisant intervenir un unique complexe de stoechiométrie 1:1, à la valeur de la constante de formation β_{11} du complexe ML dans ces conditions expérimentales ($\log \beta_{11} = 5,1 \pm 0,2$) et aux spectres de chacune des espèces (*cf.* Figure

2-13(b)). La constante de complexation dans ce milieu dont la proportion en eau est plus élevée, est fort logiquement plus faible que lors des manipulations avec 60 % d'acétonitrile.

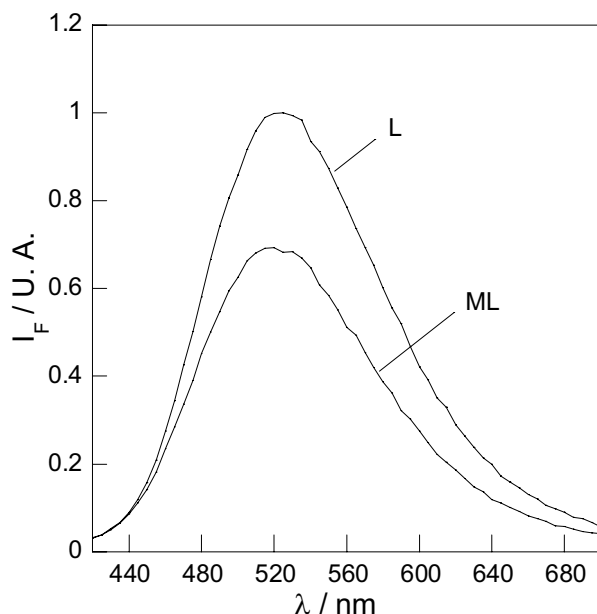


Figure 2-12. Spectres de fluorescence reconstruits avec le logiciel SPECFITTM du ligand Calix-Dans4 et du complexe de plomb ML dans un milieu eau/DMSO 95:5, tamponné par MES-NaOH (50 mM) à pH = 6 en présence de chlorure de magnésium (5 mM).

Courbe de calibration

Même si le déplacement spectral demeure relativement faible, il est possible d'effectuer une mesure ratiométrique de la fluorescence à deux longueurs d'onde d'émission caractérisant le déplacement spectral.

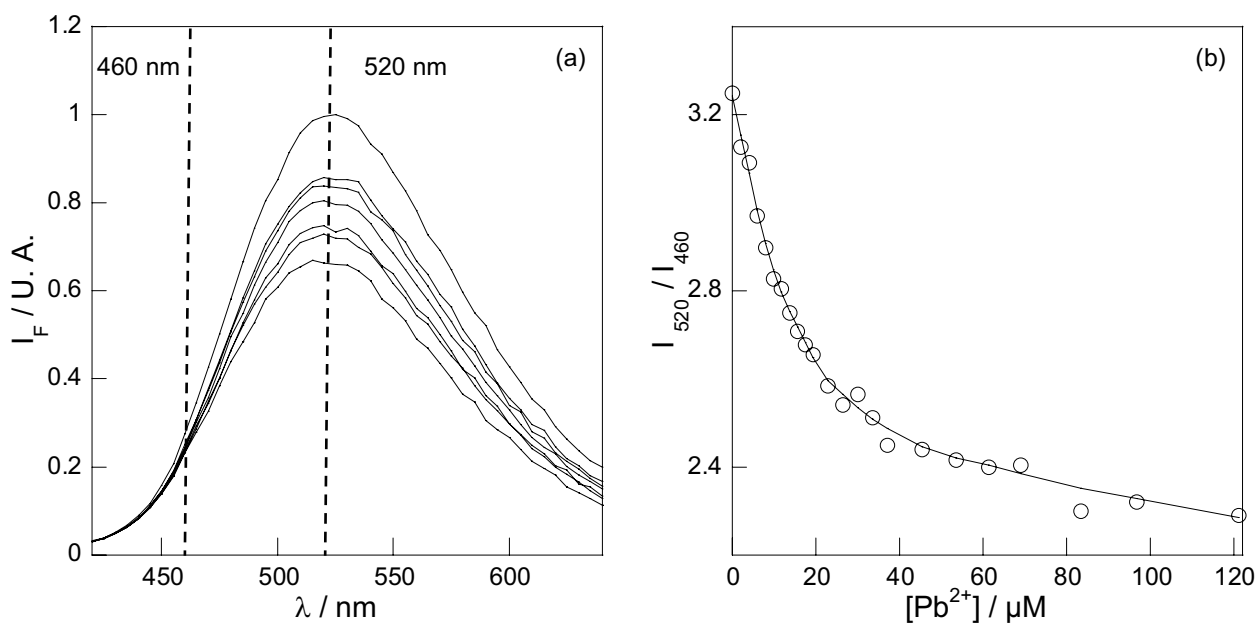


Figure 2-13. (a) Spectres de fluorescence et (b) courbe de calibration du composé Calix-Dans4 pour la détection du plomb par fluorimétrie stationnaire ($[L] = 10 \mu\text{M}$) dans un solvant $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 95:5 à pH = 6,0 (tampon MES-NaOH 50 mM) en présence de MgCl_2 (5 mM).

Pour des concentrations en plomb entre 0 et 120 μM , le rapport des intensités de fluorescence à 520 nm et 460 nm est enregistré. A chaque longueur d'onde, le nombre de photons émis est mesuré par intégration sur un intervalle de temps étendu (30 secondes) afin de minimiser les erreurs de mesure. La courbe de calibration obtenue est reportée sur la Figure 2-13. Le rapport entre l'intensité de fluorescence à 520 nm et 460 nm permet une mesure relativement précise de la concentration en plomb du milieu dans un intervalle compris entre 0 et 40 μM . Dans cette gamme de concentration, la variation du rapport d'intensité est suffisamment importante pour que les erreurs de mesure ne constituent pas un facteur limitant. A l'inverse, passé 40 μM , les variations deviennent trop faibles pour déduire de manière précise la concentration en plomb par la mesure du rapport d'intensité de fluorescence.

II.2.3. Etude en présence de chlorure de potassium

Le cahier des charges indique l'ajout éventuel de chlorure de potassium à des concentrations très élevées (entre 0,1 et 0,2 M). L'influence de ce paramètre a donc été étudiée. L'évolution de l'intensité de fluorescence à 520 nm montre un phénomène de photodégradation accru, par rapport à ce qu'il peut être en absence de chlorure de potassium, et ce dans des conditions d'éclairement identiques (fentes et atténuateur optique compris). Ainsi, pour une exposition de 20 minutes, la diminution relative de l'intensité de fluorescence atteint 5 %. Une telle diminution est trop importante pour justifier des essais poussés de complexation du plomb dans ce milieu : les effets liés à la complexation du plomb ne sont pas suffisants comparativement à la photodégradation.

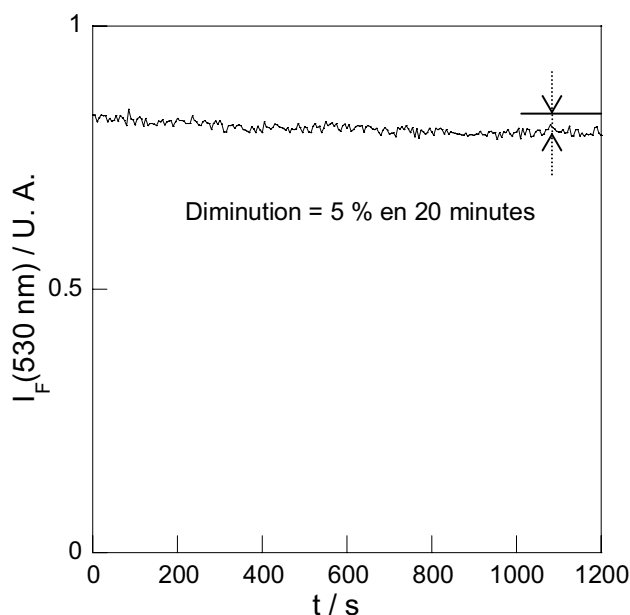


Figure 2-14. Evolution de l'intensité de fluorescence à 520 nm pour de Calix-Dans4 (10 μM) dans un solvant $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ 95:5 à pH = 6,0 (tampon MES-NaOH 50 mM) en présence de MgCl_2 (5 mM) et de KCl (0,1 M).

II.2.4. Conclusion sur le composé Calix-Dans4 et perspectives

La sonde Calix-Dans4, mise au point au laboratoire, s'est révélée être une sonde particulièrement sensible et sélective du plomb en milieu eau/acétonitrile 40:60, à un pH de 5,2. Cependant, son utilisation dans un cadre biologique nous a obligés à optimiser son fonctionnement pour des milieux

majoritairement aqueux (au maximum 20 % de DMSO), à des pH compris entre 6 et 8 et en présence de cations interférents (magnésium, potassium). Des phénomènes de photodégradation particulièrement gênants ont été résolus en se plaçant dans des conditions d'éclairement adaptées. Il a ainsi été possible de tracer une courbe de calibration permettant d'accéder à la concentration du plomb dans un milieu eau/DMSO 95:5 tamponné à pH 6 (MES-NaOH 50 mM), en présence de chlorure de magnésium (5 mM). La complexation se traduisant par une inhibition de la fluorescence et un léger déplacement spectral, la simple mesure du rapport entre les intensités de fluorescence à 520 et 460 nm autorise la mesure de la concentration en plomb du milieu dans un domaine s'étendant jusqu'à 40 μ M. La mesure de concentrations supérieures se révèle par contre impossible. Bien que l'ajout de chlorure de potassium ait été dans un premier temps considéré facultatif par E. Mintz et son équipe, il s'est par la suite révélé indispensable au fonctionnement de l'enzyme de type ATPase. Dans le cadre de cette étude, le composé Calix-Dans4 n'est donc pas adapté à de telles conditions expérimentales.

Plusieurs conclusions s'imposent à l'issue des études menées sur le composé Calix-Dans4. Tout d'abord, certaines caractéristiques, telles que le squelette calixarène avec quatre atomes d'azote complexant, confèrent à ce ligand une excellente sensibilité et une très bonne sélectivité dans un milieu adapté. Cependant, les fonctions carboxysulfonamides sont majoritairement déprotonnées aux alentours du pH physiologique et peu d'effets sont observés lors de la complexation du plomb par Calix-Dans4. Du point de vue de la stabilité photochimique, elles se clivent rapidement sous irradiation à pH = 6 et la longueur d'onde d'excitation des fluorophores dansyle demeure relativement basse (maximum d'absorption aux alentours de 350 nm). Ceci peut s'avérer particulièrement gênant pour des applications en imagerie. La synthèse d'analogues de Calix-Dans4 (comportant quatre atomes d'azote complexants) plus stables photochimiquement, peu sensibles aux variations de pH entre 6 et 8 et, si possible, excitables au-delà de 400 nm doit donc être envisagée.

III. Synthèse et étude de nouveaux calixarènes comportant quatre atomes d'azote complexants

Cette partie est consacrée à la synthèse et à l'étude de nouveaux fluoroionophores potentiellement complexant du plomb. Le point commun entre les différents composés présentés dans cette partie est la présence pour chacun d'entre eux de quatre atomes d'azote complexants. L'objectif est de bénéficier de l'effet d'activation de la paire inerte du plomb et ainsi former sélectivement des complexes particulièrement stables.

III.1. Etude d'un analogue non carbonylé de Calix-Dans4 : Calix-DNS4

III.1.1. Ingénierie moléculaire et analyse rétrosynthétique

Conception de Calix-DNS4

Le composé Calix-Dans4 possède quatre fonctions carboxysulfonamides, majoritairement déprotonnées en milieu aqueux à pH = 6 et relativement photosensibles dans ces conditions. En supprimant le groupe carbonylé en α de la fonction sulfonamide, l'acidité du proton lié à l'atome d'azote $\text{SO}_2\text{-NH}$ est beaucoup plus faible. Alors que le pK_a des protons des fonctions carboxysulfonamides a été mesuré à $6,32 \pm 0,05$ pour le composé **13**,²² Shiro *et al.* ont reporté des valeurs bien supérieures de l'ordre de 10,7 pour des fluoroionophores comportant un groupement dansyle greffé sur un macrocycle de type cyclame.^{23,24}

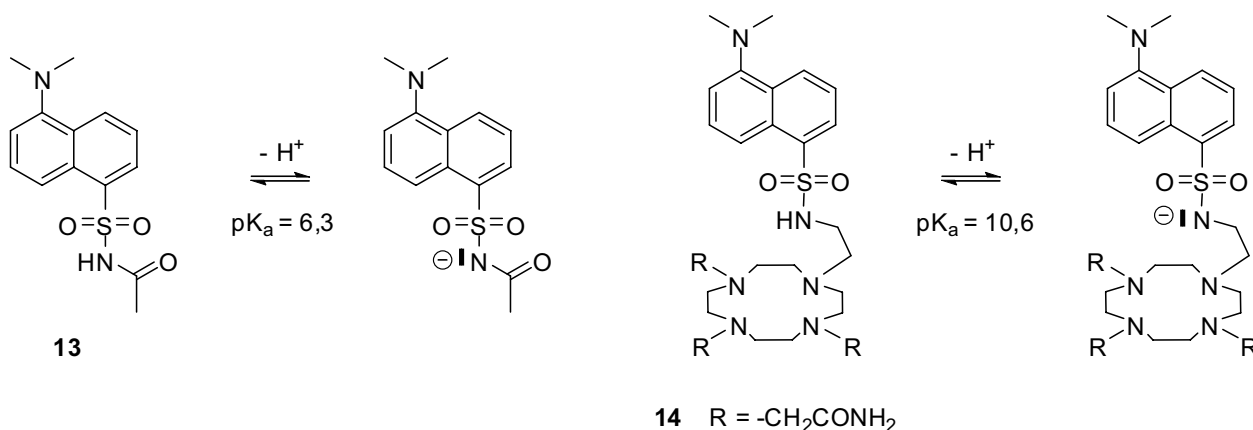


Figure 2-15. Constantes d'acidité de la fonction sulfonamide dans différents fluoroionophores.

Au pH physiologique et en l'absence de groupement carbonyle en position α , les fonctions sulfonamides du groupement dansyle sont protonées. En revanche, il a été montré, qu'avec certains cations (zinc, cuivre, lanthanides), la complexation au sein de la couronne azotée s'effectue à pH neutre de manière concomitante avec la déprotonation de la fonction sulfonamide. Elle s'accompagne d'importants changements dans le spectre d'émission du ligand.^{23,24,25} Enfin, ces exemples issus de la littérature ne mentionnent pas d'éventuels problèmes de photostabilité.

La synthèse d'un fluoroionophore analogue à Calix-Dans4 dont les fonctions carboxysulfonamides sont remplacées par de simples fonctions sulfonamides, a donc été entreprise.

Analyse rétrosynthétique pour le composé Calix-DNS4

Le greffage d'un groupement dansyle peut s'effectuer de deux manières différentes : soit par substitution ou addition nucléophile de l'anion du dansylamide sur un composé électrophile (chlorure d'acide,²⁶ dérivé bromé²⁷), soit par réaction du chlorure de dansyle avec une amine dans des conditions basiques.^{28,29,30} La seconde voie est la plus couramment décrite et permet l'obtention du produit désiré avec de bons rendements. Ainsi, le composé Calix-DNS4 peut être obtenu à partir du chlorure de dansyle et du calixarène tétraamine **15**.

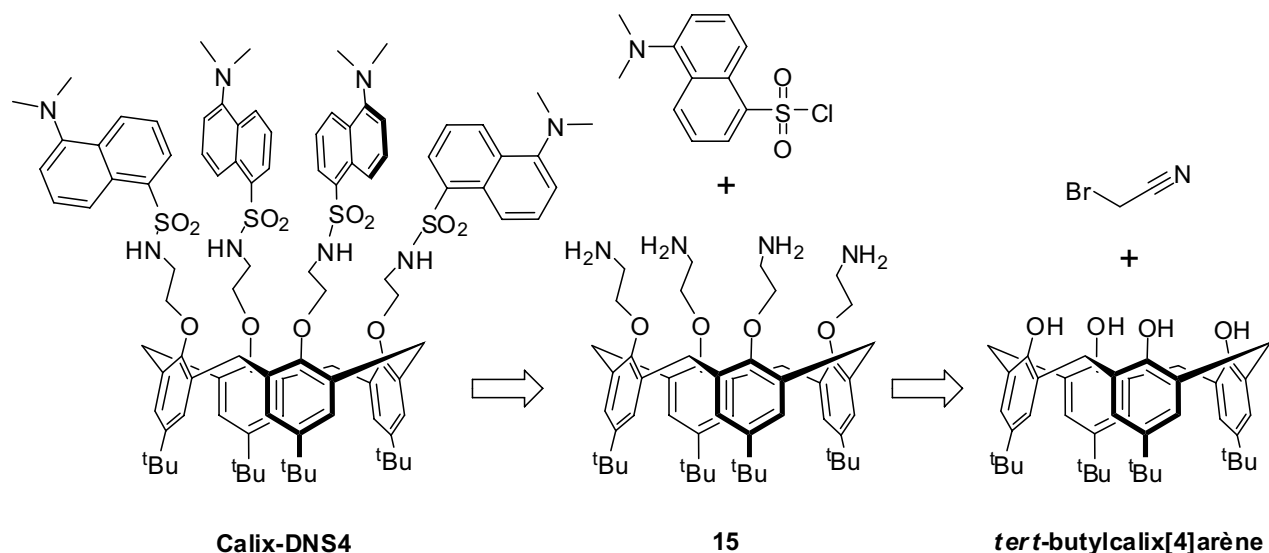


Figure 2-16. Analyse rétrosynthétique pour l'obtention du composé Calix-DNS4.

Deux voies de synthèse sont envisageables pour la synthèse de l'intermédiaire tétraaminé **15** à partir du tert-butylcalix[4]arène. Toutes deux consistent à fonctionnaliser le squelette calixarène par des précurseurs des fonctions amines. Barbosa *et al.* ont opté pour des fonctions azides dont le greffage s'effectue par action de NaN_3 sur un calixarène tétrasosylé.³¹ L'hydrogénation de ce composé en présence de palladium sur charbon conduit au produit désiré avec un bon rendement. Néanmoins, l'obtention du calixarène tosylé nécessite plusieurs étapes de synthèse, et une synthèse plus rapide de **15** a été mise au point par Halouani *et al.* : la substitution nucléophile entre le tert-butylcalix[4]arène et le bromoacétonitrile conduit en deux étapes à un intermédiaire tétracyané dont la réduction fournit **15** avec un bon rendement.³² C'est cette dernière voie qui a été choisie.

III.1.2. Synthèse de l'analogue Calix-DNS4

La synthèse de Calix-DNS4 s'effectue en 4 étapes à partir du tert-butylcalix[4]arène (*cf.* Figure 2-17). La substitution nucléophile du calixarène sur le bromoacétonitrile en présence de carbonate de potassium au reflux de l'acétonitrile conduit à la formation du dérivé dicyané **16** avec un rendement de 75 %. Le composé tétrasubstitué **17** ne peut être obtenu directement dans ces conditions opératoires, même avec un fort excès d'agent alkylant. Bien que des conditions basiques plus dures (NaH dans le DMF à 75 °C) soient utilisées pour l'obtention de **17** à partir de **16**, le rendement de cette étape demeure modeste (35 %). La réduction des fonctions nitriles est réalisée dans des conditions standards³³ : réduction par le borane-THF dans le THF anhydre, puis hydrolyse à chaud en milieu acide (HCl 6M). L'intermédiaire tétraaminé **15** est obtenu avec un rendement de

33 %. La dernière étape est le greffage des fluorophores dansyles sur le calixarène. Dans le dichlorométhane à température ambiante en présence d'une amine tertiaire (triéthylamine), la réaction d'un excès de chlorure de dansyle sur **15** permet la formation du composé tétrasubstitué Calix-DNS4 avec un bon rendement de 69 %.

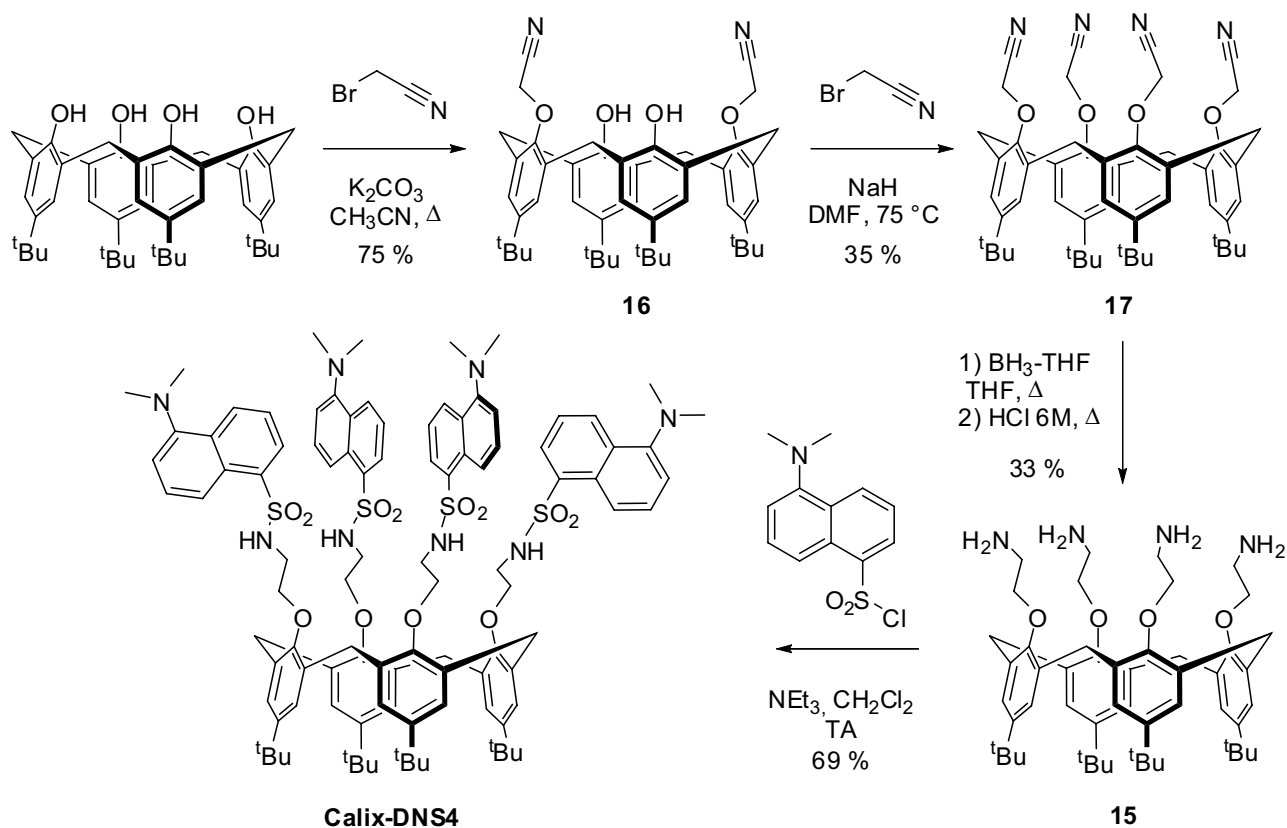


Figure 2-17. Synthèse du composé Calix-DNS4.

Un composé dansyle substitué par une chaîne butyle (Dans-Bu) a également été synthétisé afin de pouvoir comparer les propriétés photophysiques du calixarène Calix-DNS4 avec le composé modèle ainsi obtenu et le dansylamide commercial. En présence de NEt_3 dans CH_2Cl_2 à température ambiante, la *n*-butylamine réagit avec le chlorure de dansyle pour former Dans-Bu avec un rendement de 65 %.

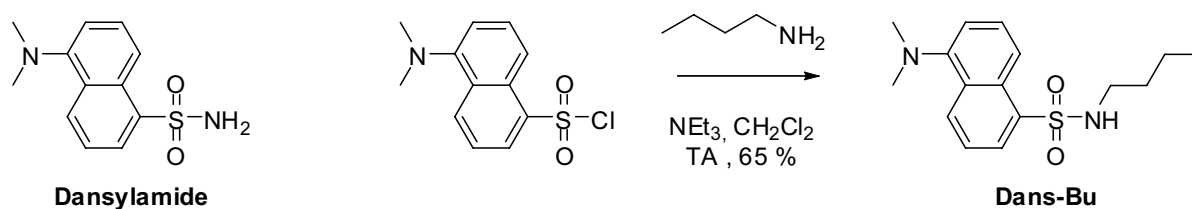


Figure 2-18. Formule du dansylamide et synthèse du composé modèle Dans-Bu.

III.1.3. Propriétés complexantes de Calix-DNS4

L'étude des propriétés complexantes de Calix-DNS4 vis-à-vis du plomb et de différents cations a été réalisée dans différents milieux, afin de vérifier en particulier si ce composé est susceptible de répondre aux exigences du cahier des charges rédigé par Elisabeth Mintz.

Etude préliminaire de Calix-DNS4 dans l'acétonitrile

Les propriétés complexantes du ligand Calix-DNS4 ont tout d'abord été étudiées dans l'acétonitrile. Ce solvant présente l'avantage de solubiliser aisément les composés organiques, tout comme certains sels métalliques et sa constante diélectrique est suffisante pour tester la complexation de façon satisfaisante.

Les spectres d'absorption et de fluorescence stationnaire du dansylamide, des composés Dans-Bu et Calix-DNS4 sont enregistrés (*cf.* Figure 2-19). Les spectres d'absorption de ces trois composés diffèrent peu (pas de déplacement spectral), et le coefficient d'absorption molaire de Calix-DNS4 est égal à quatre fois celui du composé modèle Dans-Bu aux erreurs expérimentales près. La chaîne alkyle sur l'azote du dansylamide n'a donc que peu d'effet sur les propriétés en absorption, et les fluorophores de Calix-DNS4 sont indépendants à l'état fondamental.

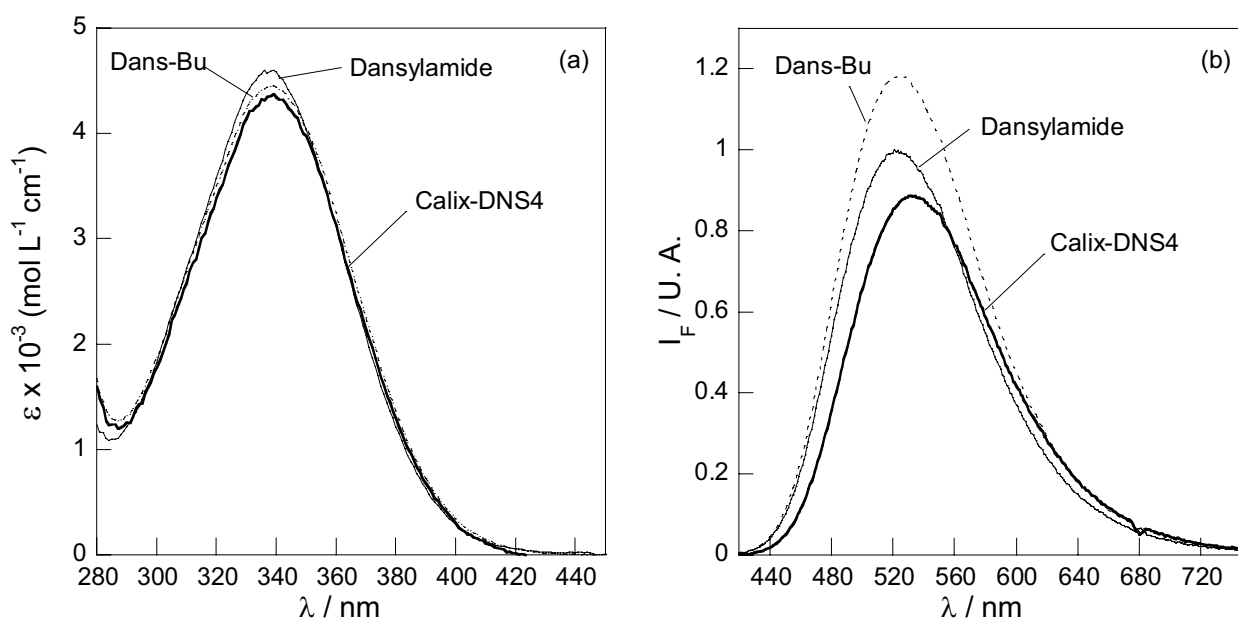


Figure 2-19. (a) Coefficients d'absorption molaire ramenés à un groupement dansyle et (b) spectres de fluorescence ($\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$) des composés dansylamide, Dans-Bu et Calix-DNS4 dans l'acétonitrile.

	Dansylamide	Dans-Bu	Calix-DNS4
$\lambda_{max}^{abs} \text{ (nm)}$	339 ± 1	339 ± 1	339 ± 1
$\epsilon \text{ (mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}\text{)}$	4600 ± 100	4450 ± 100	17500 ± 400
$\lambda_{max}^{em} \text{ (nm)}$	521 ± 1	524 ± 1	533 ± 1
Φ_F	$0,37 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,04$	$0,34 \pm 0,03$

Tableau 2-3. Paramètres photophysiques des composés dansylamide, Dans-Bu, Calix-DNS4 dans CH_3CN .

En revanche, les paramètres photophysiques en émission de Calix-DNS4 diffèrent de ceux mesurés pour les composés modèles Dans-Bu et le dansylamide. Le rendement quantique de fluorescence de Dans-Bu est plus élevé que celui du dansylamide et les spectres sont légèrement déplacés vers le rouge. Ces effets sont attribués à la chaîne alkyle, dont la présence provoque une modification du transfert de charge photoinduit entre le groupe diméthylamino donneur et le groupe sulfonamide accepteur. Un changement de polarité du micro-environnement dû au groupement butyle ne saurait expliquer ce phénomène dans la mesure où une diminution de la polarité aurait

entraîné un déplacement spectral vers le bleu. Concernant la comparaison entre Dans-Bu et Calix-DNS4, le déplacement hypsochrome est important (11 nm), et une diminution du rendement quantique de fluorescence est observée. A l'instar de ce qui a été montré pour le composé Calix-Dans4, des interactions à l'état excité entre fluorophores du squelette calixarène sont susceptibles d'expliquer de tels effets (transfert d'énergie entre fluorophores par exemple).¹⁷

Complexation du plomb dans l'acétonitrile

Des essais préliminaires de complexation du plomb par le composé Calix-DNS4 ont été réalisés dans l'acétonitrile par ajouts successifs d'une solution concentrée de perchlorate de plomb. D'importants effets photophysiques ont été observés en absorption et en émission. Ainsi, l'intensité de la bande à transfert de charge centrée à 339 nm diminue fortement au profit d'une bande à 280 nm laissant apparaître une structure vibrationnelle proche de celle du naphthalène et un point isosbestique à 309 nm. Ce phénomène s'accompagne d'une inhibition de la fluorescence et d'un léger déplacement hypsochrome des spectres d'émission (4 nm environ).

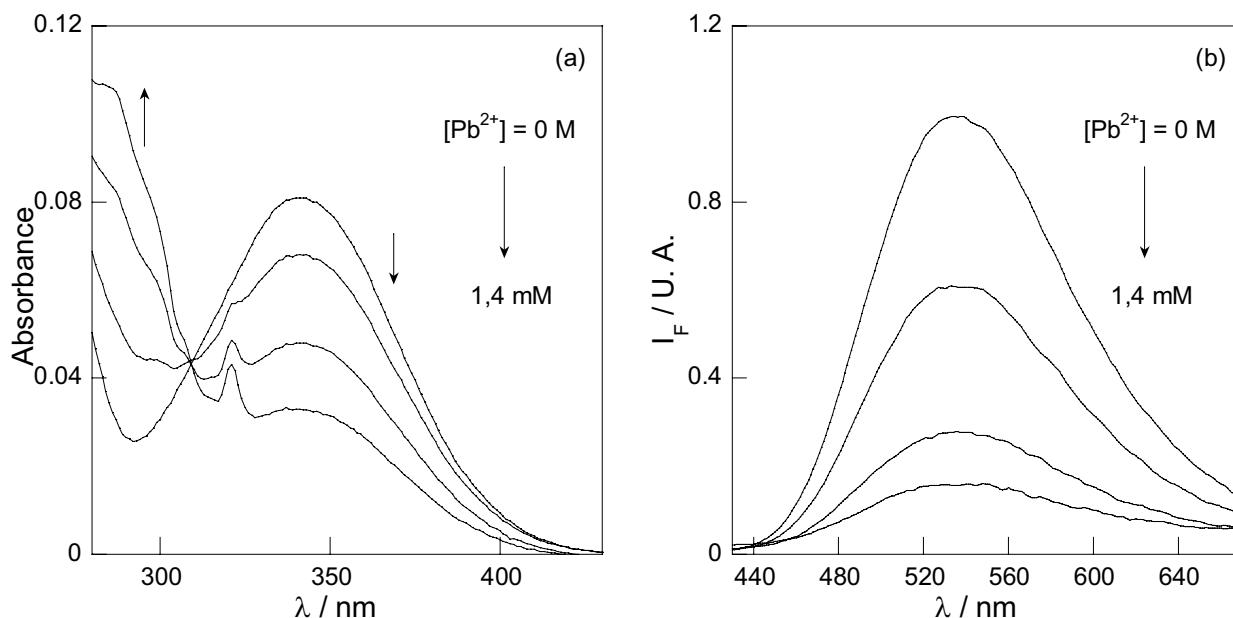


Figure 2-20. (a) Spectres d'absorption du ligand Calix-DNS4 et (b) spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance avec l'ajout de perchlorate de plomb dans l'acétonitrile ($[L] = 4,6 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 340 \text{ nm}$).

La complexation du plomb par l'azote des fonctions sulfonamides s'accompagne d'une déprotonation qui provoque l'acidification de la solution. Dans ces conditions, le groupement diméthylamino du fluorophore dansyle se protone, ce qui provoque l'inhibition du transfert de charge photoinduit (*cf.* Figure 2-21). Les spectres d'absorption et de fluorescence du ligand Calix-DNS4 en présence de plomb sont d'ailleurs similaires à ceux des dérivés du dansylamide en milieu très acide lorsque le groupement diméthylamino est protoné.

En ce qui concerne l'efficacité de la complexation, il est nécessaire d'ajouter un large excès de plomb pour observer des changements significatifs des propriétés photophysiques du ligand, alors que la saturation était atteinte pour quelques équivalents de plomb avec Calix-Dans4. Cela laisse supposer que la constante de complexation du plomb par Calix-DNS4 dans l'acétonitrile n'est pas très élevée. Les propriétés complexantes de Calix-DNS4 en milieu organo-aqueux ont néanmoins été testées.

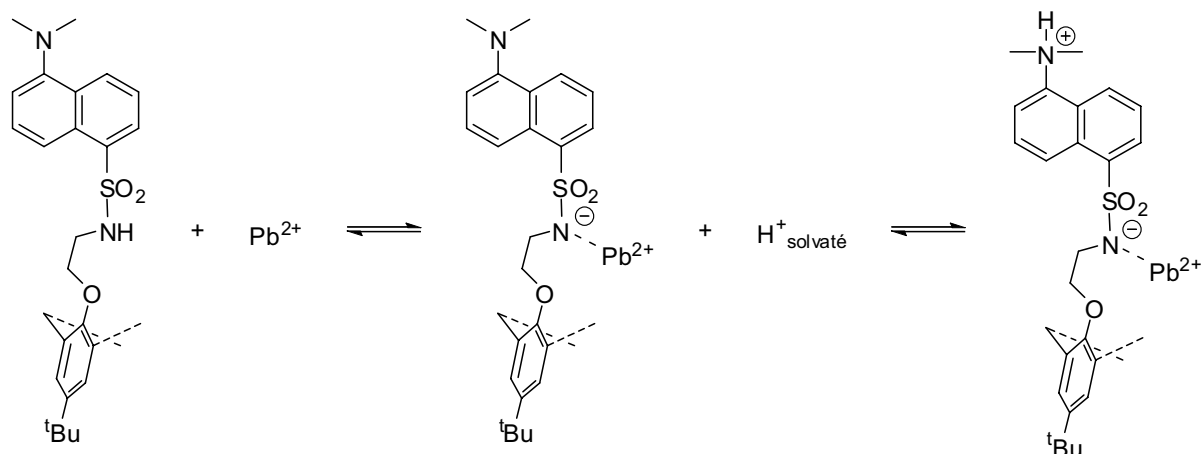


Figure 2-21. Déprotonation de la fonction dansylamide induite par complexation dans l'acétonitrile.

Complexation de différents métaux en milieu organo-aqueux

Les essais ont été menés dans les mêmes conditions de solvant que celles utilisées pour le composé Calix-Dans4 : mélange eau/DMSO 95:5 tamponné par du MES (50 mM) et ajusté à $pH = 7$ par de la soude NaOH. Dans ce milieu, Calix-DNS4 est peu soluble et un précipité apparaît dans les cuves de mesure. L'augmentation du pourcentage de DMSO jusqu'à 20 %, comme le permet le cahier des charges d'Elisabeth Mintz ne permet pas non plus de solubiliser convenablement la sonde. Cette différence de solubilité entre Calix-Dans4 et Calix-DNS4 peut s'expliquer par la différence d'acidité des protons des fonctions sulfonamides entre les deux composés. Alors que la plupart des fluorophores de Calix-Dans4 sont déprotonés à $pH = 7$, ceux de Calix-DNS ne le sont pas et le composé est particulièrement hydrophobe.

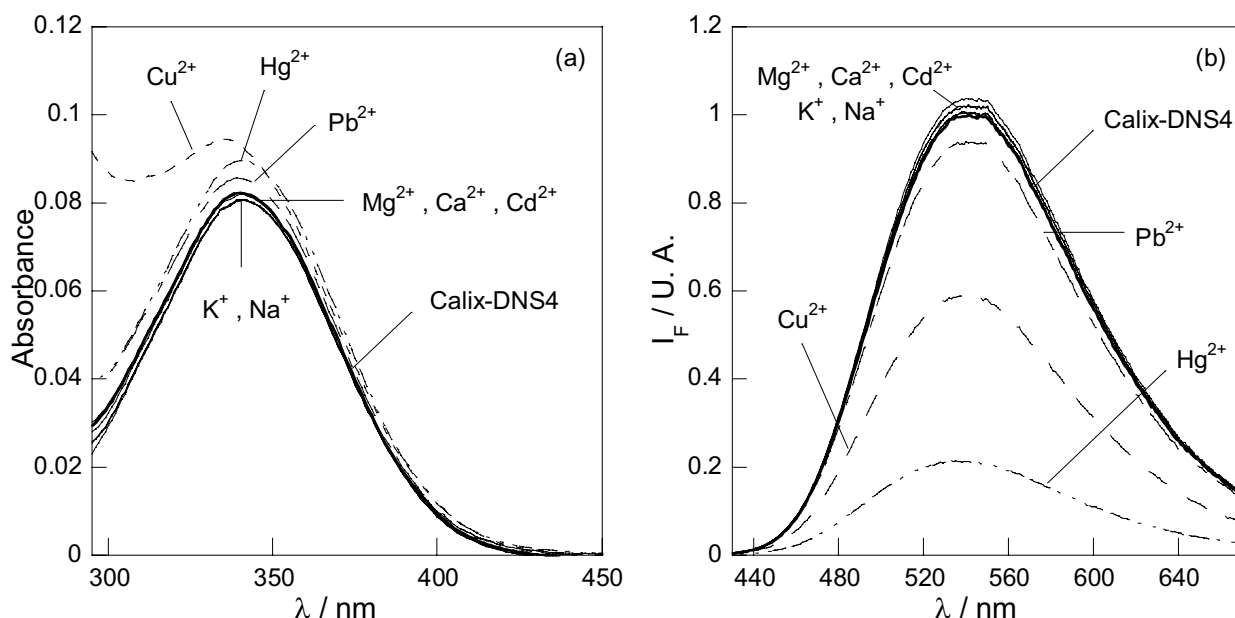


Figure 2-22. (a) Spectres d'absorption et (b) spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance de Calix-DNS4 dans un milieu H_2O/CH_3CN 1:9 à $pH = 7$ (tampon lutidine- $HClO_4$ 50 mM) en présence de différents cations : $[Hg^{2+}] = 20 \mu M$, $[Cd^{2+}] = 50 \mu M$, $[Pb^{2+}] = 90 \mu M$, $[Cu^{2+}] = 140 \mu M$, $[K^+] = [Na^+] = [Ca^{2+}] = [Mg^{2+}] = 1 mM$; $[L] = 4,7 \mu M$; $\lambda_{exc} = 340 nm$.

En optant pour l'acétonitrile comme co-solvant et en augmentant le pourcentage de solvant organique jusqu'à 90 %, la solubilité de Dalix-DNS4 est suffisante pour évaluer les propriétés complexantes vis-à-vis de différents cations. Afin de ne pas être en présence de cations interférents apportés par le tampon à pH = 7, le MES-NaOH est remplacé par un tampon lutidine-HClO₄. Dans ce milieu, le plomb ne provoque quasiment aucune modification spectrale, et ce pour une concentration de 90 μM. Quant aux cations alcalins (Na⁺, K⁺) et alcalino-terreux (Ca²⁺, Mg²⁺), ils n'induisent pas d'effets significatifs pour des concentrations égales à 1 mM. D'autres cations métalliques ont été testés. Ainsi, Cd²⁺ (50 μM) ne modifie pas les propriétés photophysiques du ligand à l'inverse de Cu²⁺ et Hg²⁺ pour lesquels une inhibition de fluorescence (phénomène courant avec ces deux cations) est observée.

Les effets photophysiques les plus significatifs sont clairement obtenus avec le mercure. Néanmoins, la constante de stabilité du complexe formé par Calix-DNS4 avec le mercure n'a pas pu être déterminée de manière rigoureuse à cause de problèmes de solubilité des sels de mercure dans le milieu d'étude.

III.1.4. Conclusion sur le composé Calix-DNS4

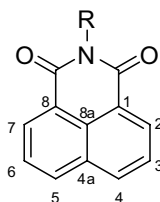
Les modifications spectrales observées pour le composé Calix-DNS4 en présence d'un large excès de cation sont très faibles, dans un milieu où le pourcentage d'eau ne représente pourtant que 10 %. Comme le laissait supposer le comportement observé dans l'acétonitrile, l'affinité de Calix-DNS4 pour le plomb est donc relativement faible par rapport à celle de Calix-Dans4. Ce résultat souligne l'influence des fonctions carbonyles en α des groupements sulfonamides sur les propriétés électroniques des atomes d'azote complexants et par conséquent sur l'exceptionnelle affinité de Calix-Dans4 pour le plomb. Pour le composé Calix-DNS4, le plomb n'est sans doute pas capable d'entraîner le départ des hydrogènes des fonctions sulfonamides, beaucoup moins labiles que leurs analogues dans le composé carbonylé Calix-Dans4.

L'utilisation de Calix-DNS4 comme sonde de plomb ne peut par conséquent pas être envisagée. Une nouvelle approche pour la conception de nouveaux fluoroionophores sélectifs du plomb s'impose alors, avec si possible une longueur d'onde d'excitation supérieure à 400 nm.

III.2. Etude de calixarènes azotés excitables au-delà de 400 nm

Dans cette partie seront décrites la synthèse et l'étude des propriétés photophysiques et complexantes de nouveaux fluoroionophores excitables au-delà de 400 nm, dans l'optique d'une application à la détection du plomb par fluorescence. En ce qui concerne la partie ionophore, le choix a été fait de conserver quatre atomes d'azote complexants sur une structure calixarène. Pour ce qui est de la partie fluorophore excitable à des longueurs d'onde supérieures à 400 nm, les 1,8-naphtalimides sont de bons candidats.

III.2.1. Rappels sur fluorophores 1,8-naphtalimides



Avec un rendement quantique élevé, une très bonne stabilité photochimique, une longueur d'onde d'excitation supérieure à 400 nm lorsque le groupe en position 4 sur le noyau naphtyle est de type amino-alkyle, et la possibilité d'une utilisation en milieu aqueux sans effet notable du pH, les 1,8-naphtalimides possèdent de nombreux avantages. Facilement accessibles à partir d'anhydrides commerciaux

substitués en position 4 par des groupements nitro, sulfonates ou halogénés, leur fonctionnalisation au niveau du cycle anthracène ou de l'azote du groupement naphthalimide conduit à une très grande variété de composés aux applications multiples : colorants lasers,³⁴ colorants fluorescents pour systèmes d'affichage à cristaux liquides,³⁵ polymères fluorescents,³⁶ polymères pour la détection de nitroaromatiques,³⁷ senseurs d'anions,³⁸ ou de cations (*cf.* paragraphes ci-dessous).

Fluoroionophores naphthalimides de type PET

Il existe dans la littérature de nombreux exemples de fluoroionophores sélectifs de cations comportant un motif naphthalimide comme transducteur fluorescent. Pour la plupart de ces composés, la modification du transfert d'électron photoinduit entre une fonction amine participant à la complexation et le fluorophore naphthalimide provoque une augmentation du rendement quantique de fluorescence en présence d'un cation. De Silva *et al.* ont montré que ce transfert d'électron s'effectue préférentiellement lorsque cet atome d'azote se situe sur le groupement greffé en position 4 du noyau naphthalène.³⁹ Aussi, la plupart des fluoroionophores de type PET décrits sont fonctionnalisés par une entité complexante greffée sur cette position, même s'il existe quelques exemples de composés de type PET où l'atome d'azote impliqué dans le transfert d'électron appartient à la chaîne greffée via l'azote de la fonction naphthalimide.^{40,41,42}

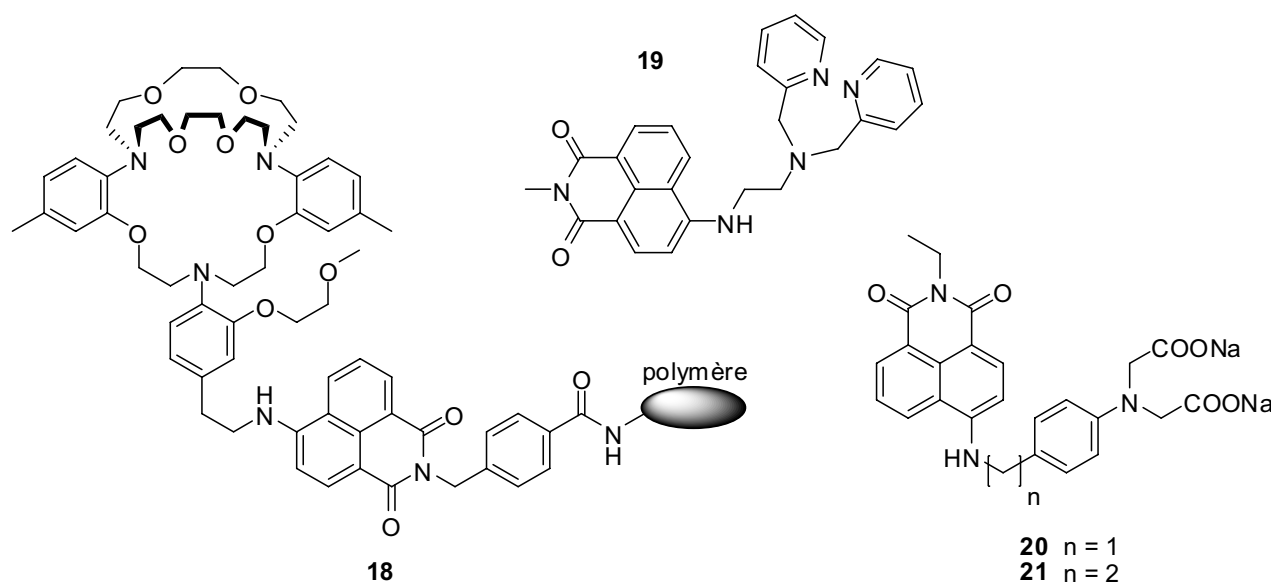


Figure 2-23. Exemples de fluoroionophores naphthalimides sélectifs de cations de type PET.

Ainsi, He *et al.* ont récemment développé pour le compte de Roche Diagnostic Corporation des dispositifs de mesure du potassium (**18**) et du sodium extracellulaires (sérum ou sang) sensibles, sélectifs, et fonctionnant au pH physiologique.⁴³ Tous deux utilisent un fluorophore naphthalimide greffé sur support solide et substitué en position 4 par une entité possédant un site de reconnaissance sélectif pour le cation considéré (cryptand [222] pour K^+ ,⁴⁴ aza-15-couronne(5) pour Na^+).⁴⁵ Quant aux composés **19**, **20** et **21**, une pince de type 2-dipicolylamine⁴⁶ ou iminodiacétate^{47,48} leur confère d'excellentes propriétés complexantes pour le zinc en milieu tamponné à pH = 7,4. Pour tous ces fluoroionophores, l'ajout de cation inhibe le transfert d'électron

de l'azote (qui complexe le cation) vers le fluorophore naphthalimide et provoque une exaltation de fluorescence.

Fluoroionophores naphthalimides de type PCT

Lorsque le substituant en position 4 du cycle naphthalène possède un fort caractère donneur, le transfert de charge photoinduit entre ce groupement riche en électrons et la fonction naphthalimide acceptrice entraîne une exaltation du moment dipolaire à l'état excité. Pour les composés substitués par un groupement NH en position 4, l'ajout de certains anions (F^- ou $H_2PO_4^-$ dans l'acétonitrile ou le DMSO) entraîne une déprotonation de cet atome d'azote et une modification du transfert de charge photoinduit au sein du fluorophore naphthalimide.^{49,50,51} Ce phénomène, d'autant plus favorisé que l'acidité du proton de l'azote est forte, se traduit par d'importants déplacements spectraux en absorption et en fluorescence, permettant ainsi une mesure ratiométrique de la concentration en anion dans le milieu d'étude considéré.

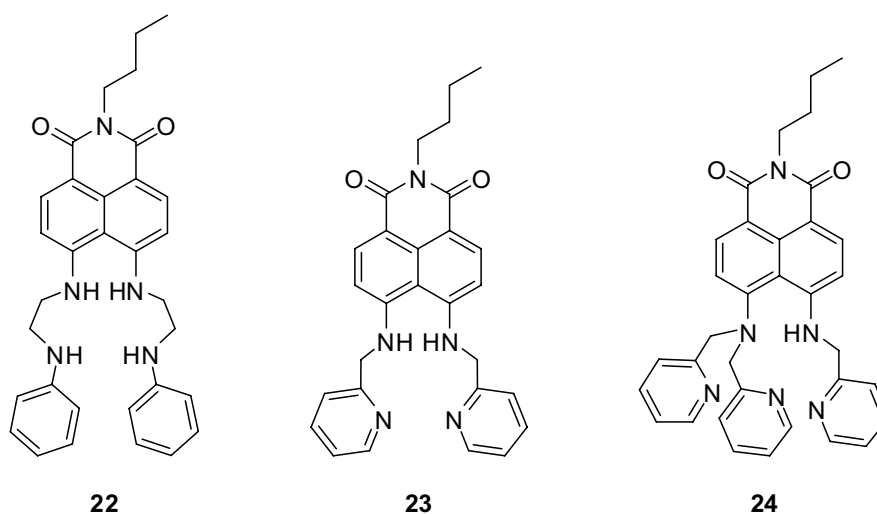


Figure 2-24. Fluoroionophores PCT de type naphthalimide développés par Qian *et al.*

En étendant ce principe aux cations métalliques, Qian *et al.* ont récemment développé d'élégantes sondes fluorescentes de métaux lourds pour lesquelles la complexation du métal s'accompagne de la déprotonation de la fonction NH en position 4 d'un fluorophore naphthalimide. Deux composés sélectifs du cuivre(II) en milieu organo-aqueux à pH = 7 ont été obtenus, les substituants en position 4 et 5 étant de type aniline (**22**)⁵² ou pyridine (**23**).⁵³ En modifiant les bras complexants en position 4 du noyau naphthalène, un senseur sélectif du zinc a également été obtenu (**24**).⁵⁴ Pour ces trois composés présentés sur la Figure 2-24, la complexation du métal provoque un important déplacement vers le rouge des spectres d'émission, le caractère donneur de l'atome d'azote en position 4 étant renforcé par la déprotonation induite par complexation.

III.2.2. Nouveaux fluoroionophores cibles de type naphthalimide

Ingénierie moléculaire et fluoroionophores cibles

Pour les raisons précédemment évoquées, les naphthalimides sont des fluorophores de choix pour la conception de sondes de cations. En revanche, il n'existe à l'heure actuelle pas d'exemples de

composés à base de calixarènes fonctionnalisés par de tels groupements. Aussi, la complexation du plomb par un calixarène substitué par un ou plusieurs groupements naphthalimides est une piste intéressante pour la synthèse de nouveaux fluoroionophores sélectifs du plomb. Quatre composés cibles ont été envisagés afin de valider cette approche (*cf.* Figure 2-26).

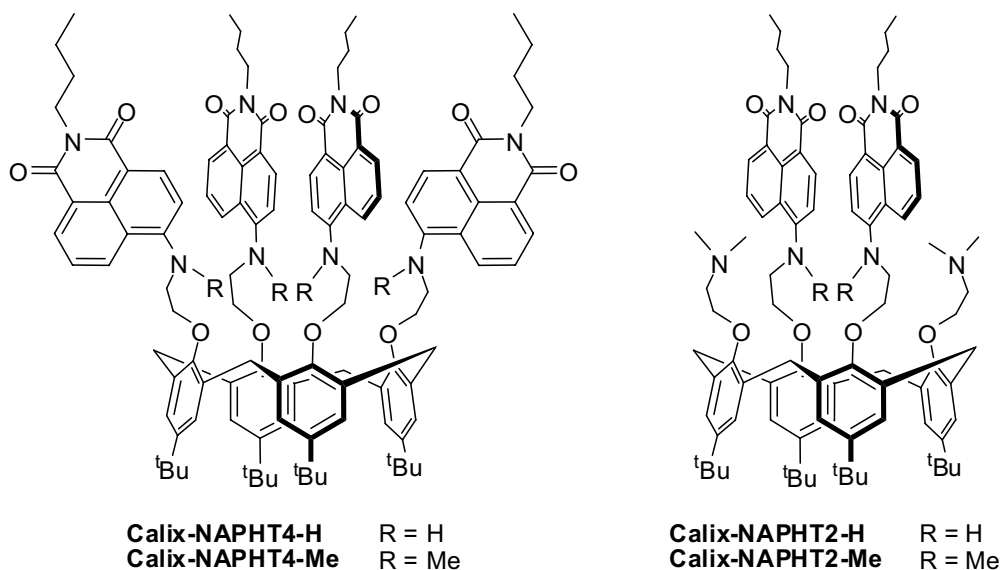


Figure 2-25. Calixarènes cibles substitués par des naphthalimides pour la détection du plomb.

Tous comportent quatre atomes d'azote potentiellement complexants afin de bénéficier de l'effet d'activation de la paire inerte du plomb. Pour des raisons de facilité de synthèse, le groupement qui fonctionnalise la fonction imide est une chaîne butyle. Néanmoins, l'introduction ultérieure sur cette position de groupements hydrosolubles ou greffables sur support solide (polymère ou silice) est une possibilité intéressante pour de futurs développements. Sur cette base commune, la synthèse de deux types de calixarènes a été envisagée :

- Les calixarènes tétrasubstitués (PCT) : Calix-NAPHT4-H et Calix-NAPHT4-Me

Ces deux *tert*-butylcalix[4]arènes sont fonctionnalisés sur leur bord inférieur par des groupements naphthalimides substitués par un atome d'azote en position 4. La synthèse d'un composé méthylé et d'un composé NH a été envisagée. La présence du cation Pb^{2+} à proximité de l'atome d'azote est sensée modifier le caractère électrodonneur de la fonction amine impliquée dans le transfert de charge photoinduit et devrait ainsi permettre une mesure ratiométrique en émission.

- Les calixarènes disubstitués (PET) : Calix-NAPHT2-H et Calix-NAPHT2-Me

Calix-NAPHT2-H et Calix-NAPHT2-Me sont *a priori* peu fluorescents en l'absence de cation du fait du transfert d'électron photoinduit des groupements diméthylamino vers le fluorophore naphthalimide. La présence du cation Pb^{2+} est alors susceptible à la fois d'inhiber ce transfert, mais également de modifier les propriétés de transfert de charge du naphthalimide par interaction avec l'atome d'azote en position 4. Une exaltation de fluorescence et un déplacement spectral sont attendus.

Analyse rétrosynthétique

L'accès aux composés disubstitués et tétrasubstitués par des groupements naphthalimides, méthylés ou non, a été envisagé selon le schéma présenté sur la Figure 2-26. La voie qui consistait à introduire les groupements naphthalimides sur un calixarène amine n'a pas été retenue, dans la mesure où l'introduction d'une amine en position 4 du naphthalimide par une réaction de substitution nucléophile aromatique nécessite souvent l'utilisation d'un excès d'amine et s'effectue avec des rendements modérés. Devant la nécessité de greffer plusieurs naphthalimides sur un même calixarène, une autre voie a été choisie dans laquelle les naphthalimides sont introduits sur le calixarène par substitution nucléophile entre un naphthalimide fonctionnalisé par un bon groupe partant (intermédiaire clé de la synthèse) et un calixarène nucléophile. Une fois les composés disubstitués obtenus, le greffage sur les deux oxygènes phénoliques de deux chaînes comportant un atome d'azote (N-alkyle ou naphthalimide avec un azote en position 4) doit fournir les composés désirés. Quant à l'intermédiaire clé, il peut être synthétisé à partir de l'anhydride bromé commercial.

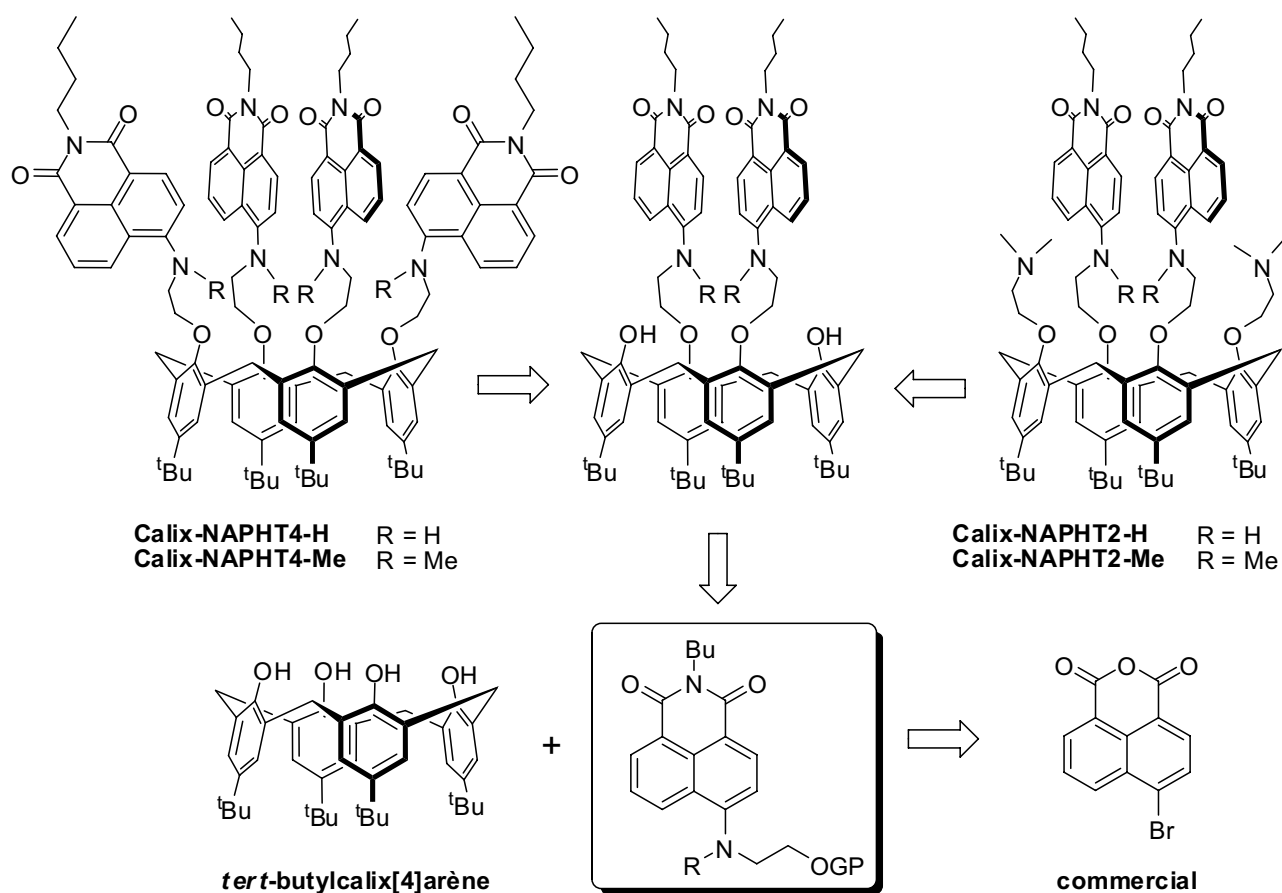


Figure 2-26. Analyse rétrosynthétique pour l'obtention des composés naphthalimides.

Synthèse des composés Calix-NAPHT4 et Calix-NAPHT2

L'obtention des précurseurs naphthalimides électrophiles clés s'effectue suivant des procédures classiques en trois étapes. Ainsi, l'anhydride 4-bromo-1,8-naphthalique **25** réagit de manière quasi-quantitative avec la butylamine au reflux de l'éthanol pour fournir l'imide **26**.⁵² Dans les conditions

opératoires mises au point par Le Barny *et al.* (HMPA à 90 °C en présence d'Aliquat 336),³⁷ la substitution nucléophile aromatique entre **26** et l'éthanolamine permet l'obtention du naphthalimide **27** (qui possède un atome d'azote en position 4) avec un rendement de 76 %. La réaction analogue avec la *N*-méthyléthanolamine conduit au dérivé méthylé **28** avec un rendement de 91 %. La tosylation de l'alcool primaire s'effectue alors en présence de chlorure de tosyloyle et de triéthylamine dans le dichlorométhane et permet l'obtention de deux nouveaux naphthalimides substitués par un groupe partant (**29** et **30**) avec des rendements satisfaisants.

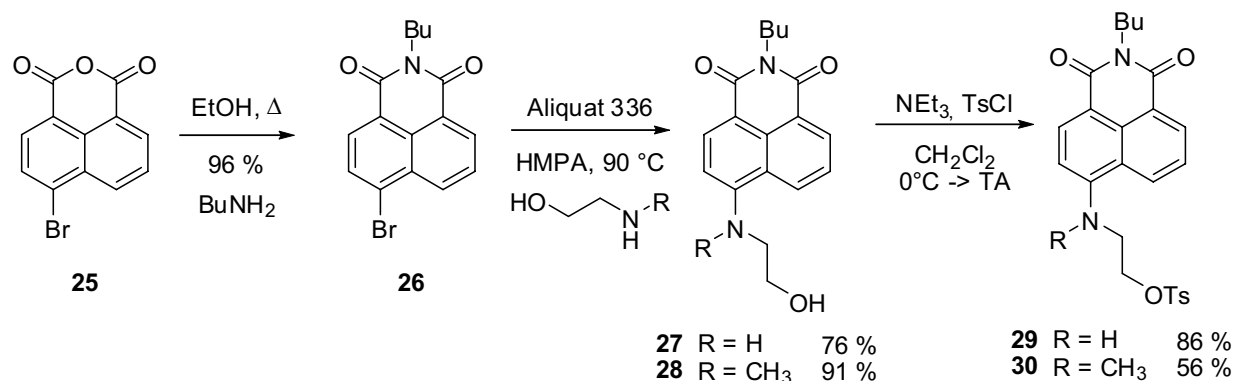


Figure 2-27. Synthèse des intermédiaires naphthalimides fonctionnalisés par un bon groupe partant.

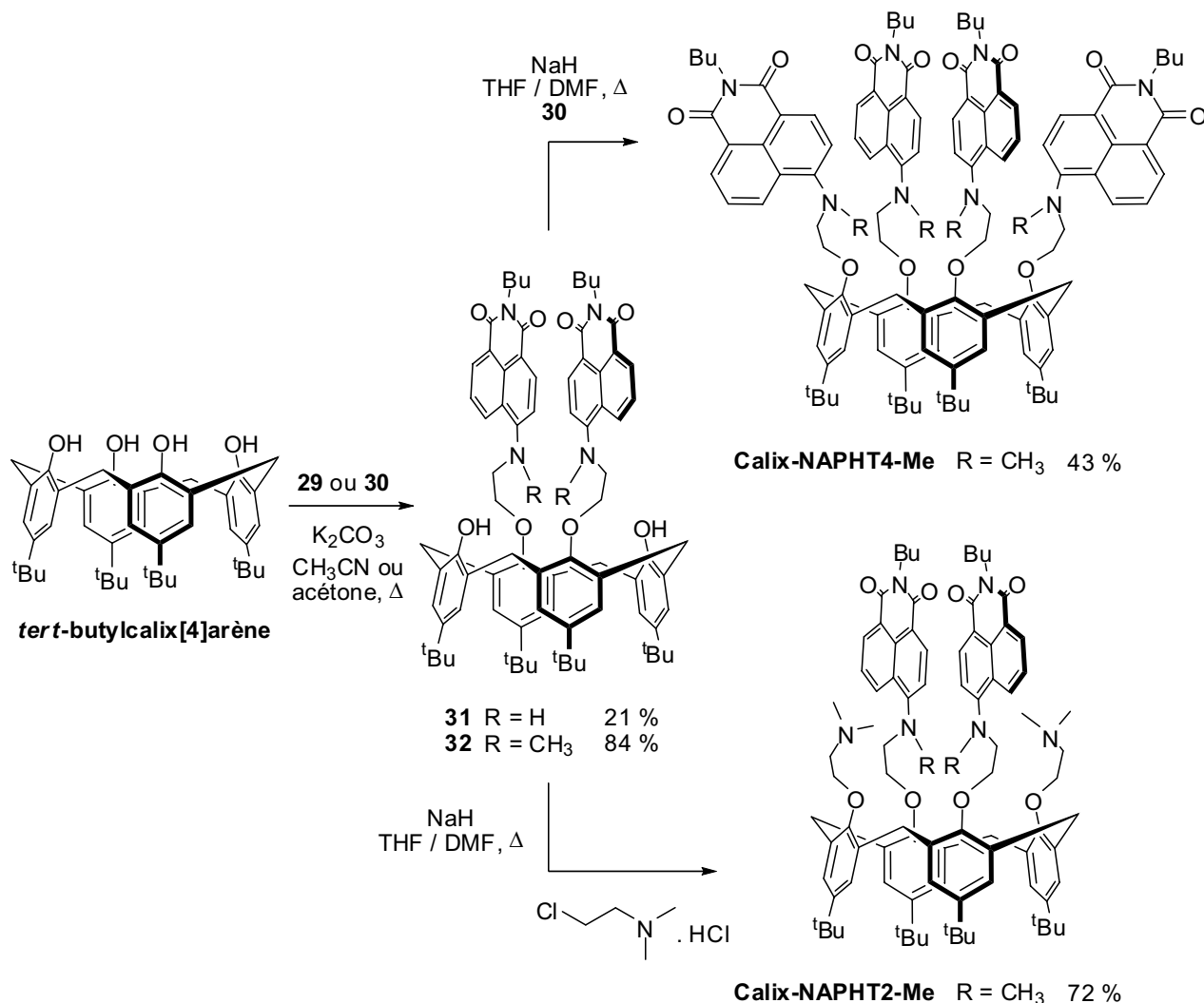
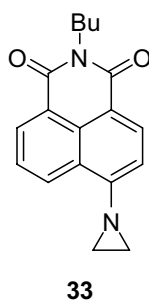


Figure 2-28. Greffage des naphthalimides électrophiles sur le squelette calixarène.

Une fois obtenus, les composés tosylés **29** et **30** sont greffés sur le *tert*-butylcalix[4]arène dans des conditions basiques (au reflux de l'acétonitrile ou de l'acétone en présence de carbonate de potassium). Dans ces conditions, les calixarènes disubstitués **31** et **32** sont obtenus avec des rendements respectifs de 21 % et 84 %. Le faible rendement de formation du dérivé non méthylé par rapport à son analogue méthylé s'explique par la possibilité, dans des conditions basiques, d'une réaction de substitution nucléophile intramoléculaire conduisant majoritairement au naphthalimide **33** substitué en position 4 par un groupement aziridine.



Si la protection de l'amine secondaire du naphthalimide suivie d'une étape de déprotection en fin de synthèse est une voie envisageable pour s'affranchir de cette réaction de substitution nucléophile intramoléculaire, la synthèse des composés non méthylés Calix-NAPHT4-H et Calix-NAPHT2-H n'a pas été menée à son terme car les propriétés complexantes du composé **31** (*cf.* paragraphe suivant) ne se sont pas avérées satisfaisantes.

En revanche, le composé méthylé **30** ne pouvant pas conduire à la formation d'un cycle aziridine, Calix-NAPHT4-Me et Calix-NAPHT2-Me ont été obtenus à partir de **32** par substitution nucléophile avec respectivement le naphthalimide **30** et le chlorhydrate du chlorure de 2-diméthylaminoéthyle en excès. Ces réactions nécessitent l'utilisation de conditions basiques plus fortes que la première étape d'alkylation (NaH dans un mélange THF/DMF au reflux)⁵⁵ et s'effectuent avec des rendements respectifs de 43 % et 72 %.

Finalement, plusieurs calixarènes substitués par des groupements naphthalimides ont été obtenus (**31**, **32**, Calix-NAPHT2-Me, Calix-NAPHT4-Me). Leurs propriétés photophysiques et complexantes ont alors été étudiées par spectroscopie d'absorption UV-visible et fluorescence stationnaire.

III.2.3. Propriétés photophysiques des composés naphthalimides

Propriétés en absorption

Les spectres d'absorption des quatre composés synthétisés (**31**, **32**, Calix-NAPHT2-Me et Calix-NAPHT4-Me) sont enregistrés dans l'acétonitrile et les spectres obtenus (ramenés au nombre d'unités naphthalimides de chaque composé) sont présentés sur la Figure 2-29(a). Les principaux paramètres photophysiques sont rassemblés dans le Tableau 2-4.

Tous les composés étudiés présentent une large bande à transfert de charge. Le coefficient d'absorption molaire divisé par le nombre de motifs naphthalimides est légèrement supérieur pour les

composés dihydroxylés **31** et **32** par rapport à Calix-NAPHT2-Me et Calix-NAPHT4-Me. De plus, des déplacements spectraux d'un composé à l'autre sont observés.

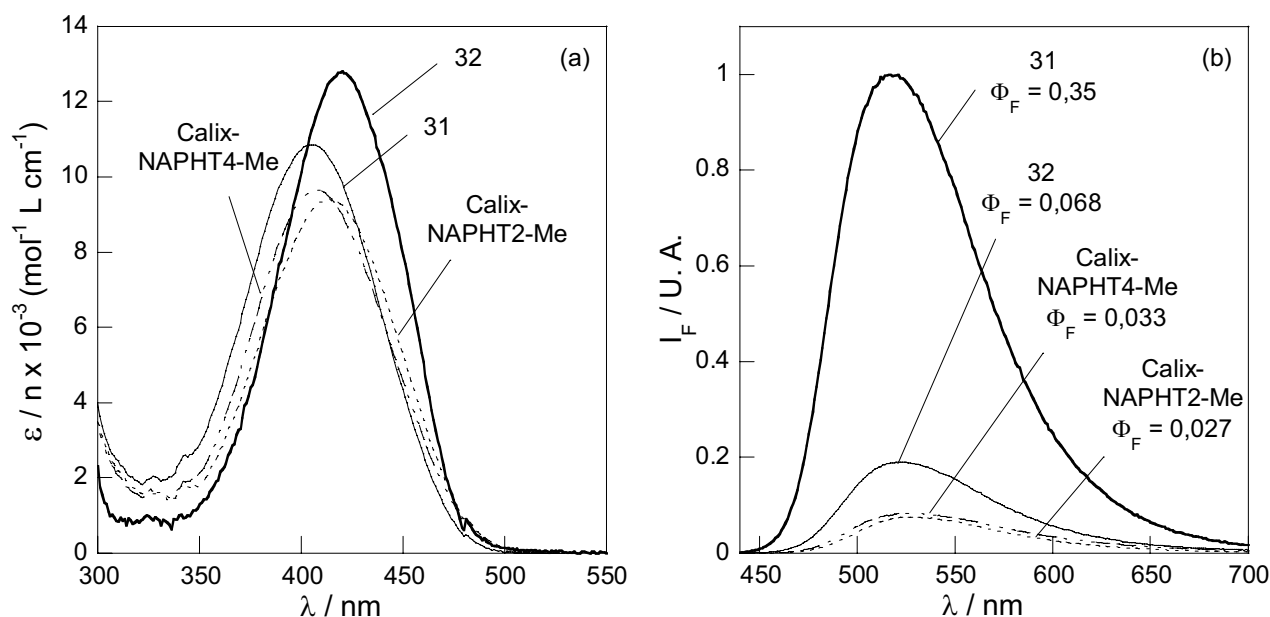


Figure 2-29. (a) Spectres d'absorption ramenés à un motif naphthalimide et (b) spectres de fluorescence des composés **31**, **32**, Calix-NAPHT2-Me et Calix-NAPHT4-Me dans l'acétonitrile ($\lambda_{exc} = 410$ nm).

	31	32	Calix-NAPHT2-Me	Calix-NAPHT4-Me
λ_{max}^{abs} (nm) *	420	405	413	407
ϵ (mol ⁻¹ L cm ⁻¹) **	25200	21700	18900	38600
ϵ / n (mol ⁻¹ L cm ⁻¹) **	12600	10850	9450	9650
$\lambda_{max}^{ém}$ (nm) *	518	522	527	525
Φ_F **	0,35	0,068	0,027	0,033

* déterminé à ± 1 nm, ** déterminé à ± 10 %

Tableau 2-4. Paramètres photophysiques des composés **31**, **32**, Calix-NAPHT2-Me et Calix-NAPHT4-Me dans l'acétonitrile.

Ces résultats sont en accord avec ceux publiés dans la littérature par Brown *et al.* pour des composés de type 4-amino-1,8-naphthalimide dans l'éthanol.⁵⁶ Ainsi, la bande d'absorption du composé **31** substitué par un groupement NH-alkyl est davantage déplacée vers les grandes longueurs d'onde que les bandes d'absorption des trois autres ligands dont l'atome d'azote est substitué par deux groupements alkyles. En effet, même si les groupements dialkylamino sont généralement considérés comme de meilleurs groupes donneurs que leurs analogues monoalkylés (en raison de l'effet inductif donneur des chaînes alkyles), leur encombrement stérique est supérieur. Il existe alors des interactions stériques importantes entre le groupement amine et l'atome d'hydrogène en position 5 (position *peri*). Cette gêne stérique entraîne une rotation du groupement dialkylamino en dehors du plan de la molécule si bien que, dans cette géométrie distordue, le transfert de charge de l'atome d'azote en position 4 vers les fonctions carbonyles est moins efficace (*cf.* Figure 2-30).

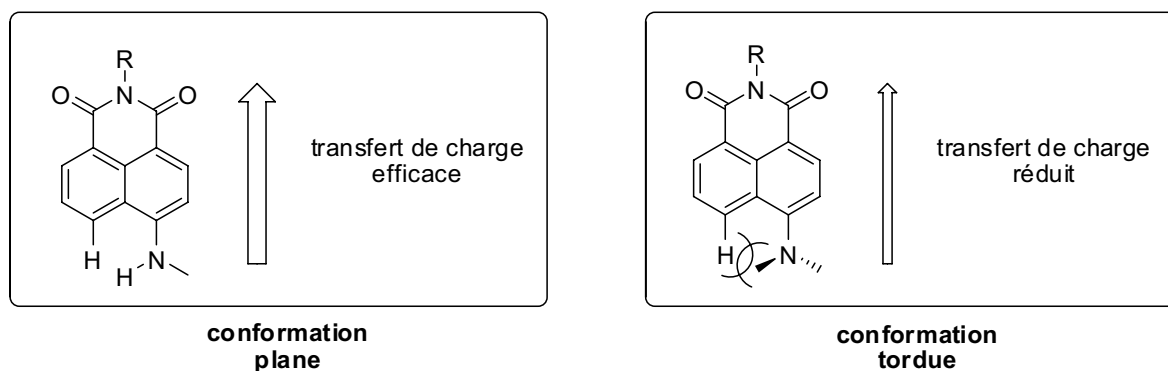


Figure 2-30. Explication du déplacement spectral vers le bleu observé en absorption pour les composés substitués en position 4 par un groupement dialkylamino.

En ce qui concerne les composés Calix-NAPHT2-Me et Calix-NAPHT4-Me, leurs spectres d'absorption ramenés à un motif naphthalimide sont très similaires. Le léger décalage vers le bleu des spectres d'absorption du ligand tétrasubstitué par rapport au composé disubstitué peut s'expliquer par une différence d'environnement entre les fluorophores de chaque composé. En effet, en raison de la présence de quatre chaînes butyles, le microenvironnement des naphthalimides du Calix-NAPHT4-Me est sans doute légèrement plus apolaire que celui des fluorophores de Calix-NAPHT2-Me.

Propriétés en émission

Les spectres de fluorescence des différents ligands ont été enregistrés dans l'acétonitrile après excitation à 410 nm (*cf.* Figure 2-29(b)). Tous ces composés présentent une large bande de fluorescence dont le maximum est compris entre 518 nm et 527 nm.

Le rendement quantique de fluorescence est quant à lui beaucoup plus faible pour les composés de type dialkylamino (**32**, Calix-NAPHT4-Me et Calix-NAPHT4-Me) que celui du composé **31** substitué en position 4 par un groupement NH-alkyl. En effet, dans les milieux polaires, le rendement quantique des composés de type 4-dialkylamino-1,8-naphthalimide est peu élevé. Cette faible valeur est due à une importante augmentation de la constante de vitesse de désexcitation non radiative. Plusieurs explications peuvent être avancées, telles que l'existence d'interactions spécifiques solvant/soluté,^{57,58} ou bien l'abaissement de la barrière énergétique pour l'inversion de la conformation de l'atome d'azote en position 4.⁵⁹ Dans tous les cas, ces processus offrent de nouvelles voies efficaces de désexcitation non radiative et expliquent le faible rendement quantique de fluorescence observé dans l'acétonitrile pour ces composés.

D'autre part, la comparaison des rendements quantiques de fluorescence de **32** et de Calix-NAPHT2-Me montre que la fluorescence du composé comportant deux amines aliphatiques (Calix-NAPHT2-Me) est seulement deux fois plus faible que celle du composé dihydroxylé **32**. Il en ressort donc que le transfert d'électron photoinduit des amines aliphatiques vers le fluorophore naphthalimide (sensé inhiber la fluorescence) est relativement peu efficace.

III.2.4. Propriétés complexantes des composés naphthalimides

Les propriétés complexantes des différents composés naphthalimides pour le plomb ont été évaluées dans différents solvants.

Comme le montre la Figure 2-31, l'ajout d'un excès de perchlorate de plomb à une solution de **31** dans l'acétonitrile ne modifie pas le spectre d'absorption du ligand. Quant aux spectres de fluorescence obtenus après excitation à 420 nm, aucune modification spectrale n'est observée sur la bande à 518 nm. La complexation du plomb n'a donc pas lieu. Bien que possédant un rendement quantique de fluorescence plus important que les composés méthylés, ces résultats peu encourageants sur le composé **31** en terme de propriétés complexantes ne nous ont pas poussés à synthétiser les analogues Calix-NAPHT4-H et Calix-NAPHT2-H.

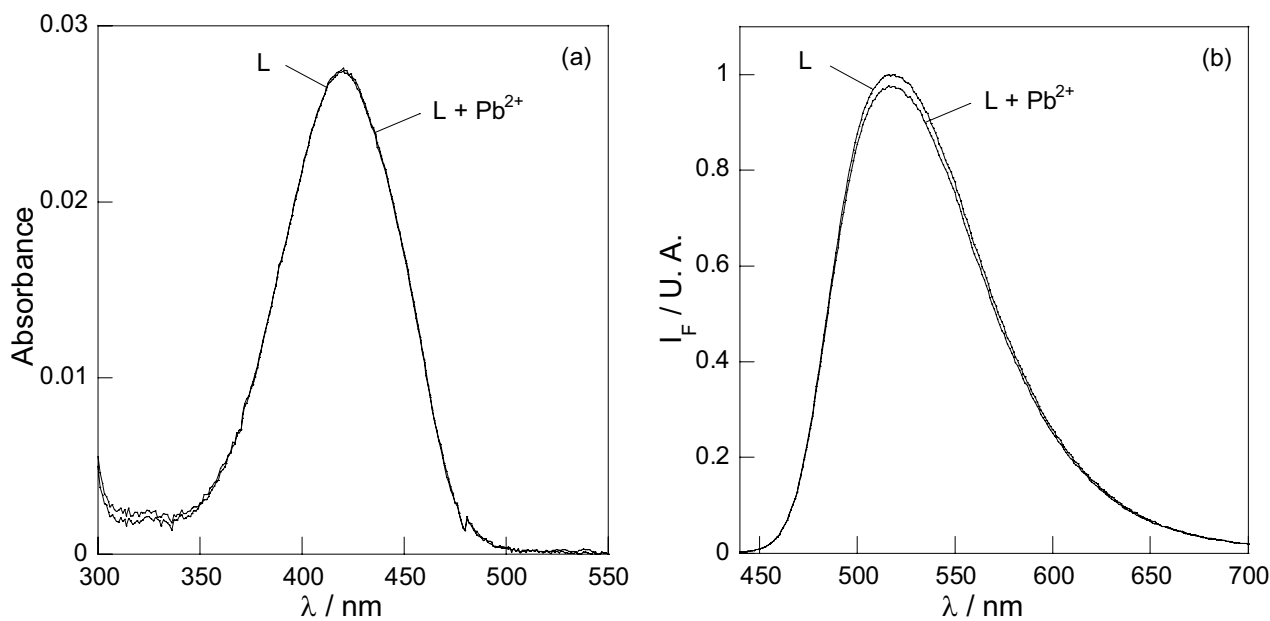


Figure 2-31. (a) Spectres d'absorption et (b) spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance du composé **31** dans l'acétonitrile en absence et en présence de plomb : $[L] = 1,1 \mu\text{M}$, $[\text{Pb}^{2+}] = 9 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 420 \text{ nm}$.

Concernant les composés méthylés, le calixarène Calix-NAPHT4-Me n'a montré aucune affinité pour le plomb dans l'acétonitrile pur. Les autres cations généralement complexés par des macrocycles azotés de type cyclame (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^{+}) ne sont également pas complexés. Sans doute l'encombrement stérique lié à la présence de quatre fluorophores naphthalimides méthylés sur le squelette calixarène empêche une chélation efficace du métal.

Le composé disubstitué Calix-NAPHT2-Me a quant à lui montré une certaine affinité pour le plomb puisque l'ajout d'acétate de plomb dans un milieu eau/DMSO 95:5 entraîne une légère exaltation de fluorescence (*cf.* Figure 2-32). En revanche, quasiment aucun effet n'est observé en absorption. L'exaltation de fluorescence peut s'expliquer soit par l'inhibition du transfert d'électron photoinduit même si celui-ci est peu efficace, soit par une rigidification de la structure du complexe et une réduction des processus de désexcitation non radiatifs. Néanmoins, les effets observés demeurent très faibles (alors que le rendement quantique de fluorescence du ligand est peu élevé) et nécessitent un très large excès de métal. L'utilisation de Calix-NAPHT2-Me pour la détection de faibles quantités de plomb paraît donc difficile.

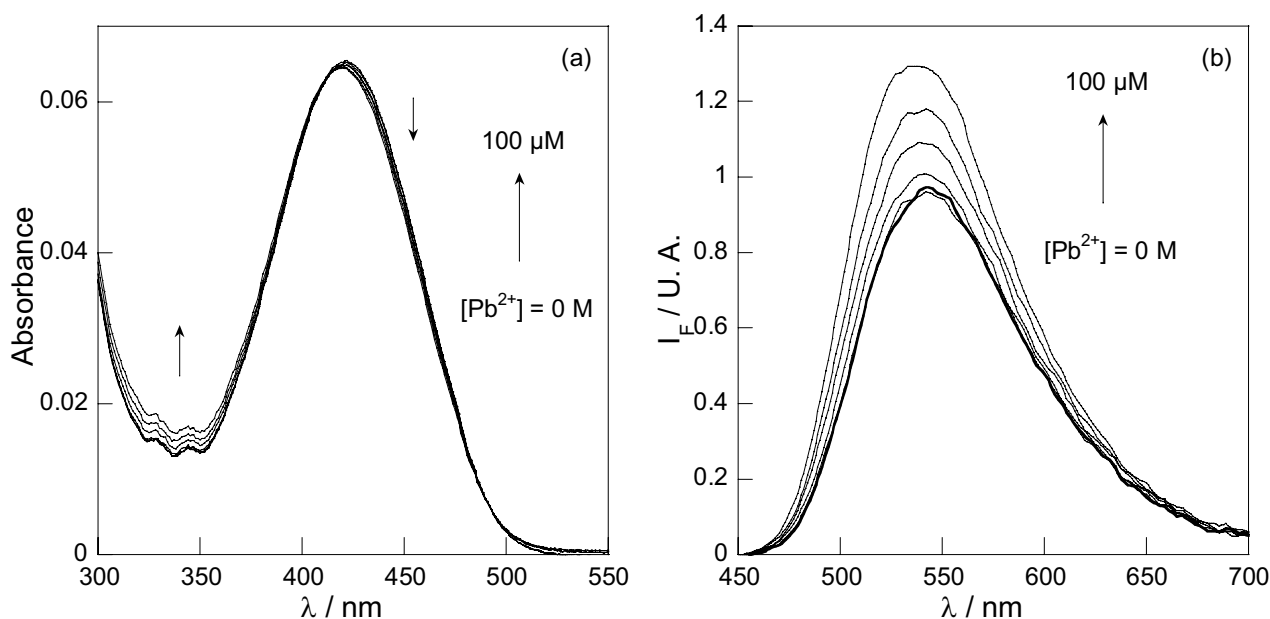


Figure 2-32. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance du composé Calix-NAPHT2-Me dans un mélange eau/DMSO 95:5 avec l'ajout d'acétate de plomb ($[L] = 3,6 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc} = 410 \text{ nm}$).

III.2.5. Conclusion sur les composés de type naphthalimide

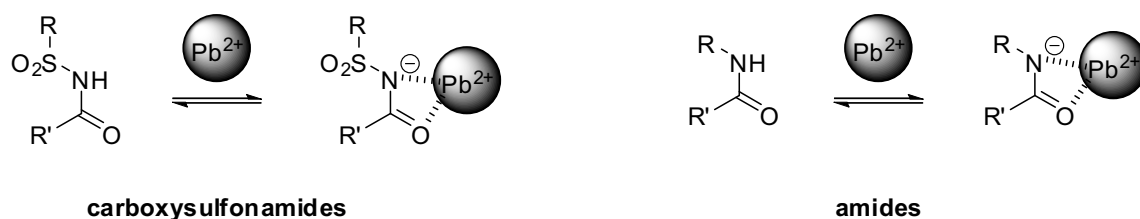
Dans le but de développer de nouveaux complexants du plomb excitable dans le visible et possédant quatre atomes d'azote complexants, deux nouveaux calix[4]arènes fonctionnalisés par deux et quatre groupements naphthalimides ont été synthétisés : Calix-NAPHT2-Me et Calix-NAPHT4-Me.

Possédant tous deux des substituants dialkylamino en position 4 du noyau naphthalimide, le rendement quantique de fluorescence de ces composés s'est révélé relativement faible dans les solvants polaires. Bien que possédant quatre atomes complexants à des positions identiques sur le squelette calixarène que les atomes d'azote du Calix-Dans4, l'affinité des composés naphthalimides pour le plomb s'est révélée beaucoup moins bonne. Ainsi, seul le composé disubstitué Calix-NAPHT2-Me a montré une certaine affinité pour le plomb et une légère exaltation de fluorescence en présence de métal a été observée. Elle est cependant insuffisante pour envisager l'utilisation de ce composé comme senseur fluorescent de plomb. Finalement, l'activation stéréochimique de la paire inerte du plomb n'a peut-être pas lieu pour ces composés en raison de l'encombrement stérique dus aux fluorophores naphthalimides et aux groupements méthyles greffés sur les atomes d'azote en interaction avec le cation. De plus, la déprotonation des fonctions complexantes avec la complexation du plomb (impossible pour ces naphthalimides N-alkylés en position 4) apparaît comme particulièrement importante. La conception et la synthèse de nouveaux complexants doivent donc être envisagées.

IV. Conclusion et perspectives sur les fluoroionophores sélectifs du plomb

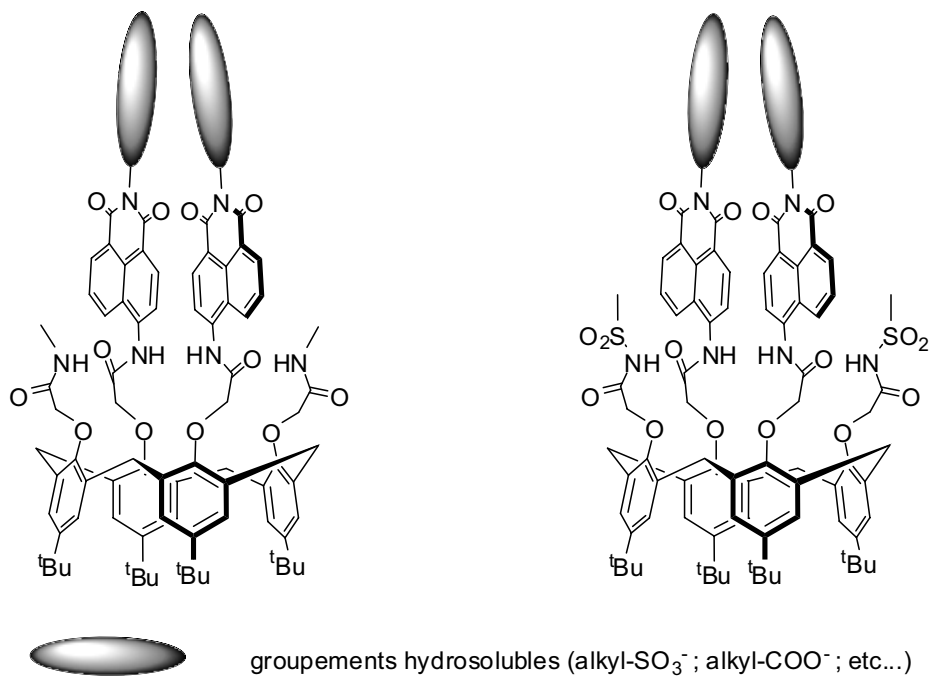
La première partie de ce travail sur les fluoroionophores sélectifs du plomb a consisté à optimiser le fonctionnement d'une sonde préalablement synthétisée au laboratoire : le Calix-Dans4. Ce composé possède en effet une affinité remarquable pour le plomb en milieu mixte eau/acétonitrile 40:60 tamponné à pH = 5,2 par la lutidine-HClO₄. Nous avons alors montré que la détection de concentrations en plomb comprises entre 5 et 40 μM est également possible dans un milieu eau/DMSO 95:5 tamponné à pH 6 (MES-NaOH 50 mM), en présence de chlorure de magnésium (5 mM). Bien que l'ajout d'une grande quantité de KCl (0,1 M) demeure problématique, ce résultat nous permet dans certains cas d'envisager l'utilisation de ce composé en biologie cellulaire.

Parallèlement à ce processus d'optimisation, trois nouveaux calix[4]arènes incorporant quatre atomes d'azote complexants ont été synthétisés : Calix-DNS4, Calix-NAPHTH2-Me et Calix-NAPHT4-Me. Si aucun d'entre eux n'a montré des propriétés complexantes pour le plomb aussi bonnes que le Calix-Dans4, l'étude de ces composés permet de tirer plusieurs conclusions quant à la conception de nouveaux senseurs sélectifs du plomb. En particulier, l'activation de la paire inerte du plomb permettant d'expliquer l'excellente affinité de Calix-Dans4 pour le plomb et la présence de groupements facilement ionisables (carboxysulfonamides en l'occurrence) à proximité du site de complexation semblent être liées. L'implication des groupements carbonyles dans la complexation du plomb par la forme déprotonée des carboxysulfonamides n'est d'ailleurs pas à exclure. Pour cette raison, l'utilisation de fonctions amides facilement déprotonables et possédant une fonction carbonyle en α de l'azote déprotoné peut s'avérer une voie prometteuse.



En ce qui concerne l'utilisation de fluorophores de type 4-amino-1,8-naphtalimide, elle est intéressante du point de vue de la longueur d'onde d'excitation et du rendement quantique de fluorescence en milieu polaire à condition que le groupement en position 4 du noyau naphtalène soit de type NH-alkyle. Il offre en outre la possibilité d'introduire des groupements hydrosolubles sur sa chaîne latérale. Cependant, les naphtalimides pouvant encombrer stériquement le site de complexation, il apparaît plus pertinent de privilégier le greffage de deux fluorophores sur une structure calix[4]arène plutôt que l'obtention de composés fonctionnalisés par quatre fluorophores.

Sur la base de ces observations, la synthèse de nouveaux composés incorporant des amides déprotonables greffées en position 4 d'un fluorophore 1,8-naphtalimide peut être envisagée (*cf.* ci-dessous). Des fonctions carboxysulfonamides pourront également être utilisées en remplacement des fonctions amides complexantes.



Références bibliographiques

- [1] S.H. Lee, J.Y. Kim, S.K. Kim, J.H. Lee et J.S. Kim. "Pyrene-appended calix[4]crowned logic gates involving normal and reverse PET: NOR, XNOR and INHIBIT", *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 5171-5176.
- [2] J.M. Liu, J.H. Bu, Q.Y. Zheng, C.F. Chen et Z.T. Huang. "Highly selective fluorescent sensing of Pb^{2+} by a new calix[4]arene derivative", *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 1905-1908.
- [3] M.E. Padilla-Tosta, J.M. Lloris, R. Martinez-Manez, M.D. Marcos, M.A. Miranda, T. Pardo, F. Sancenon et J. Soto. "Fluorescent chemosensors for heavy metal ions based on bis(terpyridyl) ruthenium(II) complexes containing aza-oxa and polyaza macrocycles", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2001**, 1475-1482.
- [4] J.H. Bok, H.J. Kim, J.W. Lee, S.K. Kim, J.K. Choi, J. Vicens et J.S. Kim. "Selective metal detection in an unsymmetrical 1,3-alternate calix[4]biscrown chemosensor", *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 1237-1240.
- [5] S. Feryforques, M.T. Lebris, J.P. Guette et B. Valeur. "Ion-responsive fluorescent compounds. 1. effect of cation binding on photophysical properties of a benzoxazinone derivative linked to monoaza-15-crown-5", *J. Phys. Chem.*, **1988**, *92*, 6233-6237.
- [6] R.S. Addleman, J. Bennett, S.H. Tweedy, S. Elshani et C.M. Wai. "Response of a benzoxainone derivative linked to monoaza-15-crown-5 with divalent heavy metals", *Talanta*, **1998**, *46*, 573-581.
- [7] C.T. Chen et W.P. Huang. "A highly selective fluorescent chemosensor for lead ions", *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 6246-6247.
- [8] R. Metivier, I. Leray et B. Valeur. "A highly sensitive and selective fluorescent molecular sensor for Pb(II) based on a calix[4]arene bearing four dansyl groups", *Chem. Commun.*, **2003**, 996-997.
- [9] R. Metivier, I. Leray et B. Valeur. "Lead and mercury sensing by calixarene-based fluoroionophores bearing two or four dansyl fluorophores", *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 4480-4490.
- [10] R.J. Alvarado, J.M. Rosenberg, A. Andreu, J.C. Bryan, W.Z. Chen, T. Ren et K. Kavallieratos. "Structural insights into the coordination and extraction of Pb(II) by disulfonamide ligands derived from o-phenylenediamine", *Inorg. Chem.*, **2005**, *44*, 7951-7959.
- [11] K. Kavallieratos, J.M. Rosenberg, W.Z. Chen et T. Ren. "Fluorescent sensing and selective Pb(II) extraction by a dansylamide ion-exchanger", *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 6514-6515.
- [12] S.K. Kim, S.H. Lee, J.Y. Lee, J.Y. Lee, R.A. Bartsch et J.S. Kim. "An excimer-based, binuclear, on-off switchable calix[4]crown chemosensor", *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 16499-16506.
- [13] L.J. Ma, Y.F. Liu et Y.Q. Wu. "A tryptophan-containing fluoroionophore sensor with high sensitivity to and selectivity for lead ion in water", *Chem. Commun.*, **2006**, 2702-2704.
- [14] T. Hayashita, D. Qing, M. Minagawa, J.C. Lee, C.H. Ku et N. Teramae. "Highly selective recognition of lead ion in water by a podand fluoroionophore/gamma-cyclodextrin complex sensor", *Chem. Commun.*, **2003**, 2160-2161.
- [15] J.Y. Kwon, Y.J. Jang, Y.J. Lee, K.M. Kim, M.S. Seo, W. Nam et J. Yoon. "A highly selective fluorescent chemosensor for Pb^{2+} ", *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 10107-10111.

- [16] S. Deo et H.A. Godwin. "A selective, ratiometric fluorescent sensor for Pb^{2+} ", J. Am. Chem. Soc., **2000**, 122, 174-175.
- [17] R. Metivier, I. Leray et B. Valeur. "Photophysics of calixarenes bearing two or four dansyl fluorophores: charge, proton and energy transfers", Photochem. Photobiol. Sci., **2004**, 3, 374-380.
- [18] V.J. Huber, S.N. Ivy, J.P. Lu et R.A. Bartsch. "Lariat ethers with a novel proton-ionizable group. Synthesis and solvent extraction of alkali metal cations", Chem. Commun., **1997**, 1499-1500.
- [19] G.G. Talanova, H.S. Hwang, V.S. Talanov et R.A. Bartsch. "Calix[4]arenes with a novel proton-ionizable group: synthesis and metal ion separations", Chem. Commun., **1998**, 419-420.
- [20] A.J. Tong, Y.S. Song, L.D. Li, T. Hayashita, N. Teramae, C. Park et R.A. Bartsch. "Selective extraction of alkali metal cations with proton-ionizable dibenzo-16-crown-5 fluoroionophores", Anal. Chim. Acta, **2000**, 420, 57-64.
- [21] Q. Liu, Z.G. Liu, Y.L. Zhou, W. Zhang, L. Yang, Z.L. Liu et W. Yu. "Photochemical desulfonylation of N-tosyl amides by 2-phenyl-N,N' dimethylbenzimidazoline (PDMBI)", Synlett, **2005**, 2510-2512.
- [22] R. Metivier. "Ingénierie moléculaire et fluorescence : détection de cations lourds et étude de surfaces d'alumines", E.N.S. Cachan, Laboratoire de Photophysique et Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires, UMR 8531, **2003**.
- [23] T. Koike, T. Watanabe, S. Aoki, E. Kimura et M. Shiro. "A Novel Biomimetic Zinc(II)-Fluorophore, Dansylamidoethyl-Pendant Macrocyclic Tetraamine 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane (Cyclen)", J. Am. Chem. Soc., **1996**, 118, 12696-12703.
- [24] S. Aoki, H. Kawatani, T. Goto, E. Kimura et M. Shiro. "A Double-Functionalized Cyclen with Carbamoyl and Dansyl Groups (Cyclen = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecane): A Selective Fluorescent Probe for Y^{3+} and La^{3+} ", J. Am. Chem. Soc., **2001**, 123, 1123-1132.
- [25] G.P. Xue, J.S. Bradshaw, H.C. Song, R.T. Bronson, P.B. Savage, K.E. Krakowiak, R.M. Izatt, L. Prodi, M. Montalti et N. Zaccheroni. "A convenient synthesis and preliminary photophysical study of novel fluoroionophores: macrocyclic polyamines containing two dansylamidoethyl side arms", Tetrahedron, **2001**, 57, 87-91.
- [26] G.G. Talanova, N.S.A. Elkarim, V.S. Talanov et R.A. Bartsch. "A calixarene-based fluorogenic reagent for selective mercury(II) recognition", Anal. Chem., **1999**, 71, 3106-3109.
- [27] M. Macchia, F. Salvetti, S. Barontini, F. Calvani, M. Gesi, M. Hamdan, A. Lucacchini, A. Pellegrini, P. Soldani et C. Martini. "Fluorescent probes for adenosine receptors: Synthesis and biology of N-6-dansylaminoalkyl-substituted NECA derivatives", Bioorg. Med. Chem. Lett., **1998**, 8, 3223-3228.
- [28] T.J. Tolbert et C.H. Wong. "Intein-Mediated Synthesis of Proteins Containing Carbohydrates and Other Molecular Probes", J. Am. Chem. Soc., **2000**, 122, 5421-5428.
- [29] X.C. Chen, Z. Wen, M. Xian, K. Wang, N. Ramachandran, X.P. Tang, H.B. Schlegel, B. Mutus et P.G. Wang. "Fluorophore-labeled S-nitrosothiols", J. Org. Chem., **2001**, 66, 6064-6073.
- [30] A.R. Dunn, A.M.A. Hays, D.B. Goodin, C.D. Stout, R. Chiu, J.R. Winkler et H.B. Gray. "Fluorescent Probes for Cytochrome P450 Structural Characterization and Inhibitor Screening", J. Am. Chem. Soc., **2002**, 124, 10254-10255.

- [31] S. Barbosa, A.G. Carrera, S.E. Matthews, F. Arnaud-Neu, V. Bohmer, J.F. Dozol, H. Rouquette et M.J. Schwing-Weill. "Calix[4]arenes with CMPO functions at the narrow-rim. Synthesis and extraction properties", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1999**, 719-723.
- [32] H. Halouani, I. Dumazet-Bonnamour, M. Perrin et R. Lamartine. "First synthesis and structure of beta-ketoimine calix[4]arenes: Complexation and extraction studies", *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 6521-6527.
- [33] S. Smirnov, V. Sidorov, E. Pinkhassik, J. Havlicek et I. Stibor. "Complexes of *p*-*t*-butylcalix[4]arene derivatives with neutral molecules: Structures and stabilities", *Supramol. Chem.*, **1997**, 8, 187-196.
- [34] E. Martin, R. Weigand et A. Pardo. "Solvent dependence of the inhibition of intramolecular charge-transfer in *N*-substituted 1,8-naphthalimide derivatives as dye lasers", *J. Lumines.*, **1996**, 68, 157-164.
- [35] I. Grabchev, I. Moneva, V. Bojinov et S. Guittonneau. "Synthesis and properties of fluorescent 1,8-naphthalimide dyes for application in liquid crystal displays", *J. Mat. Chem.*, **2000**, 10, 1291-1296.
- [36] L.G.F. Patrick et A. Whiting. "Synthesis of some polymerisable fluorescent dyes", *Dyes and Pigments*, **2002**, 55, 123-132.
- [37] P.L. Le Barny, E.T. Obert, F. Soyer, J.P. Malval, I. Leray, N. Lemaître, R. Pansu, V. Simic, H. Doyle, G. Redmond et B. Loiseaux. "Detection of nitroaromatic compounds based on photoluminescent side chain polymers", *Proc. SPIE 5990*, **2005**, 195-202.
- [38] T. Gunnlaugsson, M. Glynn, G.M. Tocci, P.E. Kruger et F.M. Pfeffer. "Anion recognition and sensing in organic and aqueous media using luminescent and colorimetric sensors", *Coord. Chem. Rev.*, **2006**, 250, 3094-3117.
- [39] A.P. de Silva et T.E. Rice. "A small supramolecular system which emulates the unidirectional, path-selective photoinduced electron transfer (PET) of the bacterial photosynthetic reaction centre (PRC)", *Chem. Commun.*, **1999**, 163-164.
- [40] B. Ramachandram, N.B. Sankaran, R. Karmakar, S. Saha et A. Samanta. "Fluorescence signalling of transition metal ions by multi-component systems comprising 4-chloro-1,8-naphthalimide as fluorophore", *Tetrahedron*, **2000**, 56, 7041-7044.
- [41] B. Ramachandram, G. Saroja, N.B. Sankaran et A. Samanta. "Unusually high fluorescence enhancement of some 1,8-naphthalimide derivatives induced by transition metal salts", *J. Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 11824-11832.
- [42] J.B. Wang, Y. Xiao, Z.C. Zhang, X.H. Qian, Y.Y. Yang et Q. Xu. "A pH-resistant Zn(II) sensor derived from 4-aminonaphthalimide: design, synthesis and intracellular applications", *J. Mat. Chem.*, **2005**, 15, 2836-2839.
- [43] J.K. Tusa et H.R. He. "Critical care analyzer with fluorescent optical chemosensors for blood analytes", *J. Mat. Chem.*, **2005**, 15, 2640-2647.
- [44] H.R. He, M.A. Mortellaro, M.J.P. Leiner, R.J. Fraatz et J.K. Tusa. "A fluorescent sensor with high selectivity and sensitivity for potassium in water", *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 1468-1469.
- [45] H.R. He, M.A. Mortellaro, M.J.P. Leiner, S.T. Young, R.J. Fraatz et J.K. Tusa. "A fluorescent chemosensor for sodium based on photoinduced electron transfer", *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 549-555.
- [46] H.L. Fan, X.J. Peng, Y.K. Wu, E.H. Lu, J. Hou, H.B. Zhang, R. Zhang et X.M. Fu. "A new PET fluorescent sensor for Zn²⁺", *J. Lumines.*, **2005**, 114, 125-130.

- [47] T. Gunnlaugsson, T.C. Lee et R. Parkesh. "A highly selective and sensitive fluorescent PET (photoinduced electron transfer) chemosensor for Zn(II)", *Org. Biomol. Chem.*, **2003**, *1*, 3265-3267.
- [48] R. Parkesh, T.C. Lee et T. Gunnlaugsson. "Highly selective 4-amino-1,8-naphthalimide based fluorescent photoinduced electron transfer (PET) chemosensors for Zn(II) under physiological pH conditions", *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, *5*, 310-317.
- [49] T. Gunnlaugsson, P.E. Kruger, T.C. Lee, R. Parkesh, F.M. Pfeffer et G.M. Hussey. "Dual responsive chemosensors for anions: the combination of fluorescent PET (photoinduced electron transfer) and colorimetric chemosensors in a single molecule", *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 6575-6578.
- [50] B. Liu et H. Tian. "A ratiometric fluorescent chemosensor for fluoride ions based on a proton transfer signaling mechanism", *J. Mat. Chem.*, **2005**, *15*, 2681-2686.
- [51] D. Esteban-Gomez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli et D. Sacchi. "A two-channel chemosensor for the optical detection of carboxylic acids, including cholic acid", *J. Mat. Chem.*, **2005**, *15*, 2670-2675.
- [52] Z.C. Xu, X.H. Qian et J.N. Cui. "Colorimetric and ratiometric fluorescent chemosensor with a large red-shift in emission: Cu(II)-only sensing by deprotonation of secondary amines as receptor conjugated to naphthalimide fluorophore", *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 3029-3032.
- [53] Z.C. Xu, Y. Xiao, X.H. Qian, J.N. Cui et D.W. Cui. "Ratiometric and selective fluorescent sensor for Cu-II based on internal charge transfer (ICT)", *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 889-892.
- [54] Z.C. Xu, X.H. Qian, J.A. Cui et R. Zhang. "Exploiting the deprotonation mechanism for the design of ratiometric and colorimetric Zn²⁺ fluorescent chemosensor with a large red-shift in emission", *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 10117-10122.
- [55] A.F.D. de Namor, R.G. Hutcherson, F.J.S. Velarde, A. Alvarez-Larena et J.L. Brioso. "Synthesis, characterisation and X-ray diffraction studies of new lower rim calix[4]arene derivatives containing mixed donor atoms", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 2933-2938.
- [56] M.S. Alexiou, V. Tychopoulos, S. Ghorbanian, J.H.P. Tyman, R.G. Brown et P.I. Brittain. "The uv-visible absorption and fluorescence of some substituted 1,8-naphthalimides and naphthalic anhydrides", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1990**, 837-842.
- [57] D.W. Yuan et R.G. Brown. "Enhanced nonradiative decay in aqueous solutions of aminonaphthalimide derivatives via water-cluster formation", *J. Phys. Chem. A*, **1997**, *101*, 3461-3466.
- [58] Y. Hirata, T. Okada et T. Nomoto. "Significant quenching of the photoinduced charge separated state of aminophenyl(phenyl)acetylene and N,N-dimethylaminophenyl (phenyl)acetylene in protic solvents", *J. Phys. Chem. A*, **1998**, *102*, 6585-6589.
- [59] S. Saha et A. Samanta. "Influence of the structure of the amino group and polarity of the medium on the photophysical behavior of 4-amino-1,8-naphthalimide derivatives", *J. Phys. Chem. A*, **2002**, *106*, 4763-4771.

Chapitre 3 : Vers de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES ET AXES D'ETUDES.....	- 72 -
1.1. Ligands sélectifs du cadmium.....	- 72 -
1.1.1. Ligands macrocycliques.....	- 72 -
1.1.2. Ligands incorporant des groupements thioamides.....	- 73 -
1.2. Fluoroionophores sélectifs du cadmium.....	- 74 -
1.2.1. Fluoroionophores de type PET.....	- 74 -
1.2.2. Cadmiation électrophile aromatique.....	- 75 -
1.2.3. Fluoroionophores de type PCT.....	- 76 -
1.3. Axes de recherche et conception de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium.....	- 78 -
II. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVEAUX COMPOSÉS DE TYPE THIOAMIDE.....	- 81 -
II.1. Obtention des composés cibles et effets photophysiques attendus.....	- 81 -
II.1.1. Synthèse des composés thioamides de type O.....	- 81 -
II.1.2. Synthèse des composés thioamides de type N.....	- 82 -
II.2. Etudes des propriétés des composés thioamides.....	- 85 -
II.2.1. Propriétés photophysiques des ligands thioamides.....	- 85 -
II.2.2. Propriétés complexantes des ligands thioamides.....	- 91 -
II.3. Conclusion sur les composés de type thioamide.....	- 96 -
III. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVELLES PINCES COMPLEXANTES SOUFREES.....	- 97 -
III.1. Obtention des pinces thiopyridine et thiopyrimidine.....	- 97 -
III.1.1. Analyse rétrosynthétique.....	- 97 -
III.1.2. Synthèse des composés PYR-CN et PYRIM-CN.....	- 98 -
III.2. Propriétés photophysiques des ligands PYR-CN et PYRIM-CN.....	- 99 -
III.3. Propriétés complexantes des ligands PYR-CN et PYRIM-CN.....	- 100 -
III.3.1. Sensibilité de la détection du mercure par PYR-CN.....	- 100 -
III.3.2. Sélectivité de la détection du mercure par PYR-CN.....	- 102 -
III.4. Conclusion sur les composés PYR-CN et PYRIM-CN.....	- 102 -
IV. SYNTHÈSE ET ETUDE DE NOUVEAUX COMPOSÉS INCORPORANT LE MOTIF PYRIDIN-2'-YL-1,2,3-TRIAZOLE.....	- 104 -
IV.1. Click chemistry et synthèse de composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 104 -
IV.1.1. Contexte de l'étude.....	- 104 -
IV.1.2. Synthèse des dérivés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 105 -
IV.2. Propriétés photophysiques des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 107 -
IV.2.1. Etude du sucre modèle Gluco-PT.....	- 107 -
IV.2.2. Etude comparée des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 114 -
IV.3. Propriétés complexantes des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 118 -
IV.3.1. Complexation du cadmium par les composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.....	- 118 -
IV.3.2. Sélectivité de la complexation du cadmium par β CD-PT7.....	- 130 -
IV.3.3. Discussion et conclusion.....	- 131 -
IV.4. Analogues des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole excitables à plus haute longueur d'onde.....	- 131 -
IV.4.1. Synthèse de composés substitués par des quinoléines.....	- 132 -
IV.4.2. Etude préliminaire du composé modèle.....	- 133 -
IV.4.3. Propriétés complexantes de Calix-QT4 avec le cadmium.....	- 134 -
IV.4.4. Conclusion sur les composés de type quinoléine.....	- 136 -
V. ETUDE D'UNE SONDE COMMERCIALE : LE RHOD-5N.....	- 138 -
V.1. Etude par spectroscopies stationnaires.....	- 138 -
V.1.1. Etude du ligand Rhod-5N en absence de cations.....	- 138 -
V.1.2. Complexation du cadmium par le ligand Rhod-5N.....	- 139 -
V.1.3. Etude de la sélectivité du ligand Rhod-5N.....	- 141 -
V.2. Etude par fluorimétrie résolue en temps.....	- 142 -
V.3. Conclusion de l'étude sur le Rhod-5N.....	- 143 -
VI. CONCLUSION GÉNÉRALE SUR LES FLUOROIONOPHORES SÉLECTIFS DE CADMIUM.....	- 145 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	- 147 -

Chapitre 3 : Vers de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium

Parmi les différents métaux lourds déclarés d'intérêt pour le programme Toxicologie Nucléaire Environnementale, le cadmium est sans doute le plus étudié en raison de sa forte toxicité et de sa teneur croissante dans l'environnement. Cependant, les sondes fluorescentes permettant la détermination de la concentration en cadmium ne sont pas nombreuses dans la littérature et aucune à l'heure actuelle ne satisfait aux critères nécessaires de sélectivité, sensibilité, solubilité, longueur d'onde d'excitation et insensibilité aux variations de pH. En particulier, la discrimination entre zinc et cadmium est particulièrement difficile, ces deux cations possédant des propriétés physico-chimiques très proches. La conception de ligands sélectifs du cadmium, *a fortiori* fluorescents, est donc particulièrement ardue. Les travaux présentés dans ce chapitre décrivent la conception et la synthèse de nouveaux composés fluorescents dont les propriétés complexantes vis-à-vis du cadmium ont été évaluées. Les contraintes de solubilité et de longueur d'onde d'excitation n'ont pas été prises en compte dans un premier temps, dans la mesure où les études présentées ici visent essentiellement à identifier les entités complexantes sélectives et affines du cadmium.

Ainsi, la première partie de ce chapitre sera consacrée à quelques rappels bibliographiques portant sur les ligands sélectifs du cadmium décrits dans la littérature, fluorescents ou non. A l'issue de ce récapitulatif, plusieurs axes de recherche seront dégagés. Tout d'abord, les groupements thioamides ayant montré une excellente affinité et une bonne sélectivité pour le cadmium, la conception de nouveaux chélatants fluorescents fonctionnalisés par des thioamides sera décrite. L'étude des propriétés complexantes et photophysiques de ces ligands sera entreprise. Dans une seconde partie, de nouvelles pinces complexantes comportant des atomes de soufre avec *a priori* une bonne affinité pour le cadmium seront synthétisées et étudiées en présence de différents métaux lourds. Puis, une part importante de ce chapitre sera consacrée à l'étude du motif pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole comme ligand bidentate potentiel du cadmium. Ainsi, toute une famille de composés a été synthétisée au laboratoire dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Professeur Juan Xie : un monomère, un dimère, un calix[4]arène tétrasubstitué et une β -cyclodextrine heptasubstituée. Tous ces composés ont fait l'objet d'investigations poussées en ce qui concerne leurs propriétés photophysiques en absence et en présence de cadmium, avec lequel ils forment des complexes particulièrement stables. Enfin, la dernière partie de ce chapitre sera dévolue à l'étude d'un senseur fluorescent sélectif du calcium commercialisé par la société Invitrogen, le Rhod-5N, car il complexe encore plus efficacement le cadmium en milieu aqueux à pH = 7. L'utilisation potentielle de ce composé comme senseur fluorescent de cadmium pour des milieux biologiques où le calcium n'est pas en large excès sera alors envisagée en terme de sélectivité et de sensibilité.

I. Rappels bibliographiques et axes d'études

L'objectif de cette première partie consiste à définir plusieurs axes de recherche pour la synthèse et l'étude de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium. Dans un premier temps, les travaux portant sur les agents complexants du cadmium utilisés pour l'extraction sélective de ce métal et pour la conception d'électrodes sélectives ou de dispositifs de type CHEMFET (Chemically Modified Field Effect Transistor) seront évoqués. Puis les quelques fluoroionophores sélectifs de cadmium décrits dans la littérature et leurs conditions d'utilisation seront détaillés. A l'issue de ce tour d'horizon, plusieurs voies de recherche pour l'étude de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium seront explorées.

I.1. Ligands sélectifs du cadmium

I.1.1. Ligands macrocycliques

Dans la mesure où le cadmium peut être considéré dans la classification de Pearson comme un cation intermédiaire à tendance molle, les atomes d'oxygène (durs) aussi bien que les atomes de soufre et d'azote (mous) sont susceptibles d'interagir efficacement avec le cation Cd^{2+} . Ainsi, les ligands présentés dans la littérature présentent des structures variées. En particulier, les macrocycles incluant plusieurs atomes d'azote complexants montrent des propriétés intéressantes, tout comme les macrocycles soufrés (*cf.* Figure 3-1).

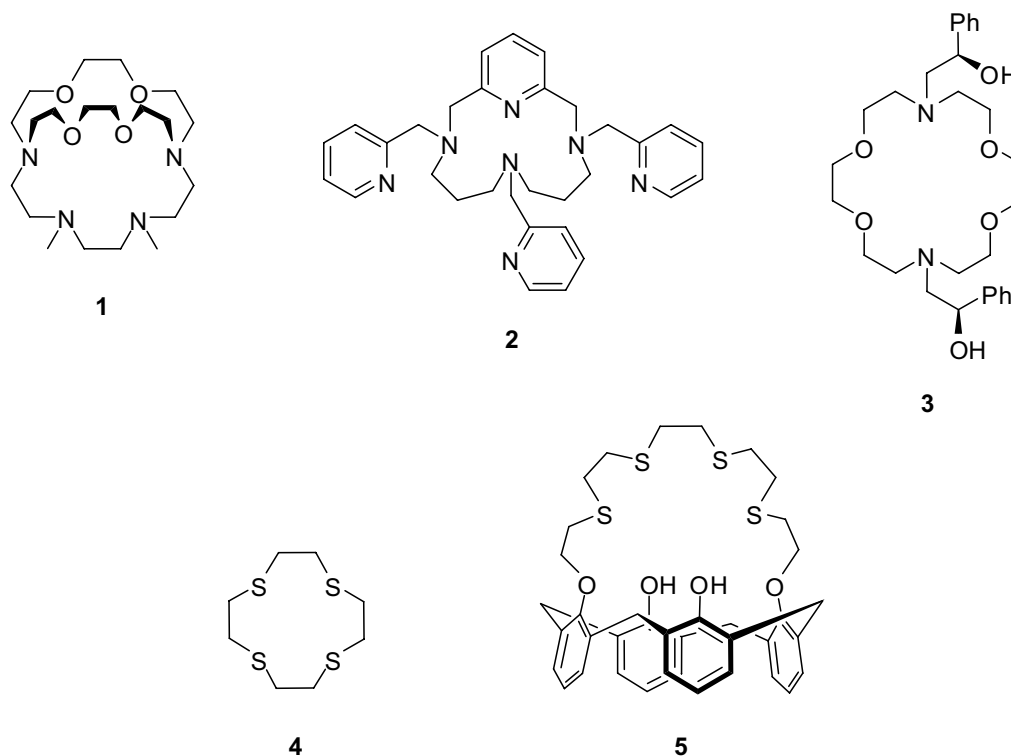


Figure 3-1. Exemples de ligands macrocycliques du cadmium.

Par exemple, le cryptand **1** complexe efficacement le cadmium en milieu aqueux ($\log \beta_{11} = 12$) et possède une bonne sélectivité par rapport au calcium et au zinc.¹ En effet, le rapport des constantes de stabilité des complexes de calcium et de zinc avec celle du complexe de cadmium est

respectivement de $10^{7,7}$ et de 10^6 . Néanmoins, le plomb et le mercure sont complexés encore plus efficacement par **1**. Enfin, ce type de composé est particulièrement sensible au pH et les cinétiques de complexation des cryptands sont souvent lentes.

A l'instar de **1**, le composé macrocyclique **2** à 14 atomes, substitué par trois groupements de type méthylpyridine, forme un complexe avec le cadmium qui possède une constante de stabilité extrêmement élevée en milieu aqueux ($\log \beta_{11} = 16,5$).² La sélectivité par rapport au zinc et au calcium est également très satisfaisante. En revanche, l'existence de multiples équilibres acido-basiques (cinq pK_a identifiés) et la sélectivité limitée par rapport au cuivre ou au nickel sont les principaux inconvénients de ce composé.

Le macrocycle **3** synthétisé par Caizza *et al.* présente des caractéristiques intéressantes. Accessible en une étape à partir de réactifs commerciaux, il forme dans le DMF un complexe très stable avec le cadmium ($\log \beta_{11} > 7,52$) alors que le zinc est très peu complexé ($\log \beta_{11} < 2$).³ Le fait qu'une coordinence de 8 soit plus favorable au cadmium qu'au zinc a été avancé pour expliquer cette remarquable sélectivité. Néanmoins, le plomb reste un interférent important puisqu'une coordination de 8 lui est également favorable. De plus, la possibilité d'utiliser ce composé en milieu aqueux et l'influence du pH ne sont pas décrites.

Moins sensibles au pH que leurs analogues azotés, les macrocycles soufrés représentent une alternative valable pour la conception de ligands sélectifs du cadmium. La couronne tétrasoufrée **4** a ainsi été immobilisée au sein d'une membrane PVC pour la conception d'une électrode sélective du cadmium. Une très faible limite de détection de 10^{-7} M a été atteinte et une bonne sélectivité vis-à-vis des métaux alcalins, alcalino-terreux et de nombreux autres métaux lourds et métaux de transition a été observée.⁴ De plus, le pH n'a montré aucun effet sur la réponse de l'électrode dans une gamme comprise entre 2,5 et 8. La formation de complexes très stables de stoechiométrie ML_2 avec le cadmium avait d'ailleurs déjà été mise en évidence pour **4** dans le 1,2-dichloroéthane ($\log \beta_{21} = 19,0$).⁵

Quant au calix[4]arène **5** en conformation cône substitué par un macrocycle incorporant quatre atomes de soufre, il permet l'extraction en phase organique ($CHCl_3$) du cadmium contenu dans une solution aqueuse.⁶ Jusqu'à 66 % du cadmium contenu en phase aqueuse ($[Cd^{2+}] = 10^{-5}$ M) peuvent ainsi être transférés en phase organique. Cependant, le plomb et le sodium (lorsqu'il est présent en large excès) sont également complexés.

I.1.2. Ligands incorporant des groupements thioamides

Synthétisés et étudiés pour la première fois dans l'équipe du Pr. Schneider, les composés de type *N,N,N',N'*-tétraalkyl-3-6-dioxa-octane-dithioamide sont des ionophores particulièrement sélectifs du cadmium. En plus de deux atomes d'oxygène durs, ils possèdent deux atomes de soufre complexants conférant ainsi à ces ligands un caractère intermédiaire du point de vue de la théorie HSAB. Ainsi, introduit au sein d'une membrane polymère, le dérivé substitué par une chaîne butyle (ETH 1062) complexe efficacement et de manière sélective le cadmium.⁷

Ce même composé ainsi que son analogue dodécylé ETH 5435 ont par la suite été intensivement étudiés par Pretsch et Bakker pour la réalisation d'électrodes⁸ et de microélectrodes⁹ sélectives du cadmium. De très faibles limites de détection du cadmium (jusqu'à 10^{-10} M) ont pu être atteintes avec ces composés.¹⁰ L'utilisation du ligand ETH 1062 comme agent de transfert

stoechiométrie 1:1 avec le cadmium est 20 fois supérieure à celle mesurée pour le zinc ($\log \beta_{11}^{\text{Cd}} = 4,8$ contre $\log \beta_{11}^{\text{Zn}} = 3,5$).¹⁵ En revanche, Ca^{2+} , Mn^{2+} et Sr^{2+} n'interfèrent pas.

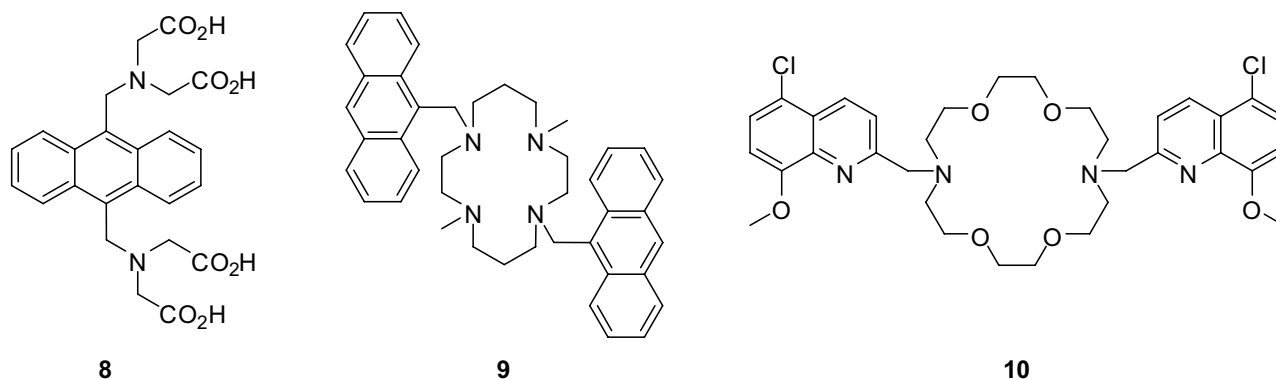


Figure 3-3. Fluoroionophores de type PET sélectifs du cadmium.

Le dérivé du 1,8-diméthylcyclame **9** substitué par deux groupements méthylantracènes diamétralement opposés possède également une bonne affinité pour le cadmium en milieu eau/acétonitrile 1:9 *v/v* tamponné à pH = 5 par un tampon acétate ($\log \beta_{11} = 4,2$).¹⁶ La complexation du cation provoque une augmentation du rendement quantique de fluorescence pour les mêmes raisons que celles évoquées précédemment. La sélectivité des dérivés de type cyclame reste cependant très limitée vis-à-vis de Hg^{2+} , Zn^{2+} et Cu^{2+} et les variations des propriétés photophysiques de ce ligand en fonction du pH sont importantes.

Enfin, Savage *et al.* ont synthétisé la couronne azotée **10** fonctionnalisée par deux groupes 5-chloro-8-méthoxyquinoléines et étudié ses propriétés complexantes dans le méthanol.¹⁷ L'ajout de Cd^{2+} entraîne un déplacement bathochrome des spectres d'absorption et d'émission en raison de la modification des propriétés de transfert de charge au sein du fluorophore (l'interaction du cation avec l'atome d'azote de la quinoléine l'appauvrit en électron et renforce le transfert de charge photoinduit). L'importante exaltation de fluorescence (d'un facteur 100 environ) s'explique, quant à elle, par l'inhibition du PET des atomes d'azote de la couronne vers les fluorophores excités. La constante de formation du complexe de cadmium dans le méthanol est élevée ($\log \beta_{11} = 6,1$) contrairement à celle mesurée pour le zinc ($\log \beta_{11} = 4,0$), mais la sélectivité envers Pb^{2+} , Hg^{2+} et Cu^{2+} est faible. La complexation du cadmium reste néanmoins efficace en milieu organo-aqueux et ce composé a par ailleurs été immobilisé au sein d'une matrice polymère permettant la détection de concentrations en cadmium de l'ordre du μM en milieu aqueux.¹⁸

I.2.2. Cadmiation électrophile aromatique

Parmi les différents fluoroionophores décrits pour la détection du cadmium, plusieurs possèdent un fluorophore anthracénique avec lequel le cation Cd^{2+} forme spécifiquement un complexe π dont le spectre de fluorescence est caractéristique. Les sites de reconnaissance du cation peuvent être de différentes natures : aza-couronne possédant cinq atomes d'azote, ou bien pinces de type iminodiacétates.

Ainsi, le premier exemple de ce type utilisé pour la détection du cadmium est issu d'une série d'aza-couronnes synthétisée par Czarnik *et al.* (**11**).¹⁹ En milieu tamponné à pH = 10, l'ajout

de deux équivalents de cadmium provoque une exaltation de fluorescence du ligand **11** d'un facteur 9 et un changement de la forme du spectre d'émission puisqu'une large bande d'émission non structurée centrée à 446 nm apparaît. En effet, la complexation du cation au sein de la couronne azotée inhibe le transfert d'électron photoinduit des atomes d'azote de la couronne vers l'anthracène excité. Quant à l'apparition d'une bande de fluorescence non structurée, elle s'explique par la formation d'un complexe π entre le cation Cd^{2+} complexé par la couronne et le cycle aromatique anthracène.²⁰ Cette caractéristique permet notamment de discriminer le cadmium du zinc. Un dispositif de mesure de type optode basé sur ce composé et capable de déterminer simultanément des concentrations en zinc et en cadmium de l'ordre de quelques $\mu\text{g L}^{-1}$ a d'ailleurs été mis au point.²¹ En revanche, l'intensité de fluorescence pour ce type de composé varie fortement entre $\text{pH} = 6$ et $\text{pH} = 9$ et la sélectivité thermodynamique est limitée.

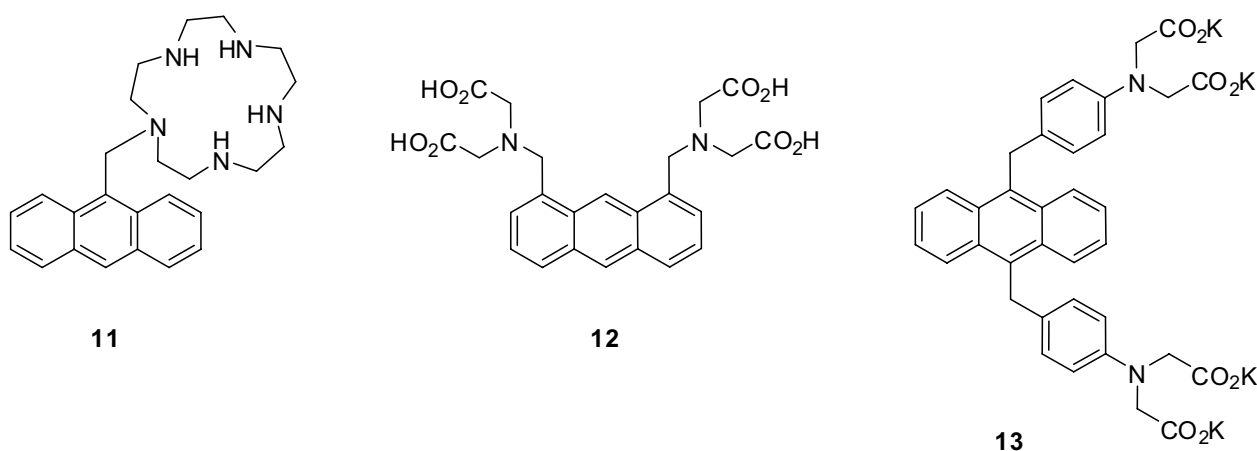


Figure 3-4. Fluoroionophores subissant une cadmiation électrophile aromatique.

La formation de complexes π entre le cation Cd^{2+} et les senseurs fluorescents **12** et **13** a également été mise en évidence. Ainsi, le composé **12** possède un rendement quantique de fluorescence élevé en milieu tamponné à $\text{pH} = 7$ en raison de l'existence d'une forme zwitterionique pour laquelle les deux atomes d'azote sont protonés. Alors que l'ajout de cations tels que Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} ou Pb^{2+} entraîne une diminution de l'intensité de fluorescence de la bande structurée de l'anthracène, la complexation de Cd^{2+} se traduit par l'apparition d'une bande large déstructurée centrée à 435 nm.²² En ce qui concerne le composé **13**, la complexation du cadmium à $\text{pH} = 7,4$ provoque des effets similaires : formation d'un complexe π entre le cation et l'anthracène ($\log \beta_{11} = 4,0$) et apparition d'une large bande de fluorescence centrée à 506 nm.^{23,24} Hormis Zn^{2+} pour lequel une exaltation de fluorescence (inhibition du PET) et une constante de stabilité comparable ($\log \beta_{11} = 3,8$) sont observés, Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} et Hg^{2+} ne provoquent pas de modification des propriétés photophysiques de **13**.

I.2.3. Fluoroionophores de type PCT

Le composé **14** synthétisé par Prodi *et al.* a longtemps constitué à notre connaissance l'un des seuls exemples de fluoroionophores de type PCT sensible au cadmium.²⁵ A l'instar de nombreux fluoroionophores incorporant des groupements dansyles, la formation d'un complexe ML avec le cadmium dans un milieu organo-aqueux acétonitrile/eau 1:1 *v/v* à $\text{pH} = 9,5$ s'accompagne de la

déprotonation des groupements dansyles. D'importants déplacements hypsochromes sont observés en absorption et en émission et le rendement quantique de fluorescence augmente car le caractère accepteur de la fonction sulfonamide est réduit lorsque celle-ci est déprotonée. Une mesure ratiométrique en émission est donc réalisable. Néanmoins, la sélectivité par rapport à Co^{2+} , Zn^{2+} et surtout Cu^{2+} n'est pas suffisante et la formation du complexe n'est pas observée pour des pH inférieurs à 7.

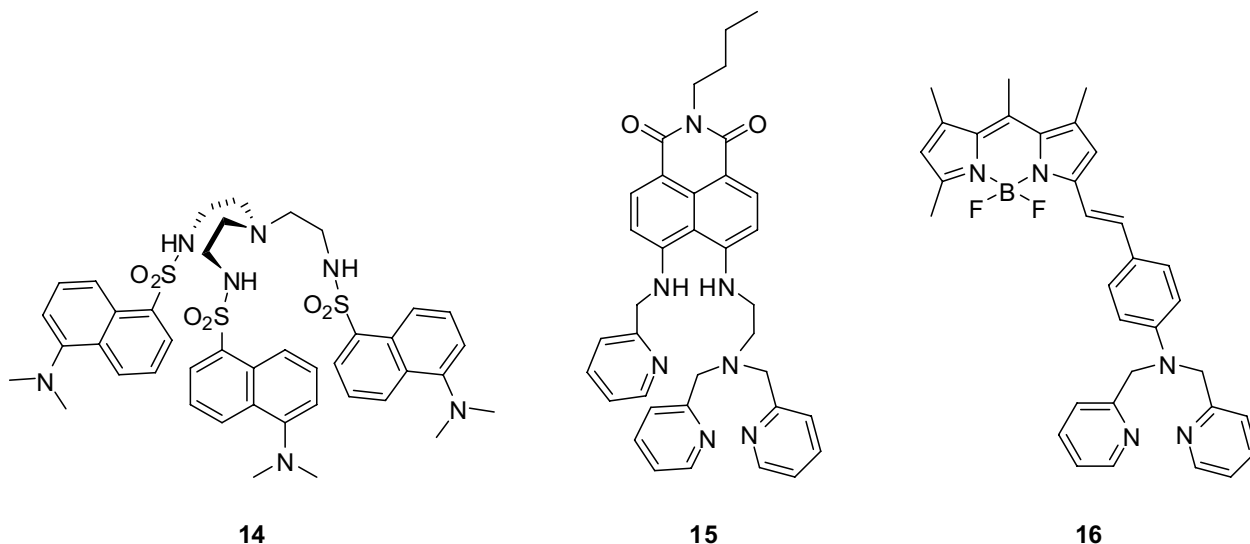


Figure 3-5. Fluoroionophores de type PCT sélectifs du cadmium.

Ce n'est finalement que très récemment que de nouveaux senseurs fluorescents de type PCT pour la détection de cadmium sont apparus. En 2007, les études menées par Qian *et al.* sur les naphthalimides substitués par des groupements de type 2-dipicolylamine ont ainsi montré que le composé **15** permettait la détection ratiométrique sélective du cadmium en milieu organo-aqueux éthanol/eau 9:1 *v/v* à pH = 7,2.²⁶ L'ajout de cadmium entraîne un déplacement hypsochrome des spectres d'émission et une augmentation du rendement quantique de fluorescence en raison d'une diminution du caractère donneur des groupes NH impliqués dans le transfert de charge photoinduit. La constante de formation du complexe ML est élevée ($\log \beta_{11} = 5,8$) et une limite de détection de 0,1 μM est envisageable. Bien que ce composé complexe aussi le zinc ($\log \beta_{11} = 5,2$), la discrimination zinc/cadmium est possible car les effets photophysiques associés à la formation du complexe de zinc sont différents (inhibition de fluorescence et déplacement bathochrome en absorption et en émission).

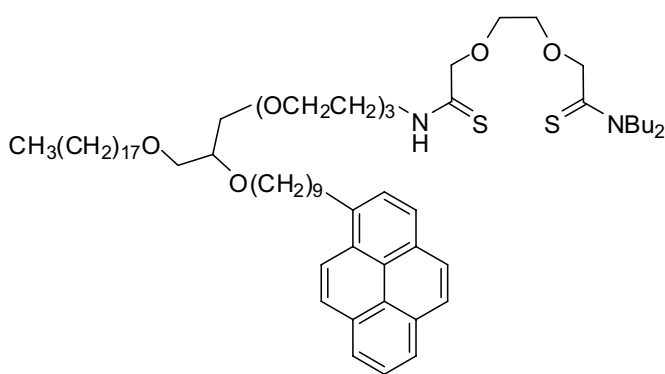
Quant au BODIPY **16** fonctionnalisé par une pince complexante de type 2-dipicolylamine, il complexe efficacement le cadmium dans un mélange acétone/eau 9:1 *v/v* à pH = 7,4 ($\log \beta_{11} = 4,2$).²⁷ La présence du cation Cd^{2+} diminue le caractère donneur de l'atome d'azote complexé et le transfert de charge photoinduit vers le groupement BODIPY est réduit. Il en résulte une exaltation de fluorescence et un déplacement vers le bleu des spectres d'émission. De manière surprenante, la sélectivité est très bonne notamment par rapport au zinc alors que l'entité complexante 2-dipicolylamine est connue pour complexer très efficacement ce cation, comme l'attestent les nombreux senseurs de la famille Zinpyr développés par Lippard *et al.*^{28,29} Les caractéristiques très

intéressantes du composé **16** ont finalement permis de réaliser des clichés d'imagerie du cadmium intracellulaire par microscopie de fluorescence (classique ou ratiométrique).

I.3. Axes de recherche et conception de nouveaux fluoroionophores sélectifs du cadmium

Après étude de l'ensemble des travaux présentés ci-dessus concernant les complexants sélectifs du cadmium (fluorescents ou non), quatre axes de recherche peuvent être définis.

- Fluoroionophores de type thioamide



17

Même si de nombreuses fonctions sont susceptibles de complexer le cadmium, les pinces oxygénées avec des groupements thioamides analogues au composé ETH 1062 semblent être particulièrement affines et sélectives. Or, il n'existe dans la littérature qu'un unique exemple de fluoroionophore possédant un site de reconnaissance de ce type (**17**). Synthétisé par Sasaki *et al.*, il permet la détection de concentrations en mercure de l'ordre de

100 nM à la surface de vésicules lipidiques via la formation d'excimères intermoléculaires. La détection du cadmium est également envisageable avec une limite de détection de 1 μ M, et cette méthode est insensible à la présence de larges excès de cations alcalins (100 mM).³⁰

Ainsi, la synthèse de nouveaux fluoroionophores possédant un site de complexation analogue à la pince ETH 1062 est une voie intéressante pour la détection du cadmium en absence de mercure. Deux approches ont été envisagées pour la conception de nouveaux fluoroionophores : soit la fixation d'un fluorophore entre les deux oxygènes de cette pince complexante (composés thioamides de *type O*), soit au niveau des azotes des fonctions thioamides (composés thioamides de *type N*).

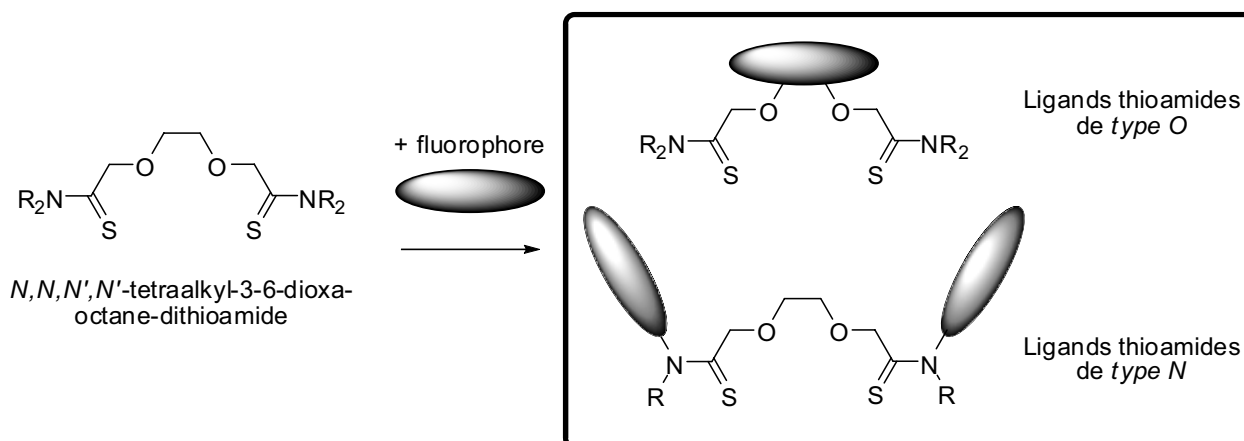


Figure 3-6. Fluoroionophores thioamides de type *O* et *N*.

- Pinces soufrées analogues de la 2-dipicolylamine

Le cadmium et le zinc possèdent des propriétés physicochimiques relativement proches, si ce n'est que le cadmium peut être considéré comme légèrement plus mou d'après la classification HSAB définie par Pearson. Les pinces de type 2-dipicolylamine sont connues pour leur très bonne affinité pour le zinc.^{28,29} Aussi, la synthèse de nouvelles pinces complexantes s'inspirant de la pince 2-dipicolylamine et incorporant des atomes de soufre complexants est une voie prometteuse (*cf.* Figure 3-7). Des complexes de cadmium avec des ligands de type pyridine-2-thione avant été décrits,³¹ le remplacement des groupes pyridines de la pince 2-dipicolylamine par des substituants thiopyridine ou thiopyrimidine a été envisagé.

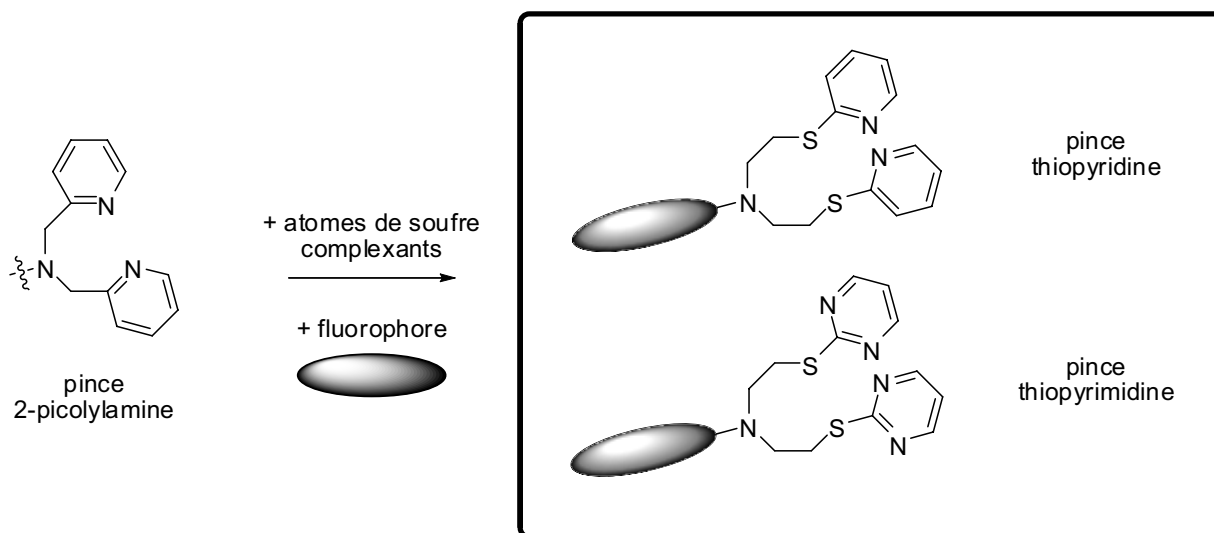
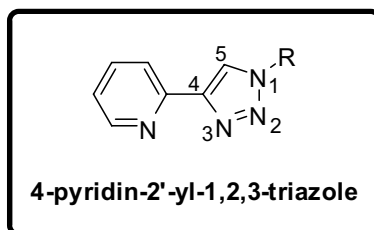


Figure 3-7. Pinces soufrées cibles analogues de la pince 2-picolylamine.

- Nouveaux ligands azotés complexants du cadmium

Parmi les différents ligands présentés, un certain nombre d'entre eux possède des cycles aromatiques azotés comme entités complexantes. Au sein du laboratoire, l'équipe du Pr. Juan Xie a par ailleurs synthétisé une β -cyclodextrine incorporant sept motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles fluorescents et possédant une bonne affinité pour le zinc.³² L'étude des propriétés photophysiques de ce composé mais également du motif fluorescent pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole, ainsi que leurs propriétés complexantes vis-à-vis du cadmium, s'avère intéressante.



Cette étude préliminaire est en effet susceptible de déboucher sur la conception et la synthèse de nouveaux ligands dont les propriétés complexantes et photophysiques auront été optimisées.

- Potentialités d'une sonde de calcium, le Rhod-5N, pour la détection du cadmium

L'une des caractéristiques communes à plusieurs ligands sélectifs du cadmium décrits dans les deux paragraphes précédents est l'utilisation de groupements iminodiacétates comme entité de reconnaissance. Or, les pinces de type BAPTA (1,2-Bis(2-AminoPhenoxy)ethane-*N,N,N',N'*-Tetraacetic Acid) mises au point par Tsien *et al.* et à l'origine de nombreux senseurs fluorescents de calcium possèdent deux groupements complexants de ce type.^{33,34,35} L'utilisation de tels composés pour la détection du cadmium mérite d'être examinée dans la mesure où la concentration en calcium n'est pas trop élevée. Le senseur Indo-1 a ainsi été utilisé pour la détection de cadmium en milieu aqueux et une limite de détection de 10^{-7} M en présence de 10^{-6} M de calcium ($[Ca^{2+}]$ intracellulaire) a été atteinte.³⁶ La sonde BTC-5N permet également la détection de très faibles concentrations en cadmium (jusqu'à $3 \mu\text{g L}^{-1}$).³⁷ Bien que la sélectivité envers les autres métaux lourds (Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+}) ne soit pas excellente, l'affinité du BTC-5N pour le cadmium est très supérieure à celle pour le calcium et résulte du remplacement d'un groupement méthyle par un groupement NO_2 en position 5 du second cycle phényle de la pince BAPTA. Ce composé a notamment été utilisé pour réaliser des expériences d'imagerie du cadmium intracellulaire par microscopie de fluorescence.^{38,39}

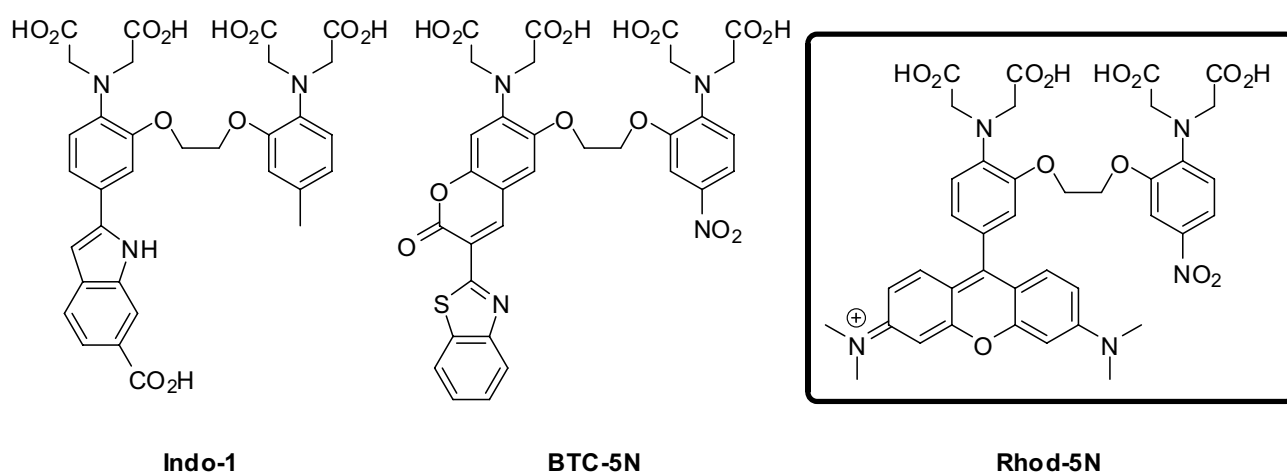
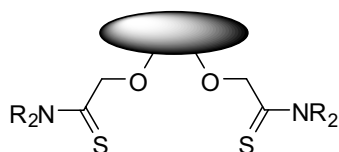


Figure 3-8. Senseurs fluorescents de type BAPTA pour la détection du cadmium.

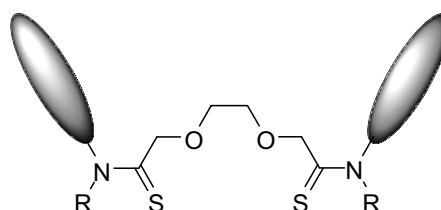
Le composé Rhod-5N commercialisé par la société Invitrogen possède un site de complexation analogue au composé BTC-5N.⁴⁰ Il présente également l'avantage d'être excitable à haute longueur d'onde et est soluble en milieu aqueux. Dans la mesure où aucune étude n'a encore été réalisée sur son utilisation potentielle comme senseur fluorescent de cadmium, l'étude des propriétés photophysiques et complexantes de ce ligand en présence de cadmium a été réalisée.

II. Synthèse et étude de nouveaux composés de type thioamide

Comme il l'a été mentionné dans le paragraphe I.1.2 de ce chapitre, les pinces incorporant des fonctions thioamides devraient constituer d'excellents ligands du cadmium et offrir une sélectivité intéressante vis-à-vis de nombreux autres métaux lourds. Deux approches menant à l'obtention de fluoroionophores de *type O* et de *type N* ont été définies précédemment. Ainsi, la synthèse de ces nouveaux fluoroionophores sera décrite dans un premier temps, puis l'étude de leurs propriétés photophysiques et complexantes sera entreprise.



Ligands thioamides
de *type O*

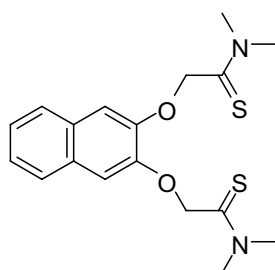


Ligands thioamides
de *type N*

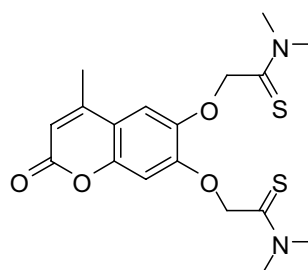
II.1. Obtention des composés cibles et effets photophysiques attendus

II.1.1. Synthèse des composés thioamides de type O

Pour les composés thioamides de *type O*, la fonctionnalisation par le fluorophore s'effectue entre les deux atomes d'oxygène. Deux composés ont été synthétisés sur ce principe : l'un avec un fluorophore modèle naphthalène (THIO-NAPH), l'autre avec un fluorophore à transfert de charge photoinduit de type coumarine (THIO-COU).



THIO-NAPH



THIO-COU

Lors de la complexation du cation au sein de la pince complexante, des modifications spectrales sont attendues pour les composés THIO-NAPH et THIO-COU. En particulier pour le second, la chélation du cation Cd^{2+} aux deux oxygènes en position 6 et 7 du noyau coumarine est sensée diminuer leur caractère donneur. Le transfert de charge photoinduit qui s'effectue entre ces deux oxygènes donneurs et la lactone acceptrice est donc réduit en présence de cation. Par conséquent, un déplacement spectral des spectres d'absorption et de fluorescence vers les courtes longueurs d'onde devrait être observé.

La synthèse de ces deux composés s'effectue en deux étapes à partir des réactifs commerciaux dihydroxylés suivants : le 2,3-dihydroxynaphtalène **18** et la 6,7-dihydroxy-4-méthylcoumarine **19**. En présence d'hydrure de sodium dans le DMF anhydre, la réaction de dialkylation de ces réactifs commerciaux avec un excès de 2-chloro-*N,N*-diméthylacétamide permet l'obtention des composés amides AMI-NAPH et AMI-COU avec des rendements respectifs de 65 % et 70 %. Ceux-ci sont alors transformés en leurs analogues thioamides THIO-NAPH et THIO-COU par réaction avec le réactif de Lawesson^a à 60°C dans le toluène.^{41,42} Les composés finaux sont tous deux obtenus avec des rendements satisfaisants de 72 % et 68 % (*cf.* Figure 3-9).

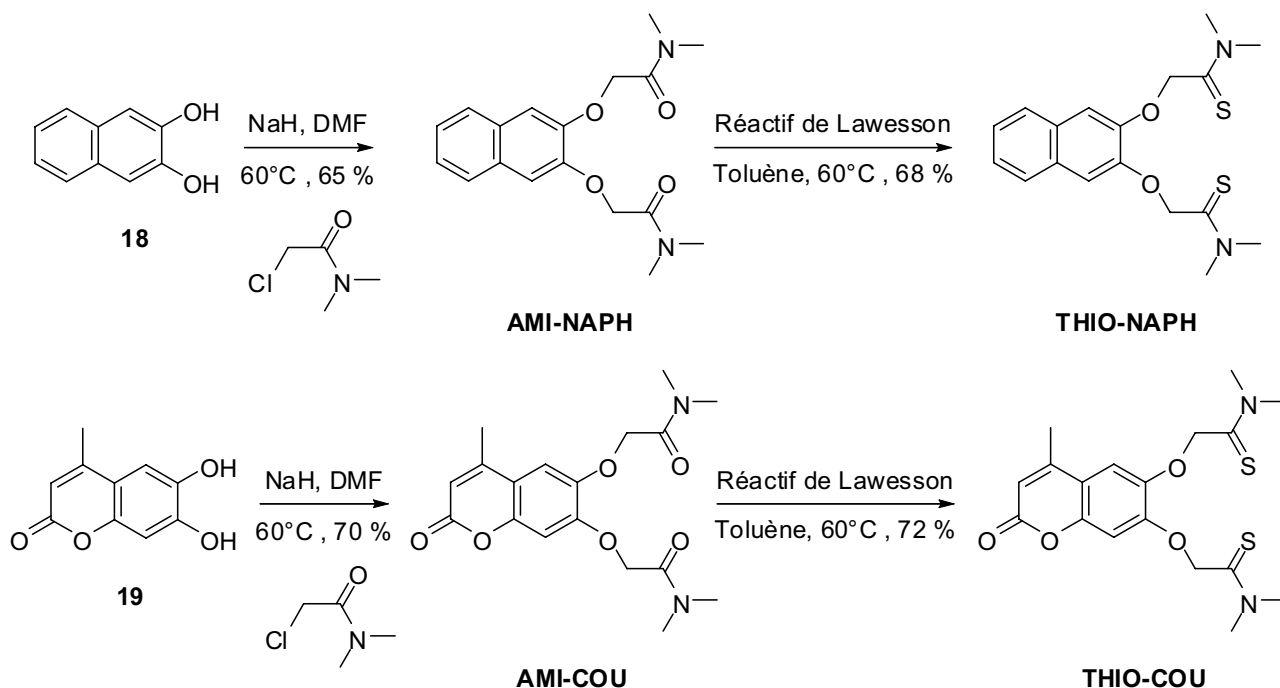


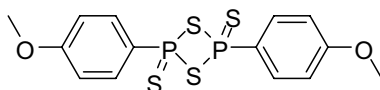
Figure 3-9. Synthèse des composés THIO-NAPH et THIO-COU.

II.1.2. Synthèse des composés thioamides de type N

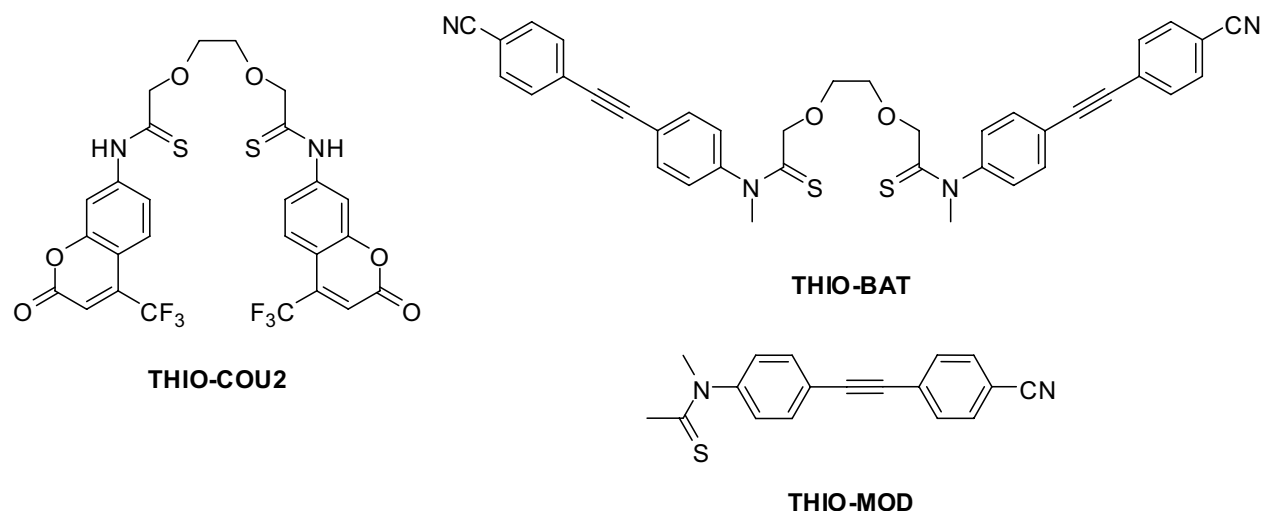
Les composés thioamides de *type N* sont fonctionnalisés par deux fluorophores greffés sur les azotes de la pince complexante. La synthèse de deux composés a été entreprise : le premier avec une coumarine comme fluorophore (THIO-COU2), le second avec un bâtonnet de type phénylacétylène donneur- π -accepteur (THIO-BAT). Un composé modèle de type bâtonnet simple monodente (THIO-MOD) a également été synthétisé.

Ces trois composés sont conçus comme des fluoroionophores potentiels de type PCT. En effet, les 7-aminocoumarines subissent un important transfert de charge photoinduit du groupement amino donneur vers la lactone acceptrice lors de l'excitation. Quant aux bâtonnets phénylacétylènes, ils constituent des fluorophores de type PCT de choix lorsqu'ils sont substitués à l'une de leurs extrémités par un groupement donneur (N-alkyle), et à l'autre par un groupement attracteur (CN).⁴³ La chélation du cation Cd^{2+} au niveau de la fonction thioamide est donc

^a Formule du réactif de Lawesson :



susceptible de modifier le caractère donneur de l'atome d'azote impliqué dans le transfert de charge photoinduit au sein de la coumarine ou du bâtonnet. Il devrait en résulter des déplacements spectraux très intéressants en vue d'une mesure ratiométrique en émission.



Ainsi, la stratégie de synthèse utilisée consiste à utiliser le triéthylène glycol comme plateforme de départ pour la fonctionnalisation des extrémités de la pince complexante par différents fluorophores. Le triéthylène glycol est d'abord oxydé de manière quantitative dans l'acide nitrique à 70 % de manière à obtenir le composé **21** fonctionnalisé par deux groupements acides carboxyliques terminaux.⁴⁴ Le diacide est ensuite transformé en chlorure d'acide dans le toluène à 90°C en présence de chlorure d'oxalyle. Le dichlorure d'acide **22** possédant une forte réactivité est immédiatement ajouté à une solution de 7-amino-4-(trifluorométhyl)coumarine **23** dans le THF en présence de triéthylamine. Le produit de la réaction d'acylation AMI-COU2 est obtenu avec un rendement de 29 %. La transformation des fonctions amides en thioamides est réalisée par le réactif de Lawesson dans le toluène à 90°C et permet l'obtention du composé final THIO-COU2 avec un rendement de 43 %.

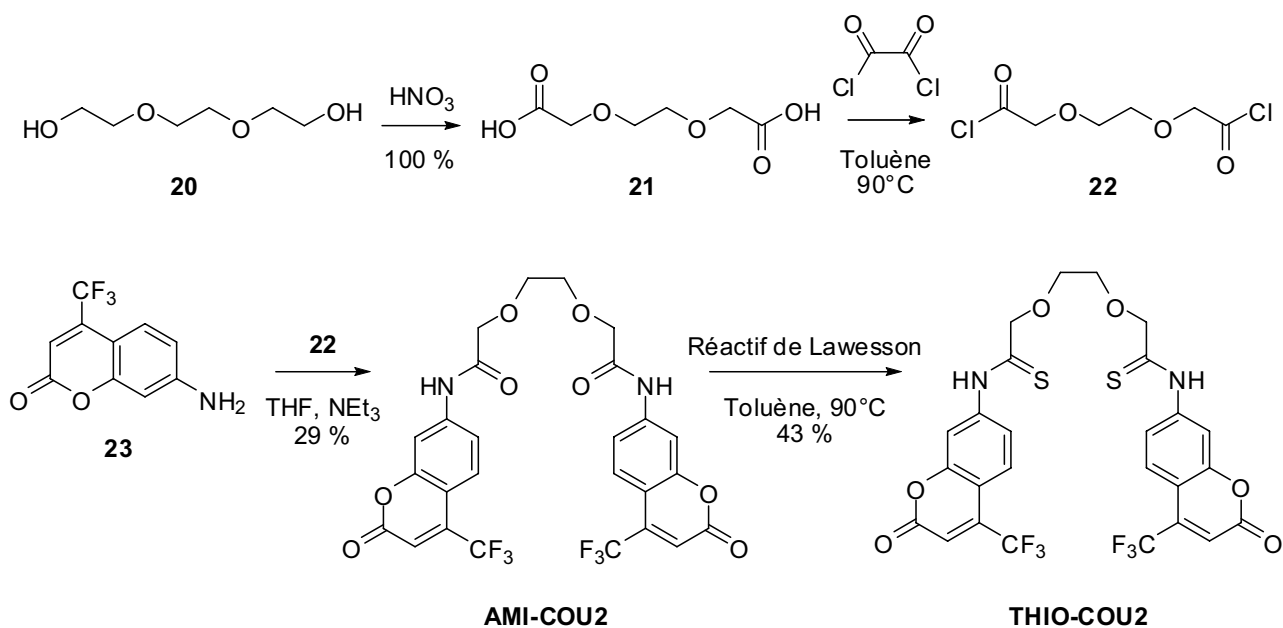


Figure 3-10. Synthèse du composé THIO-COU2.

L'approche utilisée pour la synthèse des composés bâtonnets est similaire. La 4-iodoaniline est monométhylée par l'iodure de méthyle dans le THF en présence de triéthylamine avec un rendement modeste de 34 % puis le produit **24** est mis à réagir avec le chlorure d'acide **22** dans le THF en présence de triéthylamine. Le composé diiodé **25** est alors formé avec un rendement de 71 %. Le couplage de Sonogashira entre ce composé et le 4-éthynylbenzonitrile commercial dans des conditions classiques (CuI, Pd(PPh₃)₄, NEt₃, toluène) fournit le dérivé amide AMI-BAT avec un excellent rendement de 95 %. La formation du composé THIO-BAT s'effectue alors par réaction du composé amide avec le réactif de Lawesson dans le toluène avec un rendement de 60 %.

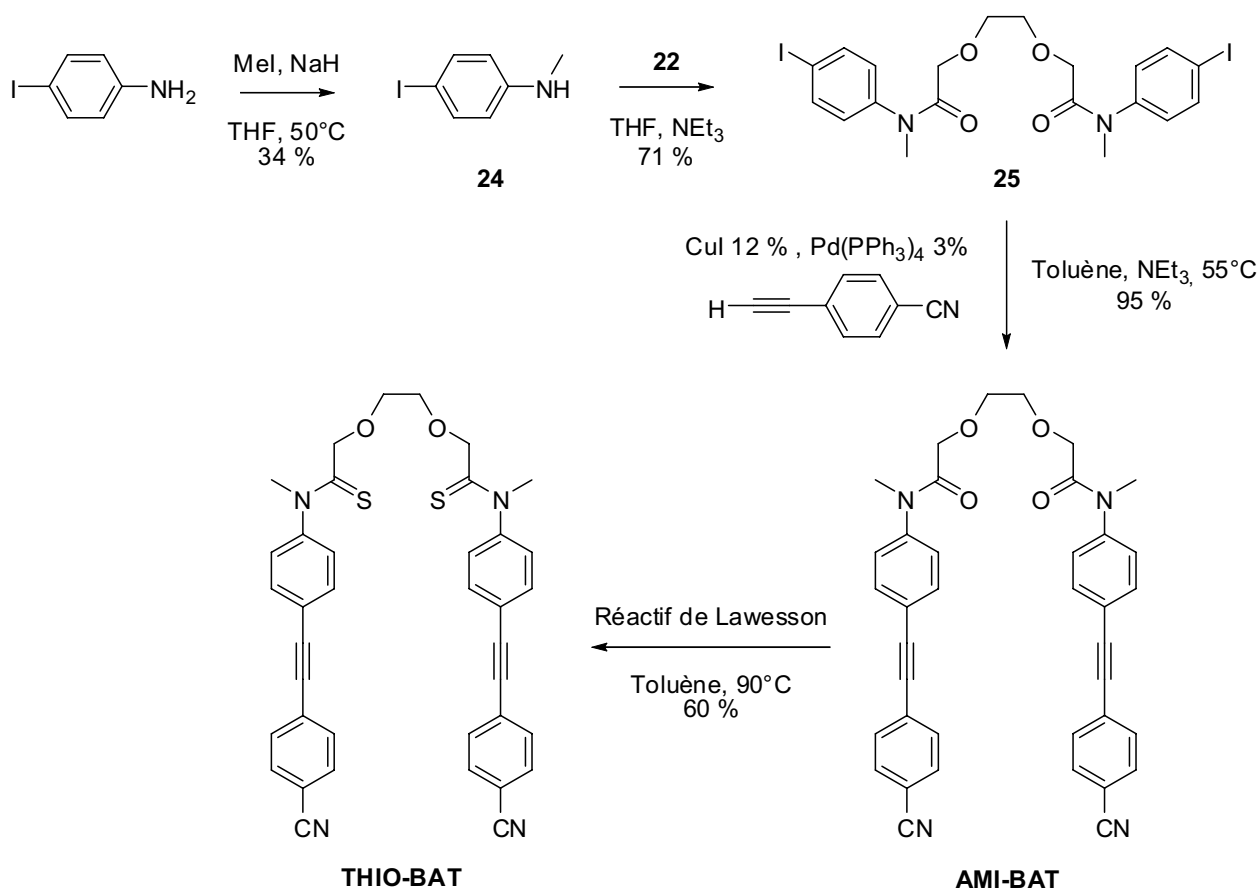


Figure 3-11. Synthèse du composé THIO-BAT.

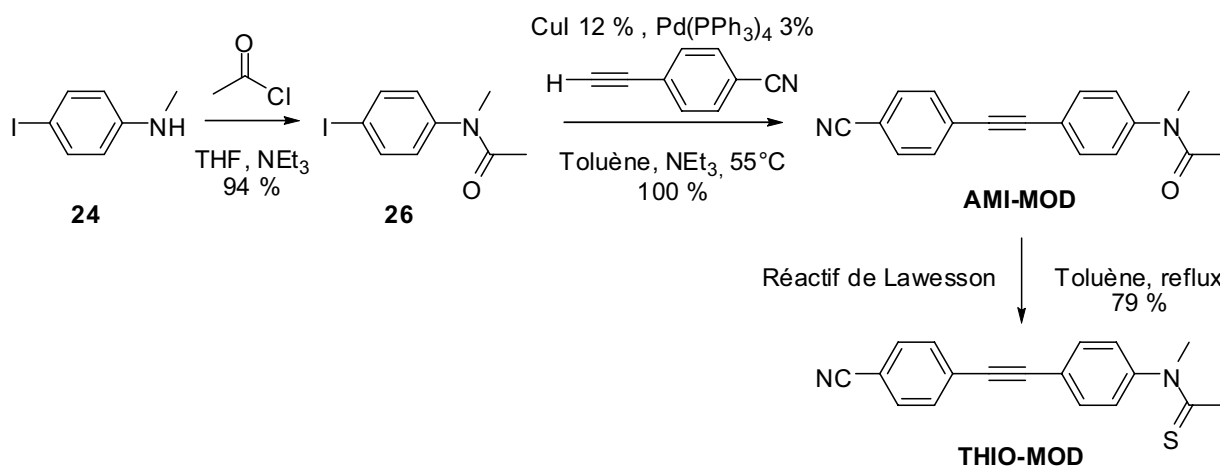


Figure 3-12. Synthèse du composé THIO-MOD.

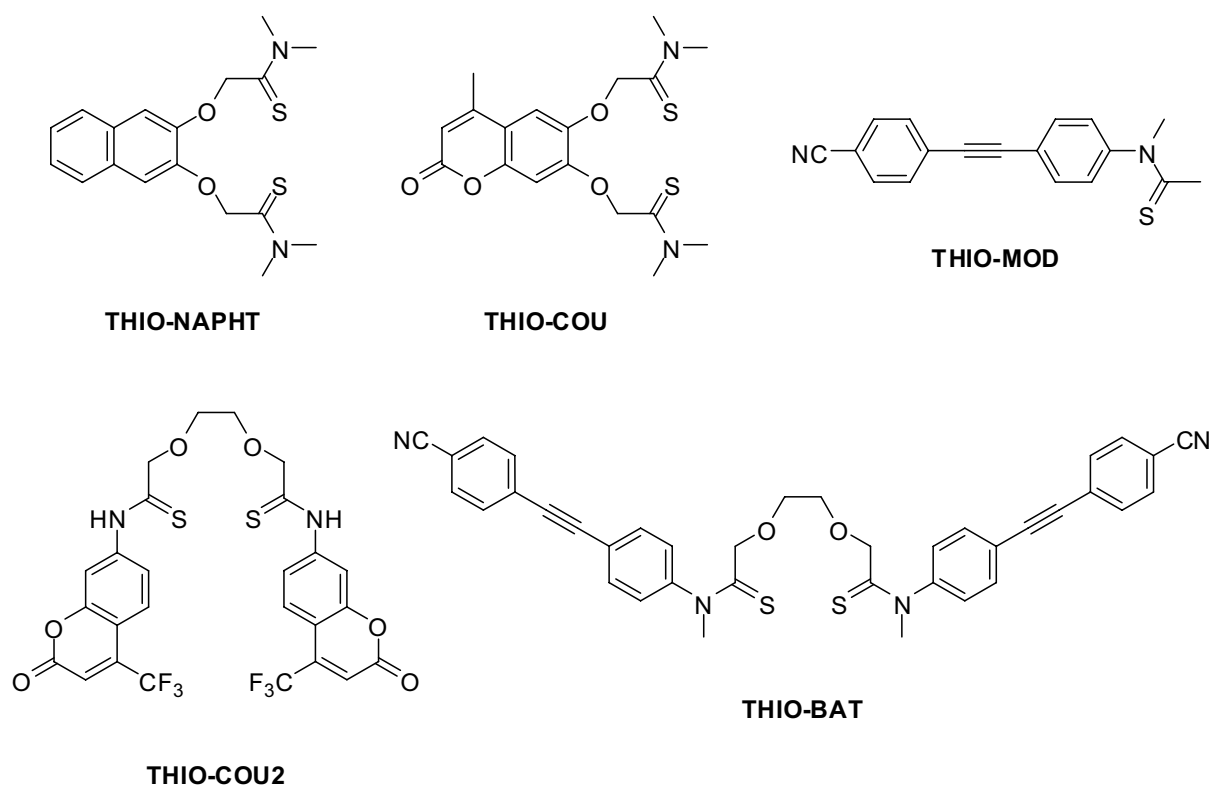
En ce qui concerne le bâtonnet modèle THIO-MOD, sa synthèse est également réalisée à partir de la *N*-méthyl-4-iodoaniline **24**. Le dérivé iodé **26** est formé par réaction avec le chlorure d'acétyle puis la synthèse du bâtonnet est effectuée par couplage de Sonogashira avec le 4-éthynylbenzonnitrile dans les mêmes conditions que précédemment. Le composé AMI-MOD est obtenu avec un rendement global sur ces deux étapes de 94 %. Le produit final THIO-MOD est alors obtenu à partir de AMI-MOD dans des conditions classiques avec un rendement de 79 %.

II.2. Etudes des propriétés des composés thioamides

Plusieurs composés fonctionnalisés par des groupements thioamides et incorporant un fluorophore (coumarine, naphthalène, phénylacétylènes conjugués) ont été synthétisés. Dans ce paragraphe, les propriétés photophysiques de ces composés seront étudiées puis l'influence de la présence d'un métal sur les propriétés émissives de ces ligands sera discutée.

II.2.1. Propriétés photophysiques des ligands thioamides

Le DMSO a la particularité de pouvoir être utilisé à un faible pourcentage comme co-solvant organique pour certaines expériences en milieu biologique. Dans la mesure où les composés thioamides synthétisés ne sont pas solubles en milieu aqueux, les études de leurs propriétés photophysiques présentées ci-dessous ont été réalisées dans le DMSO. Les formules des ligands étudiés sont rappelées ci-dessous.



Absorption et fluorescence stationnaires

Les spectres d'absorption des composés THIO-COU, THIO-NAPHT, THIO-COU2, THIO-MOD et THIO-BAT sont enregistrés dans le DMSO et sont présentés sur la Figure 3-13(a). Les coefficients d'absorption molaires de ces composés ainsi que leurs différents paramètres photophysiques sont récapitulés dans le Tableau 3-1. En ce qui concerne les longueurs d'onde des maxima des spectres

d'absorption, le spectre du composé THIO-COU2 est déplacé vers les grandes longueurs d'onde par rapport à celui de THIO-COU en raison du caractère polaire plus marqué de son état excité (état de transfert de charge). Comparativement à THIO-COU, la différence s'explique d'une part par l'effet inductif attracteur du groupement CF_3 qui renforce le caractère accepteur de la lactone, et d'autre part par le caractère donneur supérieur du groupement amine par rapport aux fonctions alkoxy.

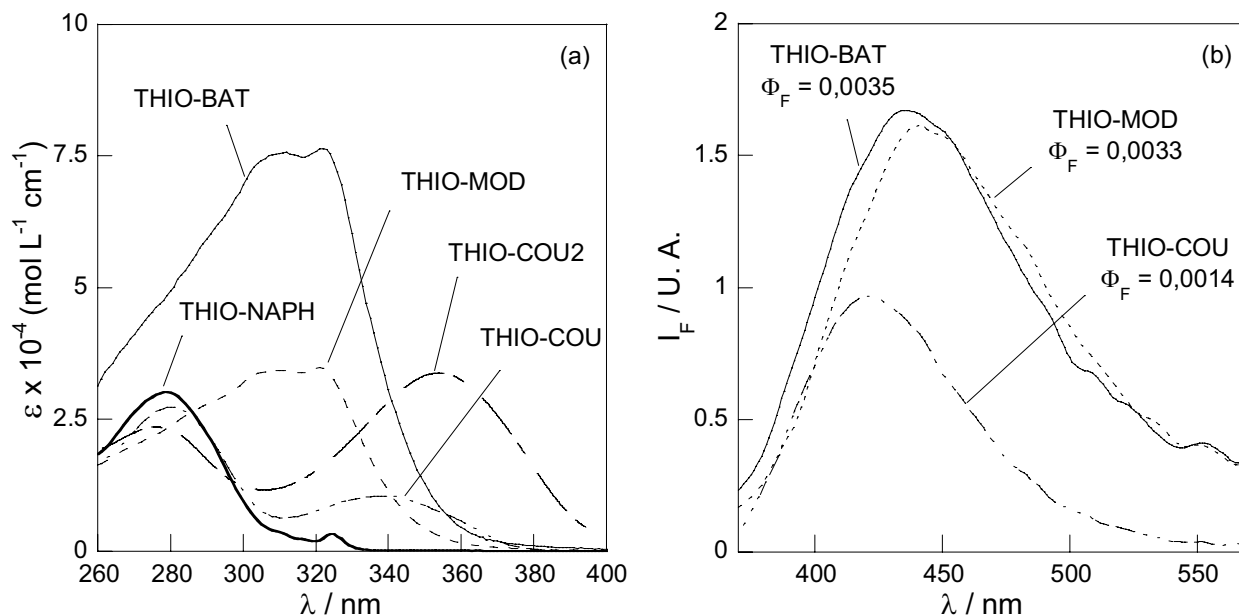


Figure 3-13. (a) Spectres d'absorption et (b) spectres de fluorescence des composés de la famille thioamide dans le DMSO ($\lambda_{exc} = 320 \text{ nm}$).

	THIO-NAPH	THIO-COU	THIO-COU2	THIO-MOD	THIO-BAT
$\lambda_{max}^{abs} \text{ (nm)}^*$	279	339	354	321	322
$\epsilon \text{ (mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1})^{**}$	30300	10500	33900	34800	76400
$\lambda_{max}^{em} \text{ (nm)}^{***}$	nd	420	nd	441	436
Φ_F^{**}	< 0,001	0,0014	< 0,001	0,0033	0,0035
$\Phi_F \text{ (amide)}^{**}$	0,44	0,14	0,022	0,60	0,50

* déterminé à $\pm 1 \text{ nm}$, ** déterminé à $\pm 10 \%$, *** déterminé à $\pm 5 \text{ nm}$

Tableau 3-1. Paramètres photophysiques des composés de la famille thioamide dans le DMSO.

Concernant les propriétés émissives de ces composés dans le DMSO, leur rendement quantique de fluorescence est particulièrement faible compte tenu des fluorophores utilisés. Les rendements quantiques de fluorescence des composés THIO-NAPH et THIO-COU2 n'ont d'ailleurs pas pu être mesurés. Cette très faible fluorescence a également été mise en évidence dans d'autres solvants, polaires ou apolaires, protiques ou non protiques. Il est par ailleurs intéressant de noter que la fonction thioamide semble être à l'origine de la diminution très importante des rendements quantiques de fluorescence des ligands utilisés puisque les analogues amides possèdent des rendements quantiques de fluorescence beaucoup plus élevés que les composés thioamides. Par exemple, le rendement quantique de fluorescence du composé AMI-COU est de 0,14. Cette valeur est comparable à celle de composés de type 6,7-dialkoxy-4-méthylcoumarines en milieu polaire (*cf.* Chapitre 4). Pourtant, il n'est que de 0,0014 pour THIO-COU dans le DMSO. Les mêmes observations sont valables pour les composés bâtonnets puisque le rendement quantique de

fluorescence est de 0,6 pour le bâtonnet modèle AMI-MOD contre 0,0033 pour le composé THIO-MOD.

Par ailleurs, le ligand THIO-COU s'est révélé peu stable dans le DMSO sous l'effet d'une irradiation prolongée. Afin d'éventuellement identifier les photoproduits formés, une solution concentrée de ce composé dans le DMSO deutéré a été irradiée à 355 nm à l'aide d'un laser nanoseconde (12 mJ / impulsion, 10 impulsions par seconde) et la réaction de photolyse a été suivie conjointement par absorption UV-visible et RMN ^1H (Figure 3-14). L'évolution des spectres d'absorption en fonction de la durée d'irradiation se caractérise par l'apparition d'une bande d'absorption centrée à 410 nm et d'une bande de diffusion. La solution, initialement incolore, prend alors une coloration jaune orangée, puis marron. En ce qui concerne le suivi réalisé en RMN ^1H , la disparition du composé THIO-COU est bel et bien observée mais l'identification d'un éventuel produit de réaction majoritaire n'a pu être réalisée. En effet, l'irradiation prolongée conduit à la disparition des signaux RMN des protons aromatiques ce qui est caractéristique de la formation de très nombreux photoproduits. L'apparition de la bande de diffusion peut être expliquée par la solubilité limitée de certains de ces photoproduits dans le DMSO.

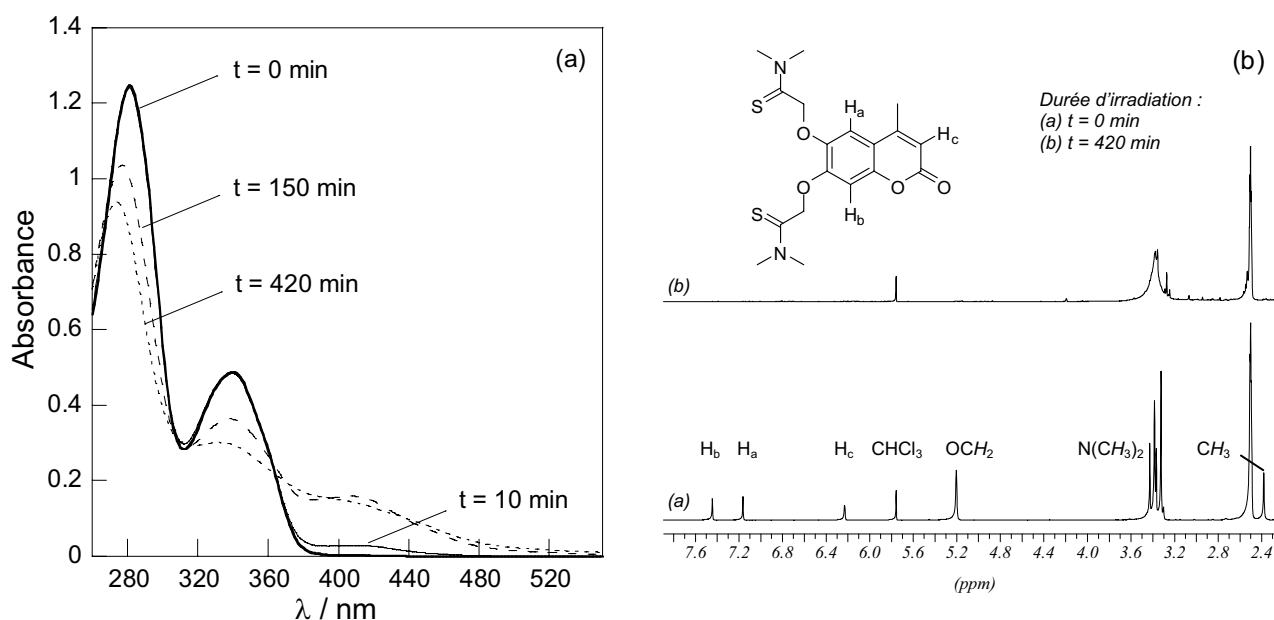


Figure 3-14. (a) Evolution des spectres d'absorption de THIO-COU dans le DMSO- d_6 ($[L] = 4,6 \times 10^{-5} M$) en fonction de la durée d'irradiation à 355 nm et (b) spectres RMN ^1H dans le DMSO- d_6 ($[L] = 1,1 \times 10^{-2} M$) avant et après irradiation.

A la lumière des propriétés décrites ci-dessus, plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer le faible rendement quantique de fluorescence des composés thioamides et, pour certains, leur photodégradation. Des mesures d'électrochimie et d'absorption transitoire ont donc été réalisées afin de déterminer si ce comportement était dû à un croisement intersystème (passage de l'état singulet S_1 à un état triplet) ou bien à un transfert d'électron à l'état excité.

Etude absorption transitoire nanoseconde et par électrochimie

La première hypothèse envisagée pour expliquer le très faible rendement quantique de fluorescence est la possibilité d'un passage à l'état triplet. Afin de vérifier cette éventualité, des mesures

d'absorption transitoire sur le composé THIO-COU et son analogue amide AMI-COU ont été entreprises.

Ainsi, les spectres d'absorption de l'état triplet pour ces deux composés ont été enregistrés (*cf.* Figure 3-15). Les mesures sur le composé THIO-COU sont peu précises car le composé se photodégrade partiellement dans le temps de la mesure sous l'effet de l'irradiation par le laser nanoseconde. A l'échelle de la microseconde, la valeur de l'absorption transitoire n'est pas constante, décroît rapidement et demeure très faible. Ainsi, comme le montre le spectre reconstruit présenté sur la Figure 3-15(c) qui prend en compte la valeur moyenne de l'absorption transitoire entre 0,04 et 0,06 μs après l'excitation, l'absorption de l'état triplet demeure extrêmement faible quelle que soit la longueur d'onde. L'aspect bruiteux du spectre reconstruit s'explique par la très faible valeur de l'absorption transitoire mesurée et par la photodégradation qui perturbe les mesures.

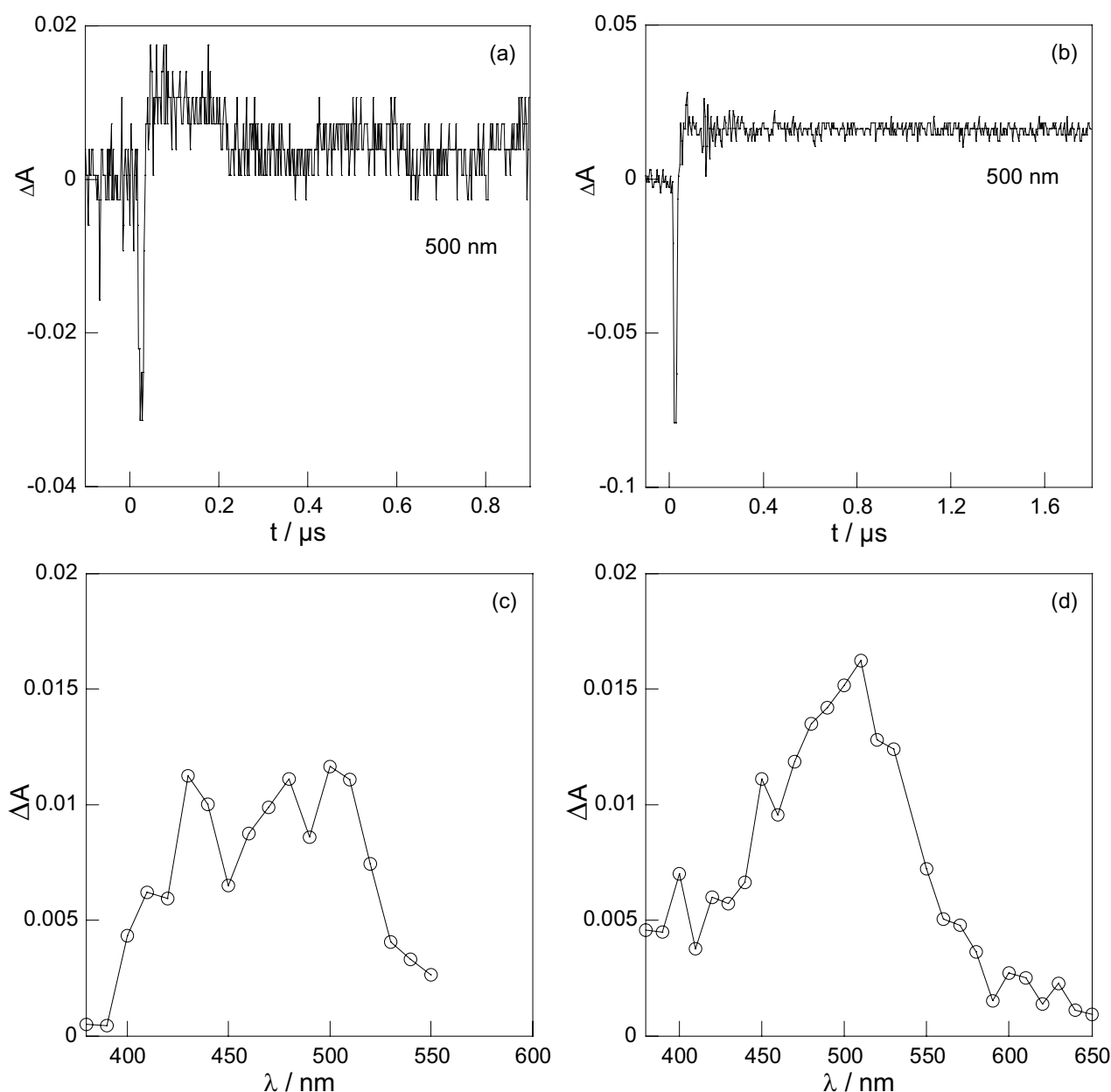


Figure 3-15. Absorption transitoire à 500 nm (a) de THIO-COU et (b) de AMI-COU ; spectres d'absorption transitoire reconstruits (c) de THIO-COU (moyenne des valeurs entre 0,04 et 0,06 μs après l'excitation) et de (d) AMI-COU (moyenne des valeurs entre 0,3 et 0,5 μs après l'excitation) dans le DMSO dégazé, excitation par un laser Nd-YAG à 355 nm (10 impulsions, 10 mJ / impulsion).

En ce qui concerne le composé amide AMI-COU, l'absorption transitoire de l'état triplet dans le DMSO est constante à l'échelle de la microseconde. Le spectre d'absorption de l'état triplet est relativement faible et présente un maximum aux alentours de 500 nm. Ces résultats sont en accord avec ceux reportés dans la littérature pour des composés similaires.⁴⁵ Il est par ailleurs essentiel de noter que ces valeurs sont même légèrement supérieures à celles enregistrées pour le composé thioamide. Dans la mesure où le spectre d'absorption de l'état triplet du composé thioamide est plus faible que celui du composé amide, le passage par un état triplet n'est sans doute pas le mécanisme à l'origine du faible rendement quantique de fluorescence des composés thioamides.

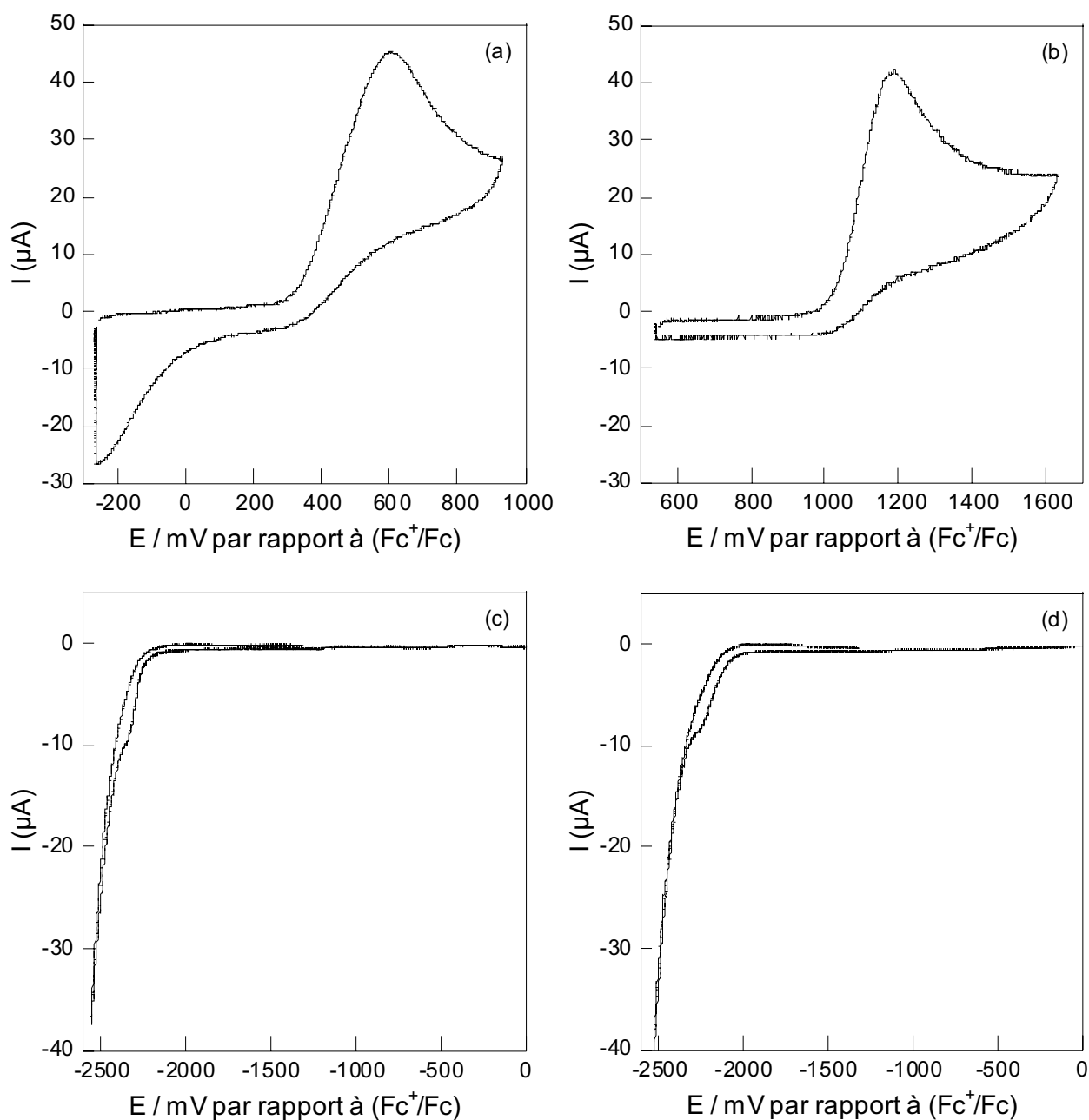


Figure 3-16. Oxydation (a) du composé THIO-COU et (b) du composé AMI-COU dans l'acétonitrile (vitesse de balayage = 10 V.s^{-1}) ; Réduction (c) du composé THIO-COU et (d) du composé AMI-COU dans l'acétonitrile (vitesse de balayage = $0,1 \text{ V.s}^{-1}$).

Afin de déterminer si un transfert d'électron photoinduit pouvait être responsable du faible rendement quantique de fluorescence des ligands thioamides par rapport aux analogues amides, les potentiels d'oxydation et de réduction du ligand THIO-COU et de l'analogue amide AMI-COU ont été déterminés par voltampérométrie cyclique dans l'acétonitrile (en raison de sa large fenêtre d'électro-inactivité). Les voltampérogrammes en oxydation et en réduction pour ces deux composés sont reportés sur la Figure 3-16. Il est important de noter que les courbes présentées montrent des réactions électrochimiques non réversibles. L'utilisation de vitesses de balayage plus élevées ne permet pas d'observer de vague retour pour ces composés. Par conséquent, les potentiels définis par la suite seront pris égaux au potentiel au sommet des vagues de réduction ou d'oxydation. La détermination de potentiels standards exacts est donc exclue, mais les valeurs trouvées permettent d'avoir un aperçu des phénomènes pouvant intervenir au sein de ces composés.

Ainsi, les courbes intensité-potential en réduction ont la même allure pour le composé amide et le composé thioamide. En effet, une vague de réduction associée à une réaction non réversible est observée respectivement à -2,28 V et -2,35 V / (Fc⁺/Fc).^a Cette réduction est attribuée à la formation du radical anion de la coumarine. Si le remplacement de la fonction amide par une fonction thioamide ne modifie que très peu les propriétés en réduction, il en est tout autrement en oxydation. En effet, le composé amide s'oxyde de manière non réversible à un potentiel relativement élevé (+ 1,2 V / (Fc⁺/Fc)), cette oxydation étant attribuée à la formation du radical cation de la coumarine. En revanche, le composé thioamide se comporte très différemment. En effet, une première oxydation intervient à faible potentiel (+ 0,6 V / (Fc⁺/Fc)). Elle correspond à l'oxydation de la fonction thioamide puisqu'une seconde vague d'oxydation correspondant à la formation du radical cation de la coumarine a pu être observée à potentiel plus élevé (+ 1,8 V / (Fc⁺/Fc), non représentée).

Finalement, la fonction thioamide se distingue essentiellement de la fonction amide du point de vue électrochimique par sa faculté à être oxydée très facilement. La possibilité d'un transfert d'électron des groupements thioamides vers le fluorophore excité est donc envisageable. Ainsi, en négligeant les enthalpies de solvatation, la relation de Rhem-Weller (eq. 3-1) permet de savoir si le transfert d'électron pour le composé THIO-COU est thermodynamiquement possible :

$$\Delta G^0 = E_{D^{*+}/D}^0 - E_{A/A^*}^0 - \Delta E_{00}(A) \quad \text{eq. 3-1}$$

avec ΔG^0 = enthalpie libre standard de la réaction de transfert d'électron
 $E_{D^{*+}/D}^0$ = potentiel standard d'oxydation du donneur d'électron
 E_{A/A^*}^0 = potentiel standard de réduction de l'accepteur d'électron
 $\Delta E_{00}(A)$ = énergie en eV de la transition électronique (passage à l'état excité)

Pour le composé thioamide THIO-COU, la valeur de l'énergie entre le premier état excité de la coumarine et l'état fondamental est déterminée en effectuant la moyenne des énergies au maximum d'absorption et d'émission du fluorophore ($\Delta E_{00}(A) = 3,3$ eV). Le potentiel d'oxydation du donneur est celui de la fonction thioamide (+ 0,6 V / (Fc⁺/Fc)) et celui de réduction de la coumarine est de -2,35 V / (Fc⁺/Fc). Finalement, $\Delta G^0 = -0,35$ V, ce qui montre que le transfert d'électron est thermodynamiquement possible. A noter que le même raisonnement pour le composé

^a Fc⁺/Fc représente le couple ferrocénium/ferrocène dont le potentiel standard dans l'acétonitrile est $E^0 = 0,045$ V/ENH.

amide donne un résultat positif pour ΔG^0 (+ 0,18 V), ce qui explique que le rendement quantique de fluorescence des composés amides soit beaucoup plus élevé que celui de leurs analogues thioamides. La Figure 3-17 résume le mécanisme de transfert d'électron responsable de la très faible fluorescence du composé THIO-COU comparativement à l'analogue amide AMI-COU.

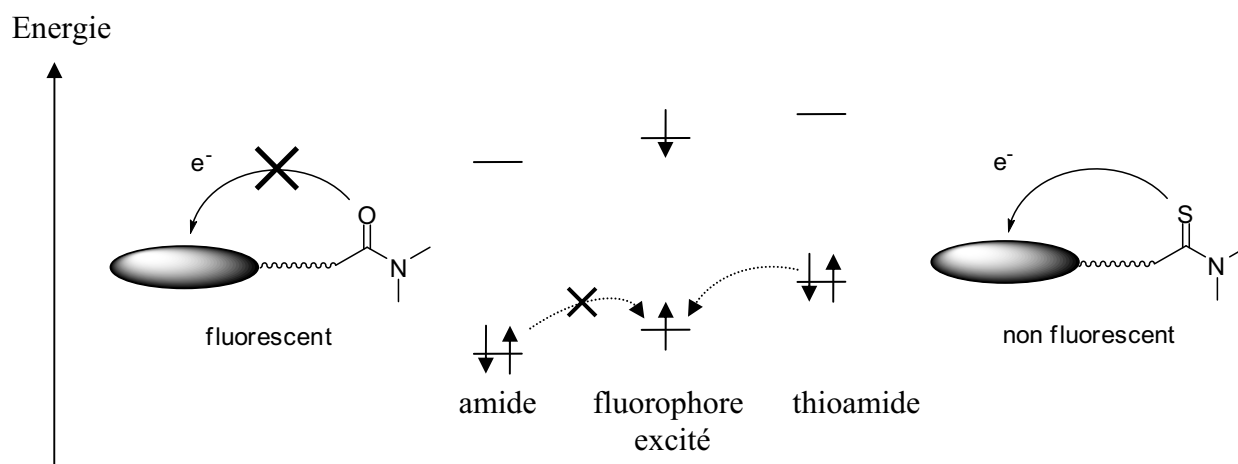


Figure 3-17. Transfert d'électron photoinduit (PET) de la fonction thioamide vers le fluorophore excité.

Si les résultats présentés ci-dessus concernent uniquement le composé THIO-COU, il est toutefois légitime de penser qu'un transfert d'électron photoinduit de la fonction thioamide vers le fluorophore excité est à l'origine de la très faible fluorescence observée pour l'ensemble des composés thioamides synthétisés.

II.2.2. Propriétés complexantes des ligands thioamides

Les propriétés complexantes des nouveaux ligands de type thioamide ont été évaluées vis-à-vis du cadmium et de différents cations par spectroscopies d'absorption et de fluorescence stationnaires. Quelques études complémentaires ont également été réalisées par RMN ^1H .

Etude des ligands thioamides de type O

Les propriétés complexantes pour le cadmium des ligands THIO-COU et THIO-NAPH ont été étudiées dans le DMSO par ajouts successifs de chlorure de cadmium.

Comme l'atteste la Figure 3-18, aucune modification des propriétés photophysiques en absorption n'est observée par l'ajout de chlorure de cadmium pour ces deux composés. En émission, THIO-NAPH demeure non fluorescent tandis que le spectre de fluorescence de THIO-COU reste inchangé. Deux possibilités sont alors envisageables : soit la complexation n'a pas lieu même en présence d'un large excès de cation, soit elle ne provoque pas de modifications spectrales suffisantes pour être mesurées. La première hypothèse semble la plus pertinente puisque aucune évolution du spectre RMN ^1H de THIO-NAPH n'est observée avec l'ajout de cadmium dans le DMSO deutéré (*cf.* Figure 3-19). A l'inverse, le mercure est complexé puisque tous les protons subissent d'importants déplacements chimiques avec l'ajout de Hg^{2+} . Ainsi, les protons OCH_2 qui apparaissent pour le ligand libre sous la forme d'un singulet à 5,21 ppm se divisent en quatre singulets intégrant chacun pour un proton. Les protons $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ sont également fortement déplacés vers les faibles déplacements chimiques et les signaux des protons aromatiques sont plus

complexes. L'absence d'effet avec le cadmium reste néanmoins surprenante compte tenu des nombreux ligands décrits dans la littérature possédant une pince thioamide de même type.

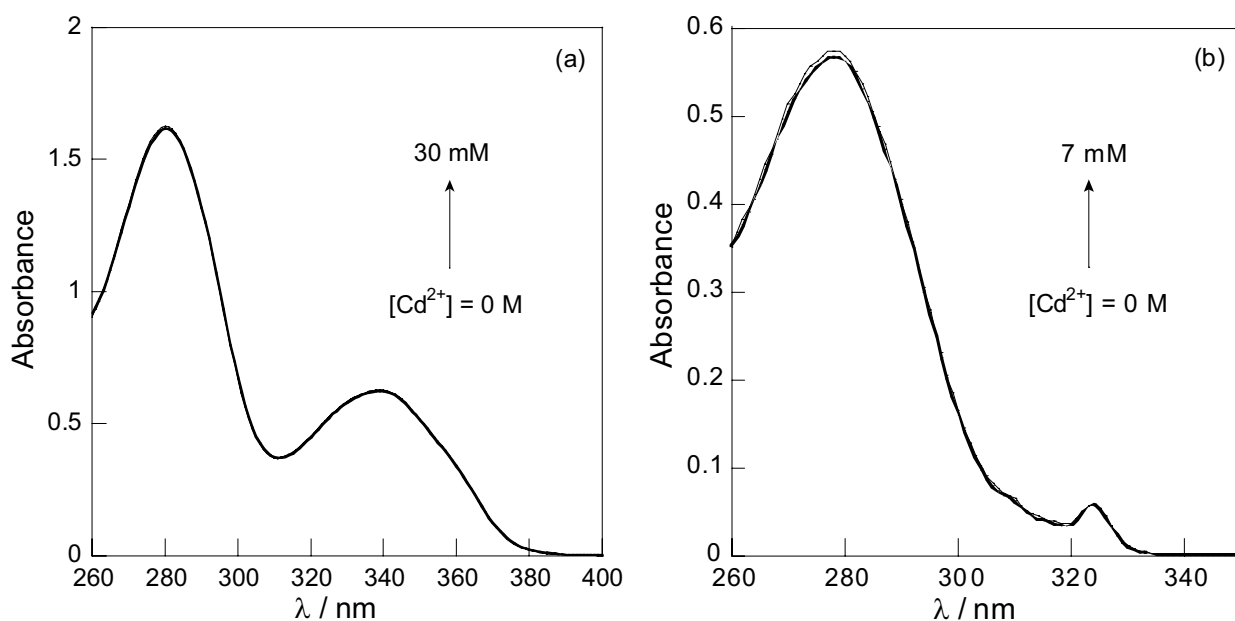


Figure 3-18. Evolution des spectres d'absorption (a) du composé THIO-COU ($[L] = 6 \times 10^{-5} M$) et (b) du composé THIO-NAPH ($[L] = 1,9 \times 10^{-5} M$) dans le DMSO avec l'ajout de chlorure de cadmium.

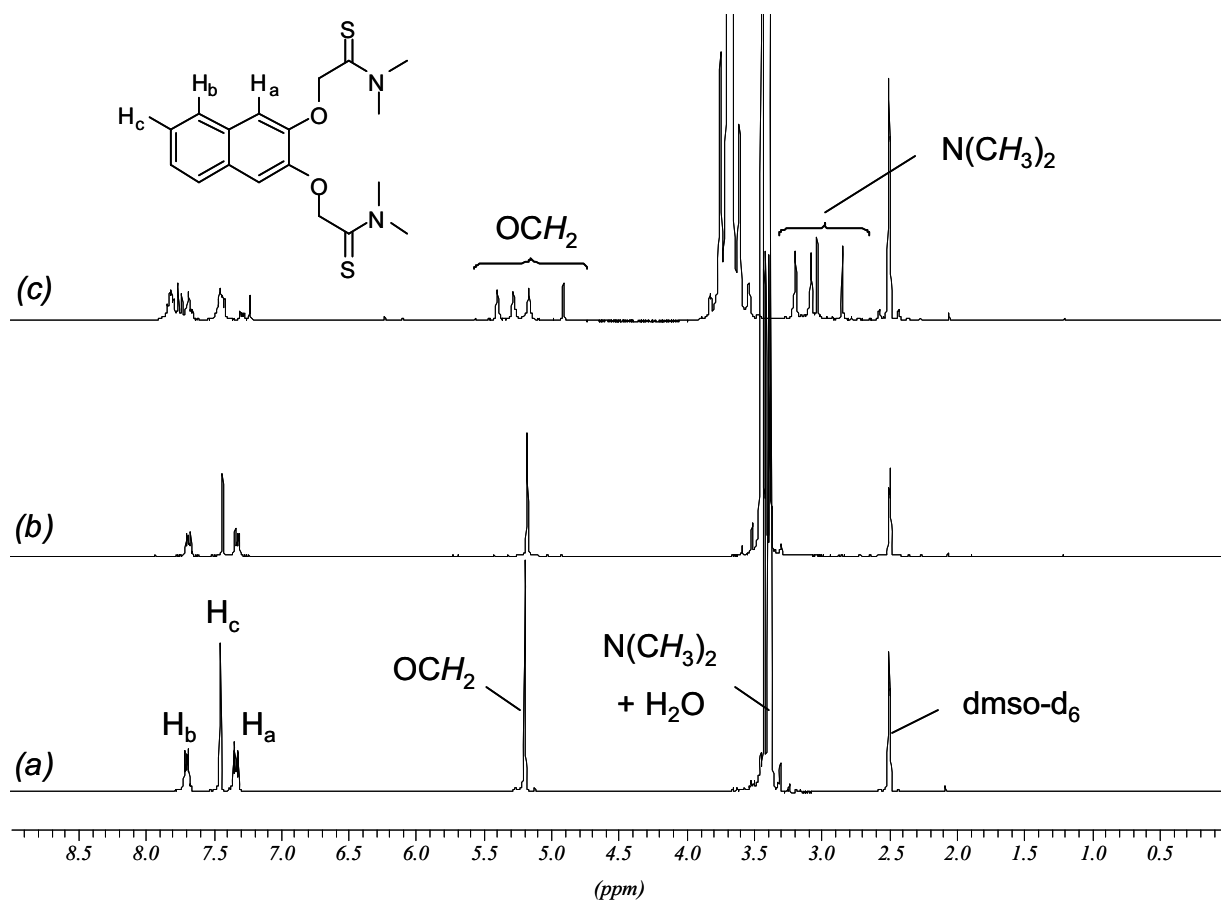


Figure 3-19. Spectres RMN 1H du composé THIO-NAPH ($3,7 \times 10^{-2} M$) dans le DMSO- d_6 (a) en absence de métal ; (b) en présence de 0,1 M de $Cd(ClO_4)_2$ et (c) en présence de 0,1 M de $Cd(ClO_4)_2$ et de 0,2 M de $Hg(ClO_4)_2$.

Etude des ligands thioamides de type N

Les propriétés complexantes des composés THIO-COU2 et THIO-BAT ont été testées vis-à-vis du cadmium dans le DMSO. Comme pour les composés de *type O*, aucune modification spectrale en absorption et en émission n'est observée pour ces composés. L'absence de modifications du spectre RMN ^1H du ligand THIO-COU2 dans le DMSO- d_6 confirme le fait que la complexation du cadmium n'a pas lieu dans ce milieu. Des essais réalisés dans un mélange eau/acétonitrile donnent des résultats également peu concluants.

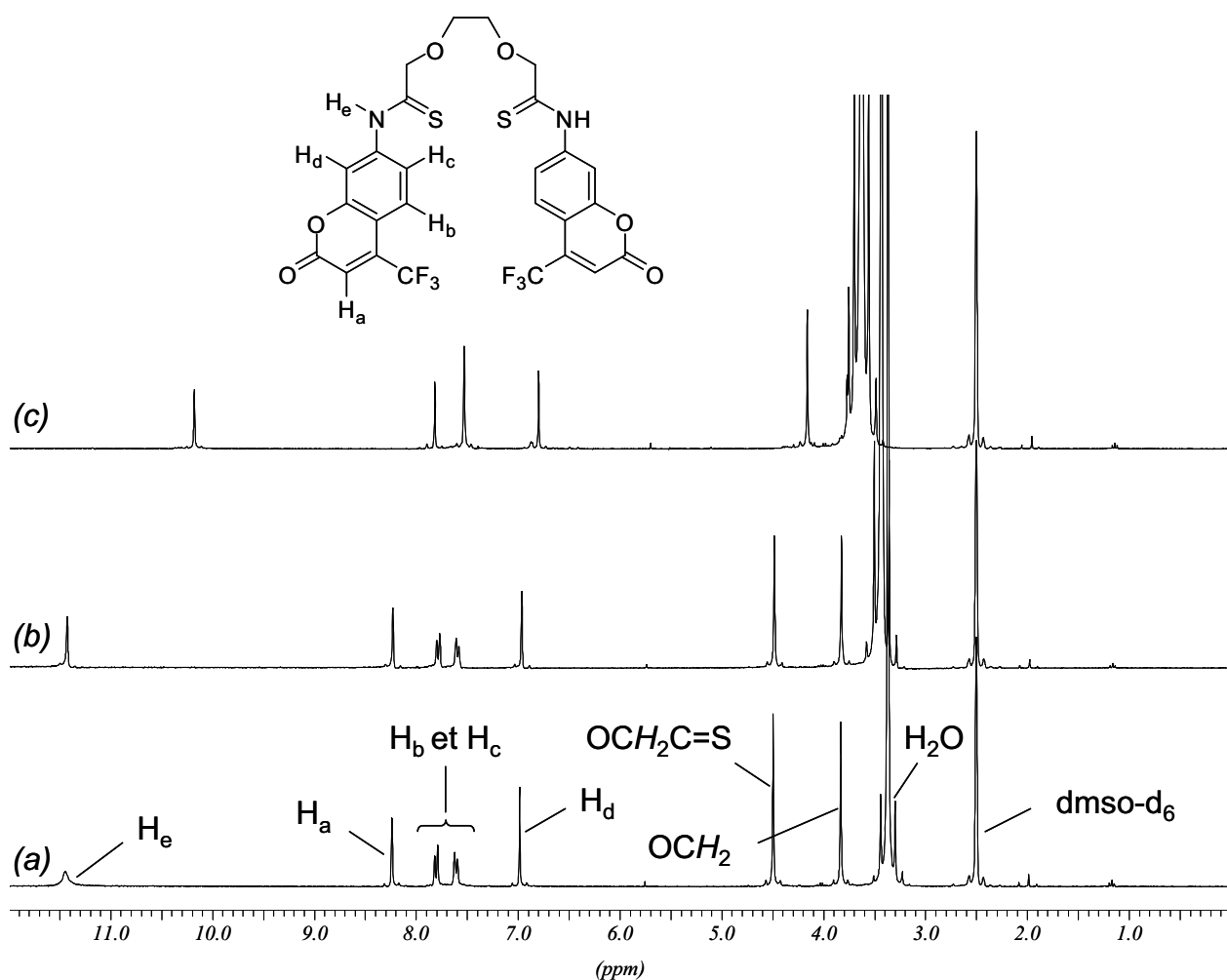


Figure 3-20. Spectres RMN ^1H du composé THIO-COU2 ($1,6 \times 10^{-2}$ M) dans le DMSO- d_6 (a) en absence de métal ; (b) en présence de 0,1 M de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ et (c) en présence de 0,1 M de $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$ et de 0,2 M de $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$.

En revanche, ces composés ont montré une certaine affinité pour le mercure dans le DMSO. En effet, comme le montre la Figure 3-20, l'ajout de mercure entraîne d'importantes modifications du spectre RMN ^1H du ligand THIO-COU2. La complexation du mercure a donc bien lieu dans le DMSO et des essais ont alors été entrepris en milieu organo-aqueux. Ainsi, dans un milieu organo-aqueux $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 *v/v* tamponné à $\text{pH} = 7$ par un tampon MES-NaOH 25 mM, l'ajout de quantités croissantes de perchlorate de mercure se traduit par un déplacement hypsochrome des spectres d'absorption du composé THIO-COU2 et une légère exaltation du coefficient d'absorption

molaire à 340 nm. Plusieurs points isobestiques apparaissent à 255 nm, 292 nm et 352 nm pour les faibles concentrations en mercure (*cf.* Figure 3-21). Les valeurs des constantes de stabilité des complexes formés n'ont cependant pas pu être déterminées, aucun modèle ne permettant l'obtention d'un ajustement numérique satisfaisant par le logiciel SPECFIT™.

Les modifications des spectres d'absorption du ligand s'expliquent par la diminution du caractère donneur de l'atome d'azote de la coumarine en présence du cation, rendant le transfert de charge photoinduit vers le groupement carbonyle accepteur moins efficace. Ceci peut s'expliquer par l'existence d'une forme mésomère prépondérante en présence de mercure pour laquelle l'atome d'azote du groupe thioamide est chargé positivement et l'atome de soufre négativement. En revanche, en émission, les variations associées à la complexation sont extrêmement faibles. La présence du cation mercure ne permet donc pas d'inhiber le transfert d'électron photoinduit à l'origine du très faible rendement quantique de fluorescence des composés thioamides.

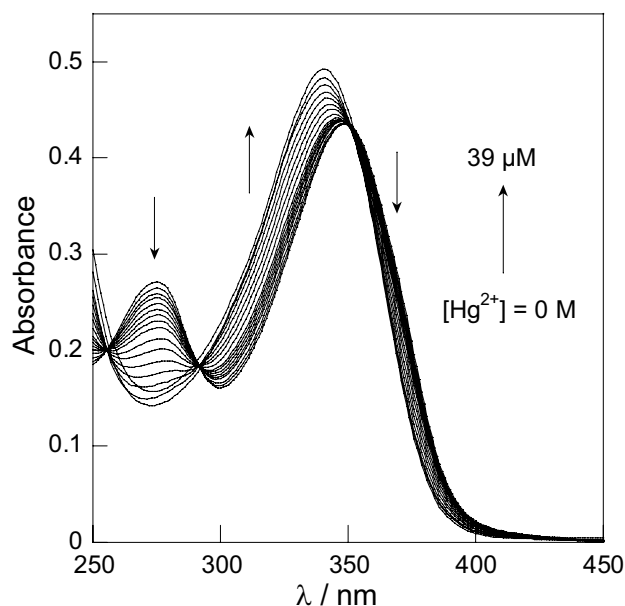
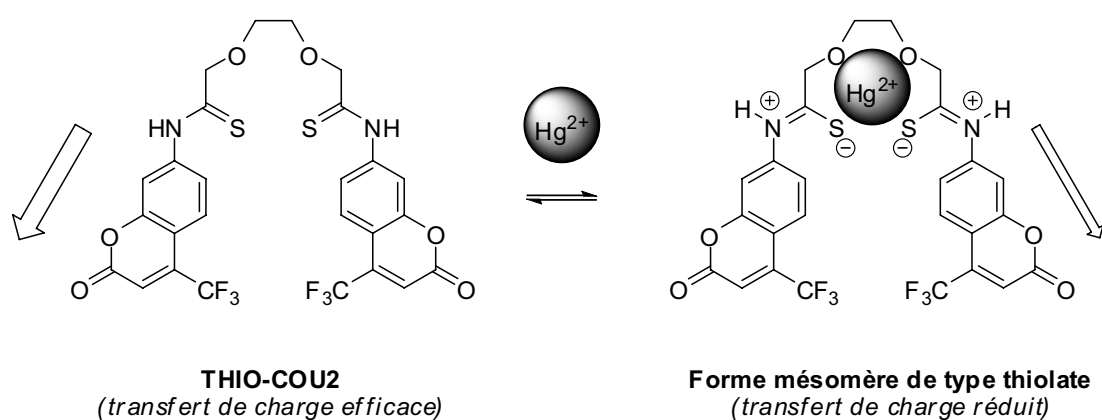


Figure 3-21. Modification du transfert de charge photoinduit du ligand THIO-COU2 en présence de mercure et évolution des spectres d'absorption de THIO-COU2 ($[L] = 13 \mu\text{M}$) avec l'ajout de perchlorate de mercure dans un mélange $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 v/v tamponné à $\text{pH} = 7$ par un tampon MES-NaOH 25 mM.

L'effet du mercure sur les propriétés photophysiques du composé THIO-BAT a également été étudié. Contrairement à ce qui a été observé pour THIO-COU2, l'ajout de mercure modifie fortement les propriétés émissives du ligand THIO-BAT dans un milieu organo-aqueux $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 v/v tamponné à pH = 7 par un tampon MES-NaOH 25 mM. Ainsi, une importante augmentation du rendement quantique de fluorescence est observée. Ce phénomène a également été observé pour le composé modèle bâtonnet THIO-MOD monodente pour lequel le site de reconnaissance du cation Hg^{2+} n'est constitué que de l'atome de soufre de la fonction thioamide. L'exaltation de fluorescence peut alors s'expliquer par une réaction de désulfuration en présence de mercure qui transforme la fonction thioamide en l'amide correspondant et entraîne la précipitation du mercure sous forme de sulfure de mercure HgS . En effet, l'utilisation de métaux tels que le mercure, l'argent ou l'or fait partie des méthodes utilisées pour l'hydrolyse de fonctions thioamides ou thioesters en leurs analogues oxygénés.⁴⁶ De telles réactions ont d'ailleurs été mises à profit pour la conception de senseurs fluorescents de type thioamide^{47,48} ou thiosemicarbazide^{49,50} particulièrement sélectifs du mercure.

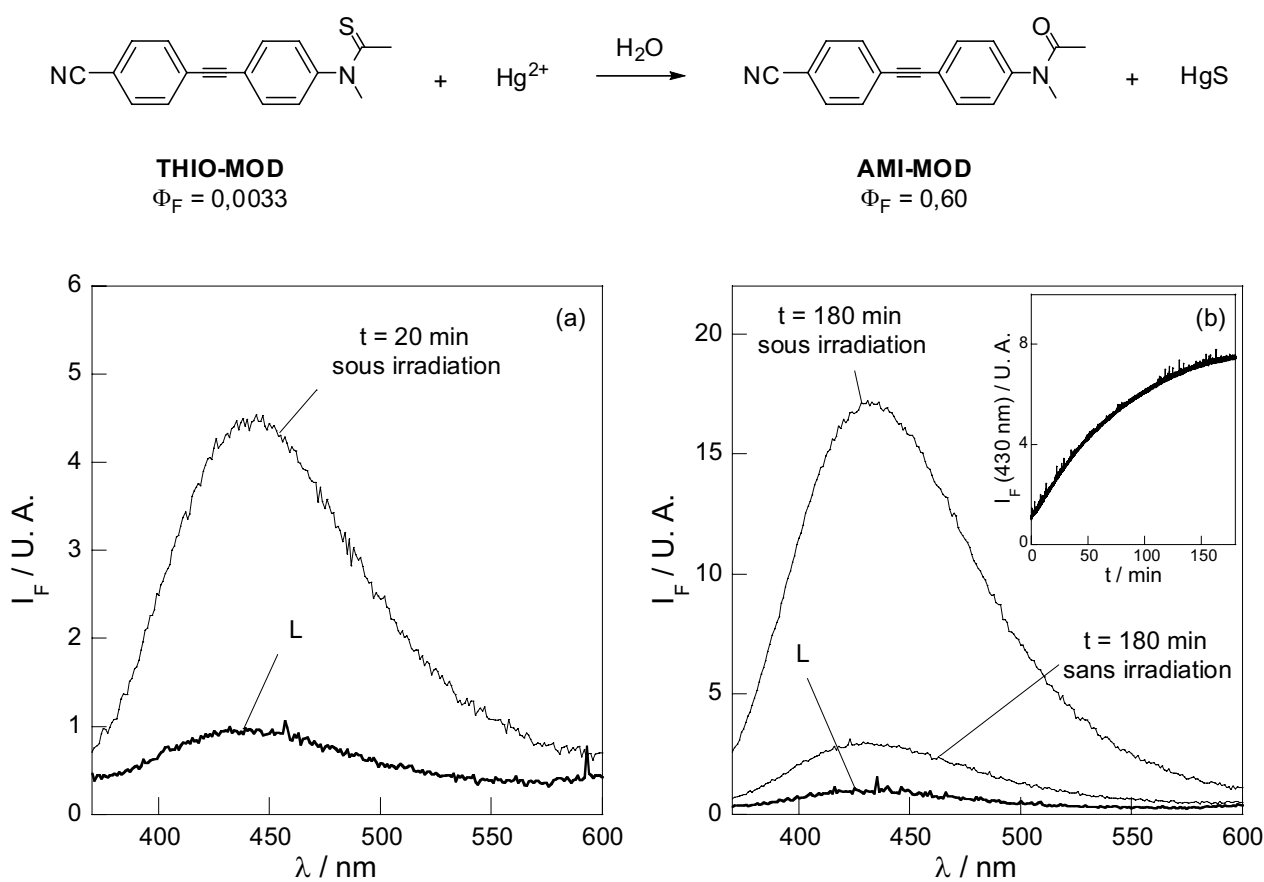


Figure 3-22. (a) Spectre de fluorescence du ligand THIO-MOD ($[L] = 2,5 \mu\text{M}$) après ajout de $0,7 \mu\text{M}$ de perchlorate de mercure ; (b) spectre de fluorescence du ligand THIO-BAT ($[L] = 1,2 \mu\text{M}$) après ajout de $0,7 \mu\text{M}$ de perchlorate de mercure. Encart : intensité de fluorescence à 430 nm en fonction du temps. Milieu : $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 v/v tamponné à pH = 7 par un tampon MES-NaOH ; $\lambda_{\text{exc}} = 310 \text{ nm}$.

Sur ce principe, le composé THIO-MOD permet la détection de très faibles quantités de mercure (exaltation de la fluorescence d'un facteur 4,5 au bout de 20 minutes avec l'ajout de $0,7 \mu\text{M}$ de perchlorate de mercure). En fait, l'ajout de métal entraîne la formation *in situ* du

composé AMI-MOD dont le rendement quantique de fluorescence est élevé et pour lequel le mercure a peu d'affinité (*cf.* schéma ci-dessus). Néanmoins, l'utilisation de ce composé comme senseur fluorescent de mercure demeure problématique en raison d'une cinétique de réaction extrêmement lente : plusieurs heures sont nécessaires pour que l'intensité de fluorescence se stabilise. Un comportement similaire a été observé pour le composé THIO-BAT alors qu'il possède *a priori* un site de meilleure affinité que le composé modèle vis-à-vis du mercure. De plus, comme le montre la Figure 3-22(b) pour le composé THIO-BAT, l'exaltation de fluorescence pour ces deux composés dépend fortement des conditions d'irradiation du milieu. En effet, l'augmentation du rendement quantique de fluorescence est beaucoup plus importante lorsque le ligand est irradié à 310 nm qu'en absence de lumière.

II.3. Conclusion sur les composés de type thioamide

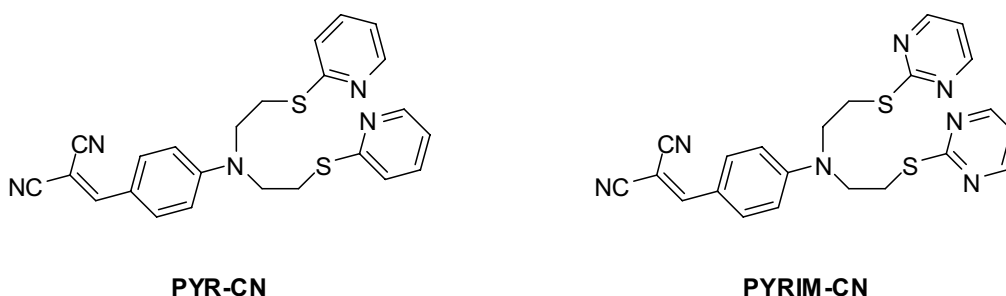
Dans cette partie ont donc été décrites la synthèse et l'étude d'une famille de composés incorporant une pince de type 3-6-dioxa-octane-dithioamide fonctionnalisée par différents fluorophores. Ces composés se sont révélés extrêmement peu fluorescents du fait d'un transfert d'électron photoinduit du groupement thioamide vers les fluorophores excités, qui a pu être mis en évidence par électrochimie.

Concernant les propriétés complexantes de ces composés, bien que de nombreux composés de structure similaire aient été décrits comme particulièrement sélectifs du cadmium, aucune modification des propriétés photophysiques des fluoroionophores synthétisés n'a été observée avec l'ajout de cadmium dans les différents milieux d'étude. De manière surprenante, les études RMN ^1H ont également montré que non seulement les propriétés photophysiques du ligand n'étaient pas modifiées en présence de cadmium, mais aussi que la complexation n'avait pas lieu. Seul le mercure a montré une certaine affinité pour ces ligands. La formation de complexes de mercure a alors été mise en évidence pour certains de ces composés (THIO-NAPH et THIO-COU2) par RMN ^1H et spectroscopie d'absorption. Le spectre d'absorption de THIO-COU2 est ainsi modifié avec l'ajout de mercure. Pour les ligands bâtonnets THIO-MOD et THIO-BAT, l'exaltation de fluorescence observée en présence de mercure en milieu organo-aqueux a pu être attribuée à une réaction de désulfuration initiée par le métal. Malgré la bonne sensibilité et la sélectivité de ces composés pour le mercure, les cinétiques de réaction particulièrement lentes ne permettent pas d'envisager l'utilisation de ces composés comme senseurs de mercure.

Par conséquent, de nouvelles voies ont dû être explorées et de nouvelles entités complexantes testées. En particulier, l'utilisation d'atomes de soufre complexants a été dans un premier temps privilégiée en raison du caractère relativement mou du cation Cd^{2+} .

III. Synthèse et étude de nouvelles pinces complexantes soufrées

L'objectif de cette partie est de développer de nouvelles pinces complexantes soufrées analogues de la 2-dipicolylamine et potentiellement sélectives du cadmium. L'introduction de substituants thiopyridine et thiopyrimidine a été envisagée. Puis, notre choix concernant le fluorophore utilisé s'est porté sur un fluorophore modèle 2-(4-aminobenzylidène)malononitrile. Ces composés de type donneur-accepteur sont en effet relativement faciles à synthétiser et excitables à des longueurs d'onde supérieures à 400 nm. Soto *et al.* ont d'ailleurs développé plusieurs exemples de senseurs fluorescents de cations en introduisant un chromophore analogue (le 1-(4-aminophényl)-1,2,2-tricyanoéthylène) sur différentes couronnes complexantes.^{51,52} Deux composés cibles PYR-CN et PYRIM-CN ont donc été définis.



III.1. Obtention des pinces thiopyridine et thiopyrimidine

III.1.1. Analyse rétrosynthétique

L'approche rétrosynthétique utilisée pour l'obtention des pinces complexantes soufrées PYR-CN et PYRIM-CN est présentée sur la Figure 3-23. Elle a l'avantage de laisser la possibilité d'introduire ultérieurement d'autres chromophores que le 2-(4-aminobenzylidène)malononitrile envisagé dans un premier temps.

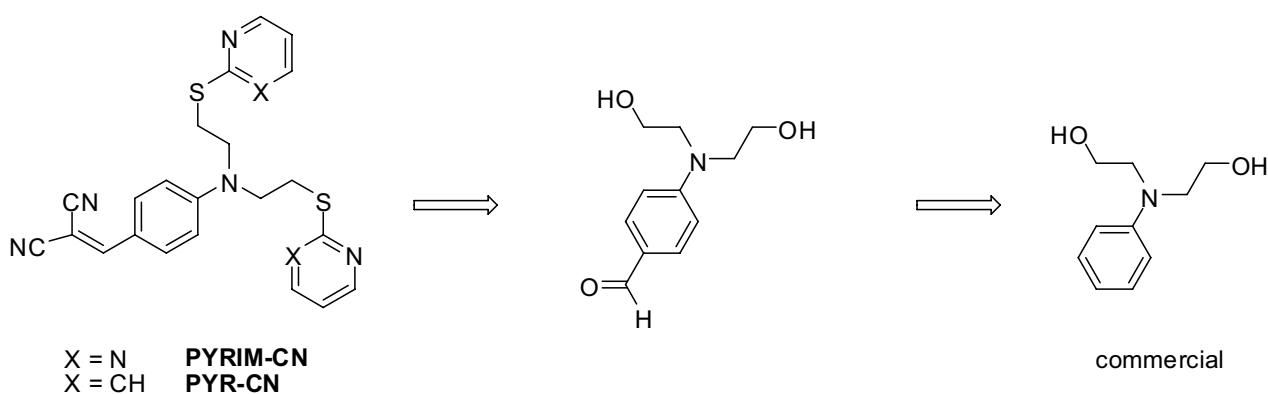


Figure 3-23. Schéma rétrosynthétique pour les ligands PYR-CN et PYRIM-CN.

Cette approche consiste en fait à partir de la phényldiéthanolamine commerciale et possède comme intermédiaires clés des composés de type aldéhyde (précurseur du fluorophore dicyané) possédant deux fonctions alcools facilement fonctionnalisables par des groupements pyridines ou pyrimidines.

Ces deux composés sont le siège, lors de l'excitation lumineuse, d'un transfert de charge photoinduit (PCT) entre l'atome d'azote donneur de la pince complexante et le groupement dicyané accepteur. La complexation d'un cation au sein de la pince complexante est alors sensée modifier le caractère donneur de l'atome d'azote et doit par conséquent induire une modification importante des propriétés photophysiques de ces ligands.

III.1.2. Synthèse des composés PYR-CN et PYRIM-CN

Une étape de protection des fonctions alcools de la phényldiéthanolamine est nécessaire avant la formylation du cycle benzyle. Celle-ci est réalisée par réaction d'estérification entre le chlorure de benzoyle et la phényldiéthanolamine à 0°C dans le dichlorométhane en présence d'une base (NEt_3). Le rendement de la réaction est de 87 %. Puis, l'aldéhyde **28** est obtenu de manière quantitative par réaction de Vilsmeier-Hack à 80°C (POCl_3 , DMF).⁵³ La réaction de déprotection des fonctions alcools protégées sous forme ester est réalisée par la soude dans un mélange THF/MeOH avec un rendement de 79 %. Le diol **29** est alors tosylé dans des conditions classiques (TsCl , NEt_3 , CH_2Cl_2) avec un rendement de 82 %. La réaction de substitution nucléophile entre ce composé et les anions de la 2-mercaptopyrimidine et de la 2-mercaptopyridine dans des conditions analogues à celles utilisées par Wnuk *et al.* conduit à la formation des aldéhydes **31** et **32** incorporant les entités complexantes finales avec des rendements respectifs de 90 % et 48 %.⁵⁴ La réaction de Knoevenagel conduisant à l'obtention des fluorophores dicyanés est réalisée dans l'éthanol en présence de malononitrile et d'une quantité catalytique de pipéridine à 40°C.⁵⁵ Les pinces complexantes PYRIM-CN et PYR-CN sont toutes deux obtenues avec des rendements respectifs de 76 % et 35 % (*cf.* Figure 3-24).

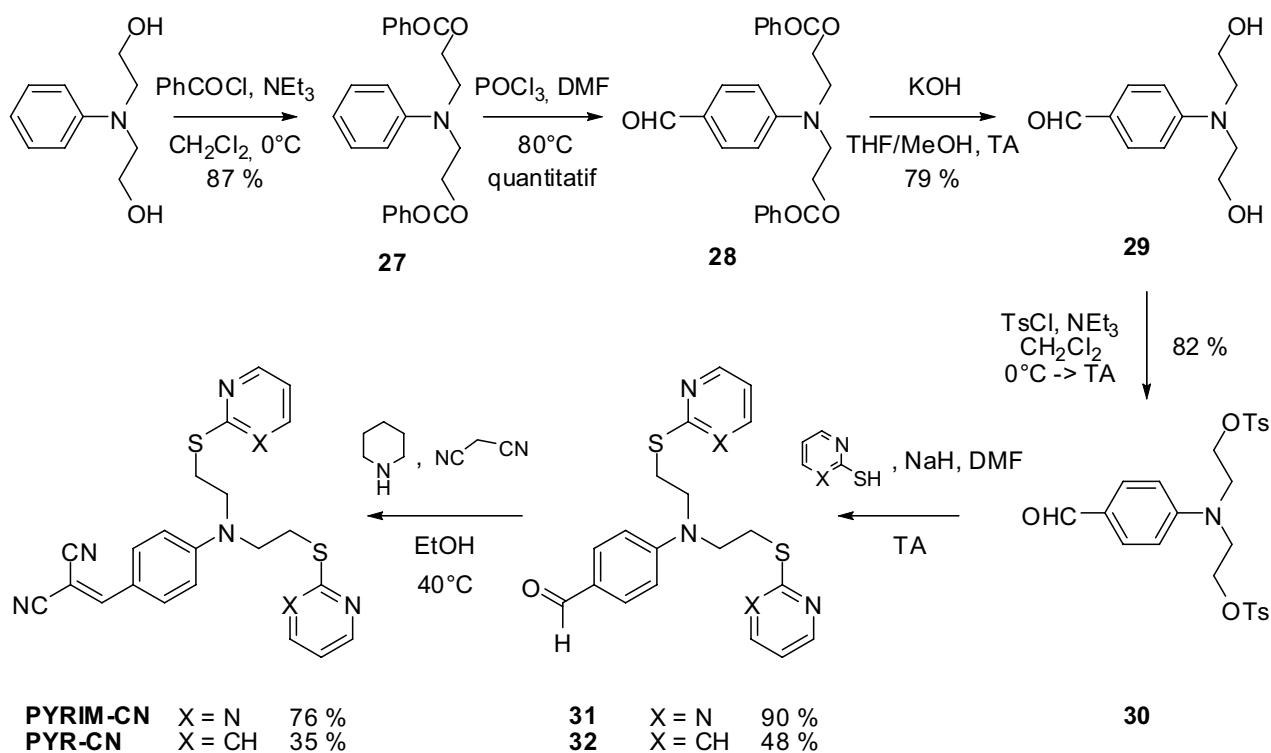


Figure 3-24. Synthèse des composés PYR-CN et PYRIM-CN.

III.2. Propriétés photophysiques des ligands PYR-CN et PYRIM-CN

Les propriétés photophysiques des ligands PYR-CN et PYRIM-CN ont été étudiées dans un milieu organo-aqueux eau/acétonitrile 1:1 v/v. Les spectres d'absorption et d'émission sont présentés sur la Figure 3-25. Les principaux paramètres photophysiques sont récapitulés dans le Tableau 3-2.

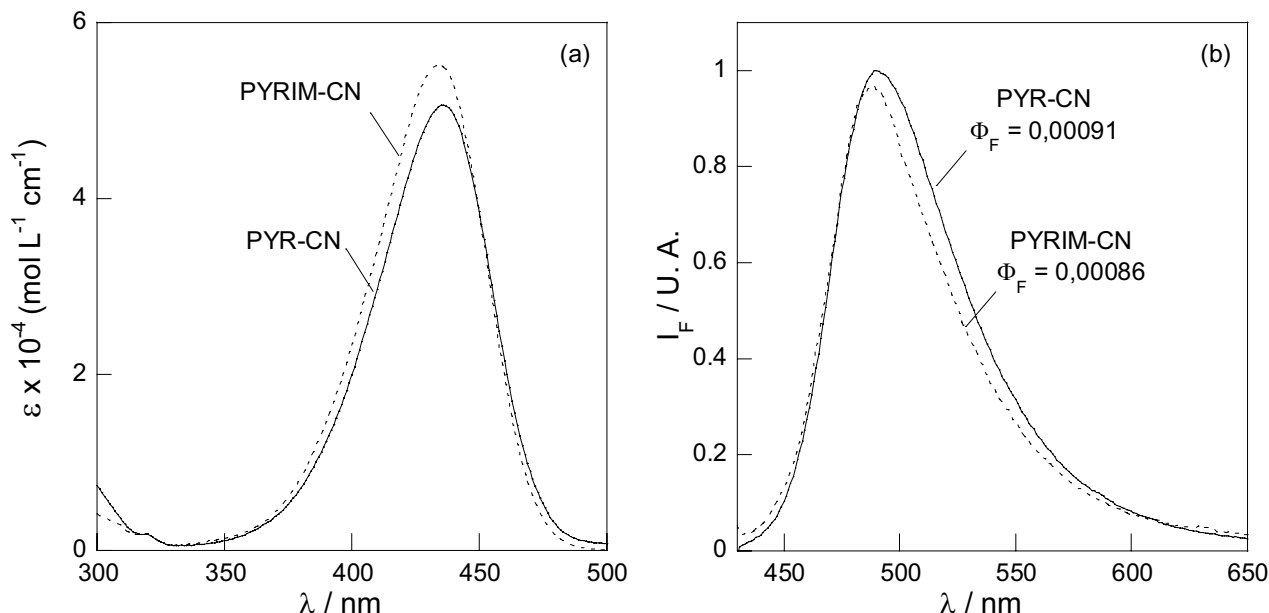


Figure 3-25. (a) Spectres d'absorption et (b) spectres de fluorescence des ligands PYR-CN et PYRIM-CN dans un mélange $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 v/v, $\lambda_{\text{exc}} = 421 \text{ nm}$.

	PYR-CN	PYRIM-CN
$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$ (nm) *	436	434
ϵ ($\text{mol}^{-1} \text{L cm}^{-1}$) **	49800	55200
$\lambda_{\text{max}}^{\text{ém}}$ (nm) *	489	488
Φ_F **	0,00091	0,00086

* déterminé à $\pm 1 \text{ nm}$, ** déterminé à $\pm 10 \%$

Tableau 3-2. Paramètres photophysiques des ligands PYR-CN et PYRIM-CN dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 1:1 v/v.

Les spectres d'absorption et de fluorescence des deux ligands font apparaître de larges bandes à transfert de charge. Les maxima en absorption pour PYR-CN et PYRIM-CN sont situés respectivement à 436 nm et 434 nm et les coefficients d'absorption molaire des deux ligands sont quasiment identiques à l'erreur expérimentale près. De plus, les valeurs importantes mesurées pour le déplacement de Stokes de ces deux ligands (respectivement 53 nm et 54 nm) montrent que le transfert de charge photoinduit est relativement efficace. En revanche, le rendement quantique de fluorescence de ces composés est faible (inférieur à 0,001). Toutes ces valeurs sont en accord avec celle reportée dans la littérature pour le composé modèle 2-(4-(*N,N*-diméthylamino)benzylidène)malononitrile.⁵⁶

III.3. Propriétés complexantes des ligands PYR-CN et PYRIM-CN

III.3.1. Sensibilité de la détection du mercure par PYR-CN

Les propriétés complexantes des ligands PYR-CN et PYRIM-CN ont été étudiées dans un mélange organo-aqueux eau/acétonitrile 1:1 v/v. D'abord conçu comme un senseur de cadmium, ces composés n'ont montré aucune affinité pour ce métal. Seul le mercure provoque pour le composé PYR-CN une modification des propriétés photophysiques du ligand. L'évolution des spectres d'absorption et d'émission de PYR-CN avec l'ajout de nitrate de mercure est représentée sur la Figure 3-26. En revanche, aucun effet n'est observé avec le mercure pour le dérivé substitué par des groupements pyrimidines PYRIM-CN.

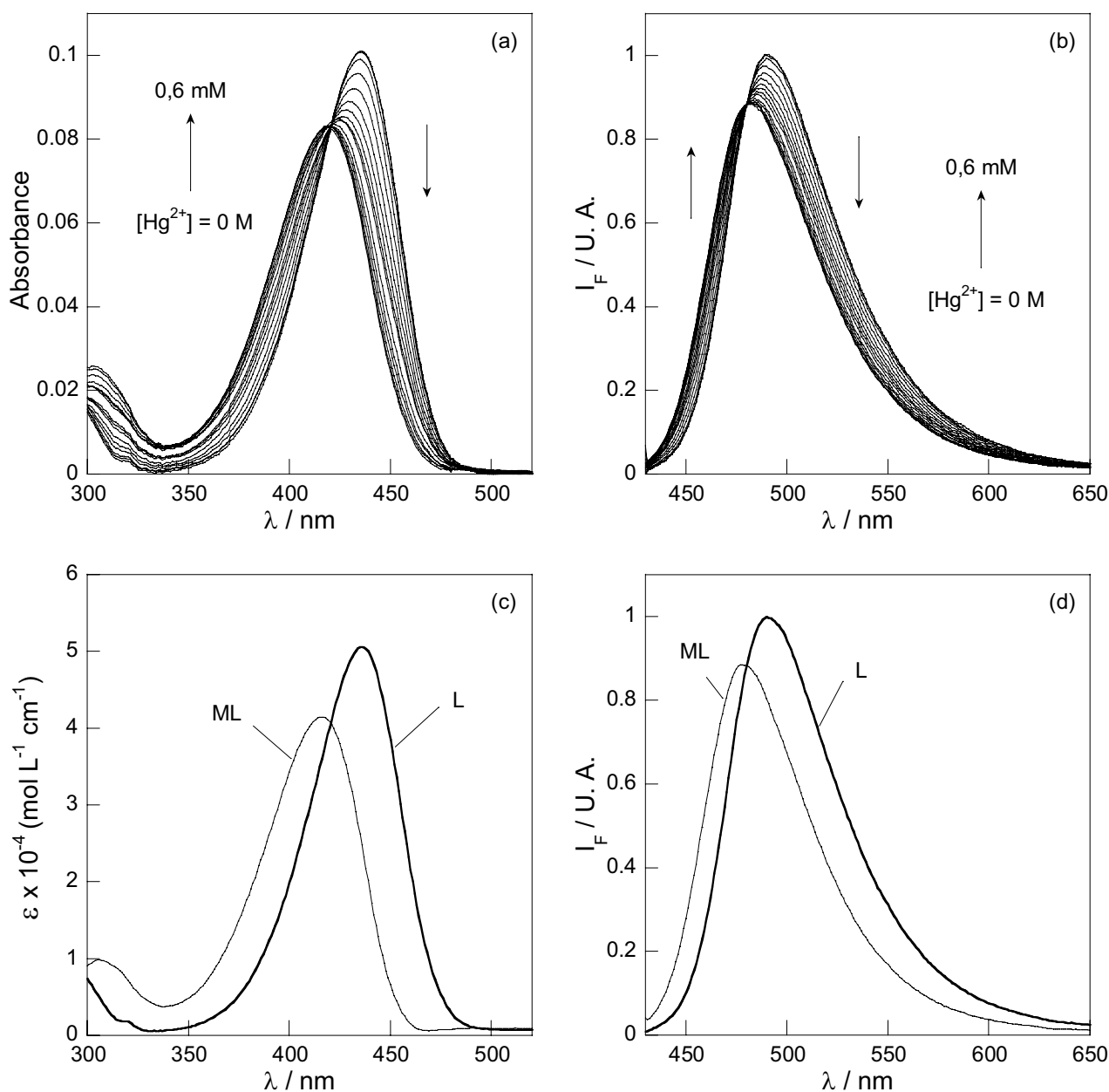


Figure 3-26. Evolution (a) des spectres d'absorption de PYR-CN avec l'ajout de nitrate de mercure dans un milieu eau/acétonitrile 1:1 v/v ($[L] = 2 \mu\text{M}$) et (b) évolution des spectres de fluorescence de PYR-CN dans les mêmes conditions ($\lambda_{\text{exc}} = 421 \text{ nm}$) ; (c) spectres d'absorption et (d) spectres d'émission du ligand L et du complexe ML reconstruits par le logiciel SPECFIT™.

L'ajout de nitrate de mercure entraîne un déplacement hypsochrome des spectres d'absorption (20 nm) et une légère diminution du coefficient d'absorption molaire. Il apparaît alors à 421 nm un point isobestique caractéristique de l'existence de deux espèces colorées en proportions variables. En fluorimétrie stationnaire, un déplacement vers les courtes longueurs d'onde (12 nm) et une légère diminution de l'intensité de fluorescence sont également observés. L'existence d'un point isoémisif à 481 nm a été mise en évidence. Ces effets s'expliquent par l'interaction du cation Hg^{2+} avec l'atome d'azote aromatique de la pince complexante du composé PYR-CN. En effet, la densité de charge sur cet atome et son caractère donneur sont diminués. Il en résulte un transfert de charge moins efficace vers le groupement dicyané et donc un déplacement hypsochrome des spectres d'absorption et d'émission.

De plus, l'existence d'un point isobestique et d'un point isoémisif nous ont conduit à envisager entre le composé PYR-CN et le cation Hg^{2+} la formation d'un unique complexe de stoechiométrie 1:1. Les faisceaux de spectres en absorption et en fluorescence ont donc été analysés avec le logiciel SPECFIT™ en utilisant un modèle avec deux espèces colorées L et ML. Toutefois, il est à noter que les premiers spectres réalisés (autrement dit en présence d'une quantité de mercure inférieure à 40 μM) présentent une faible variation de l'absorbance et de la fluorescence. Ceci s'explique par la complexation compétitive du mercure par des molécules présentes dans le solvant (solvant lui-même ou impuretés de type amine par exemple). Il convient donc d'enlever les points correspondant à ces spectres (zone hachurée sur la Figure 3-27) afin de pouvoir estimer la valeur de la constante de formation du complexe de mercure avec PYR-CN.

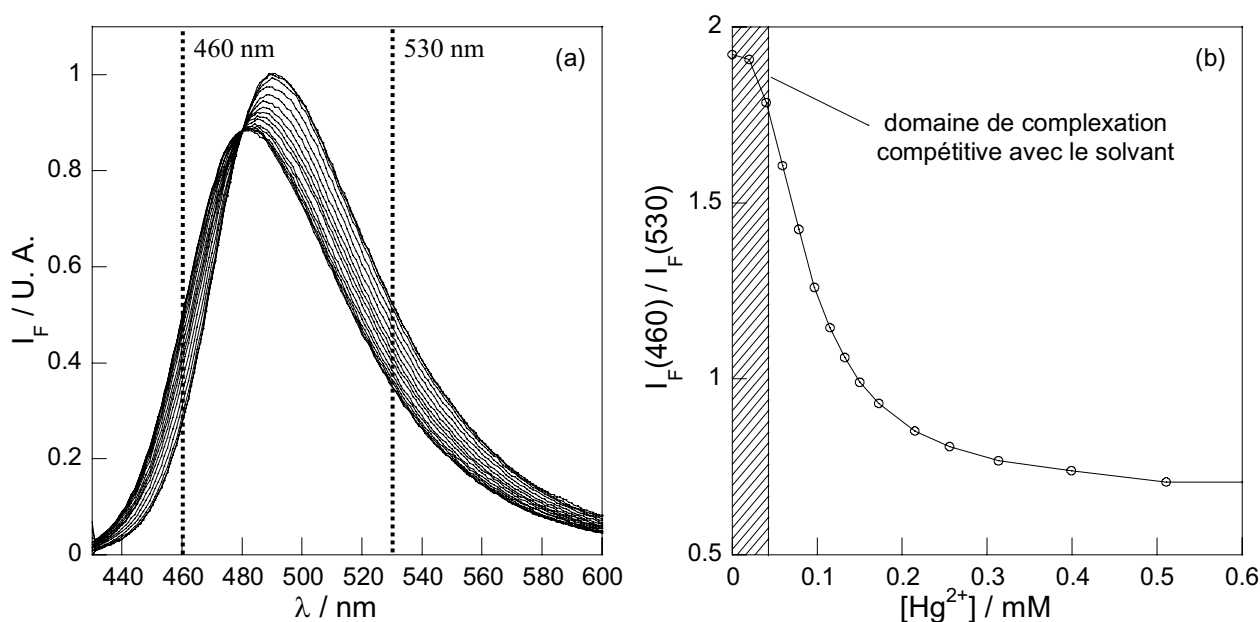


Figure 3-27. (a) Spectres de fluorescence et (b) courbe de calibration du composé PYR-CN pour la détection du mercure par fluorimétrie stationnaire ($[L] = 2 \mu\text{M}$) dans un milieu eau/acétonitrile 1:1 v/v.

La constante de formation du complexe ML calculée par le logiciel SPECFIT™ est alors égale à $\log \beta_{11} = 3,78 \pm 0,03$. Cette valeur demeure assez faible et est bien en deçà de celles répertoriées pour certains senseurs fluorescents de mercure de type PCT en milieu aqueux.⁵⁷ Bien que le déplacement spectral en émission permette d'effectuer une mesure ratiométrique des

intensités de fluorescence à 460 nm et 530 nm, la détermination d'une limite de détection n'est pas pertinente dans la mesure où les premiers ajouts de mercure n'influent pas sur les propriétés photophysiques du ligand PYR-CN et doivent être retirés.

III.3.2. Sélectivité de la détection du mercure par PYR-CN

Les études de compétitivité avec différents cations ont été réalisées dans un mélange eau/acétonitrile 1:1 v/v en présence de mercure (100 μ M). Les interférences provoquées par les cations alcalins Na^+ et K^+ (1 mM) ainsi que les métaux lourds Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , et Pb^{2+} (100 μ M) ont été évaluées. Aucun effet n'est observé avec le cadmium. Les résultats sont présentés sur la Figure 3-28.

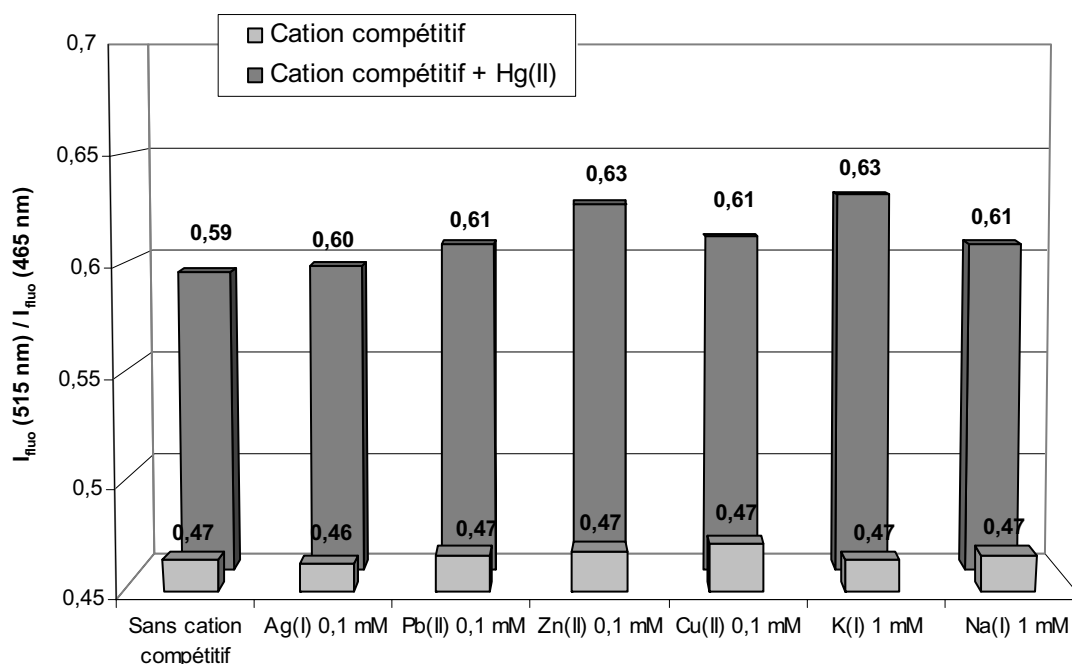


Figure 3-28. Rapport des intensités de fluorescence à 515 nm et 465 nm du composé PYR-CN dans un milieu eau/acétonitrile 1:1 v/v en présence de nitrate de mercure (100 μ M) et de différents cations interférents ($[L] = 2 \mu$ M, $\lambda_{exc} = 421$ nm).

Ainsi, aucune interférence notable n'est observée pour les différents cations testés puisque le rapport des intensités de fluorescence à 465 nm et 515 nm en présence d'un cation compétitif et l'augmentation de ce rapport après l'ajout de mercure sont identiques à ce qui est observé en absence de cation interférent. La sélectivité du composé PYR-CN pour le mercure est donc satisfaisante.

III.4. Conclusion sur les composés PYR-CN et PYRIM-CN

Dans l'optique de développer de nouvelles entités complexantes sélectives du cadmium, deux fluoroionophores dicyanés PYR-CN et PYRIM-CN ont été synthétisés. Tous deux possèdent une entité complexante comparable à la 2-dipicolylamine tout en incorporant des atomes de soufre sensés accroître l'affinité de ces pinces pour le cadmium.

Finalement, aucun de ces fluoroionophores n'a montré d'affinité particulière pour le cadmium et seul le composé substitué par les groupements thiopyridines PYR-CN a pu être étudié comme senseur de mercure en milieu organo-aqueux (acétonitrile/eau 1:1 v/v). Ainsi, la complexation du cation Hg^{2+} entraîne des déplacements spectraux hypsochromes en absorption et en émission, ce qui permet la réalisation de mesures ratiométriques. La sélectivité pour le mercure est également satisfaisante. En revanche, la faible constante de stabilité du complexe ML formé ($\log \beta_{11} = 3,78$) et le faible rendement quantique de fluorescence de ces composés ($\Phi_F = 0,001$) ne permettent pas d'envisager l'utilisation de PYR-CN pour la détection de faibles quantités de mercure.

L'approche utilisée ici qui consistait à introduire de atomes de soufre complexants n'a donc pas été concluante pour le cadmium. La synthèse et l'étude de nouvelles entités complexantes demeurent donc nécessaires à l'élaboration de nouveaux fluoroionophores pour la détection de ce métal.

IV. Synthèse et étude de nouveaux composés incorporant le motif pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Dans le cadre de leurs recherches sur de nouvelles cages moléculaires, le Professeur Juan Xie et son équipe ont mis à profit les réactions de « *click chemistry* » afin d'introduire sur une plateforme β -cyclodextrine plusieurs motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles. Les premiers essais de complexation réalisés dans le méthanol sur ce composé ont mis en évidence une excellente affinité pour le zinc. Dans la mesure où les propriétés complexantes mais également photophysiques de ce motif complexant n'ont pas encore été décrites dans la littérature, la synthèse de plusieurs composés substitués par un ou plusieurs motifs complexants a été entreprise. Ainsi, dans ce paragraphe seront décrites la synthèse d'un composé de type calixarène, puis l'étude des propriétés photophysiques de toute la famille de composés synthétisée (un sucre modèle, un dimère, un calix[4]arène et une β -cyclodextrine). Puis, l'affinité de ces composés pour le cadmium et les propriétés des complexes formés avec ce métal seront rapportées. Enfin, une dernière partie sera consacrée à la synthèse et l'étude d'un calixarène excitable à plus haute longueur d'onde reprenant le motif pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.

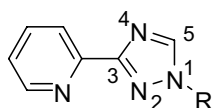
IV.1. Click chemistry et synthèse de composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

IV.1.1. Contexte de l'étude

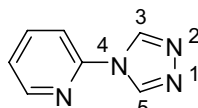
Le concept de « *click chemistry* » a été introduit pour la première fois par Sharpless *et al.* en 2001 : il s'agit d'une chimie inspirée par la simplicité et l'efficacité des réactions chimiques qui se produisent dans la nature.⁵⁸ En effet, bien que très complexes, les systèmes biologiques sont issus d'un nombre modeste de monomères que des réactions efficaces et sélectives permettent de relier entre eux. Le concept de « *click chemistry* » vise ainsi à développer un ensemble d'outils synthétiques permettant la formation de liaisons carbone-hétéroatome de manière sélective, efficace, et ce pour une très grande variété de substrats.

Parmi les réactions qui remplissent les critères de la « *click chemistry* », la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre(I) entre un azide et un alcyne vrai est sans conteste la réaction la plus intéressante et la plus étudiée à l'heure actuelle. D'abord étudiée par Huisgen dans sa version non catalytique,⁵⁹ elle a suscité un immense engouement depuis la découverte récente des propriétés catalytiques des sels de cuivre(I) sur cette réaction conjointement par les équipes de Sharpless et de Meldal.^{60,61} En particulier car il est possible d'effectuer cette réaction à température ambiante avec d'excellents rendements pour une très large variété d'azides et d'alcyne, dans de multiples solvants dont l'eau et en présence d'une grande variété de groupes fonctionnels, offrant ainsi l'opportunité de se passer d'étapes de protection/déprotection.⁶² De plus, alcyne et azides possèdent des réactivités très spécifiques et sont inertes vis-à-vis des nombreuses autres fonctions chimiques présentes en milieu biologique. Ces atouts en ont fait un outil de choix dans le domaine des sciences du vivant pour l'obtention de molécule bioconjuguées (molécules biologiques fonctionnalisées par des fragments synthétiques, par exemple des fluorophores),^{63,64} la fonctionnalisation de surfaces cellulaires,⁶⁵ la détection du cuivre(I) intracellulaire,⁶⁶ etc. De nombreuses autres applications dans le domaine de la science des matériaux et des polymères ont également été développées.⁶⁷

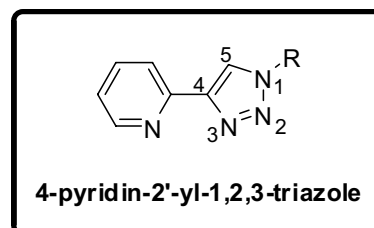
D'autre part, cette réaction permet la formation de l'unité 1,2,3-triazole très stable chimiquement avec d'excellents rendements. Or, du point de vue de la chimie de coordination, les cycles aromatiques triazoles comportant trois atomes d'azote sont très intéressants lorsqu'ils sont substitués par des groupements de type pyridine. En effet, ils constituent alors des pinces complexantes analogues aux bipyridines, très utilisées pour la formation de complexes de ruthénium par exemple. Ainsi, Vos *et al.* sont à l'origine de nombreuses synthèses et études structurales, photophysiques et électrochimiques de complexes de ruthénium incorporant des ligands 3-pyridin-2'-yl-1,2,4-triazole ou des analogues.^{68,69,70} La synthèse de complexes de cadmium avec des ligands 4-pyridin-2'-yl-1,2,4-triazole a également été récemment décrite.⁷¹



3-pyridin-2'-yl-1,2,4-triazole



4-pyridin-2'-yl-1,2,4-triazole

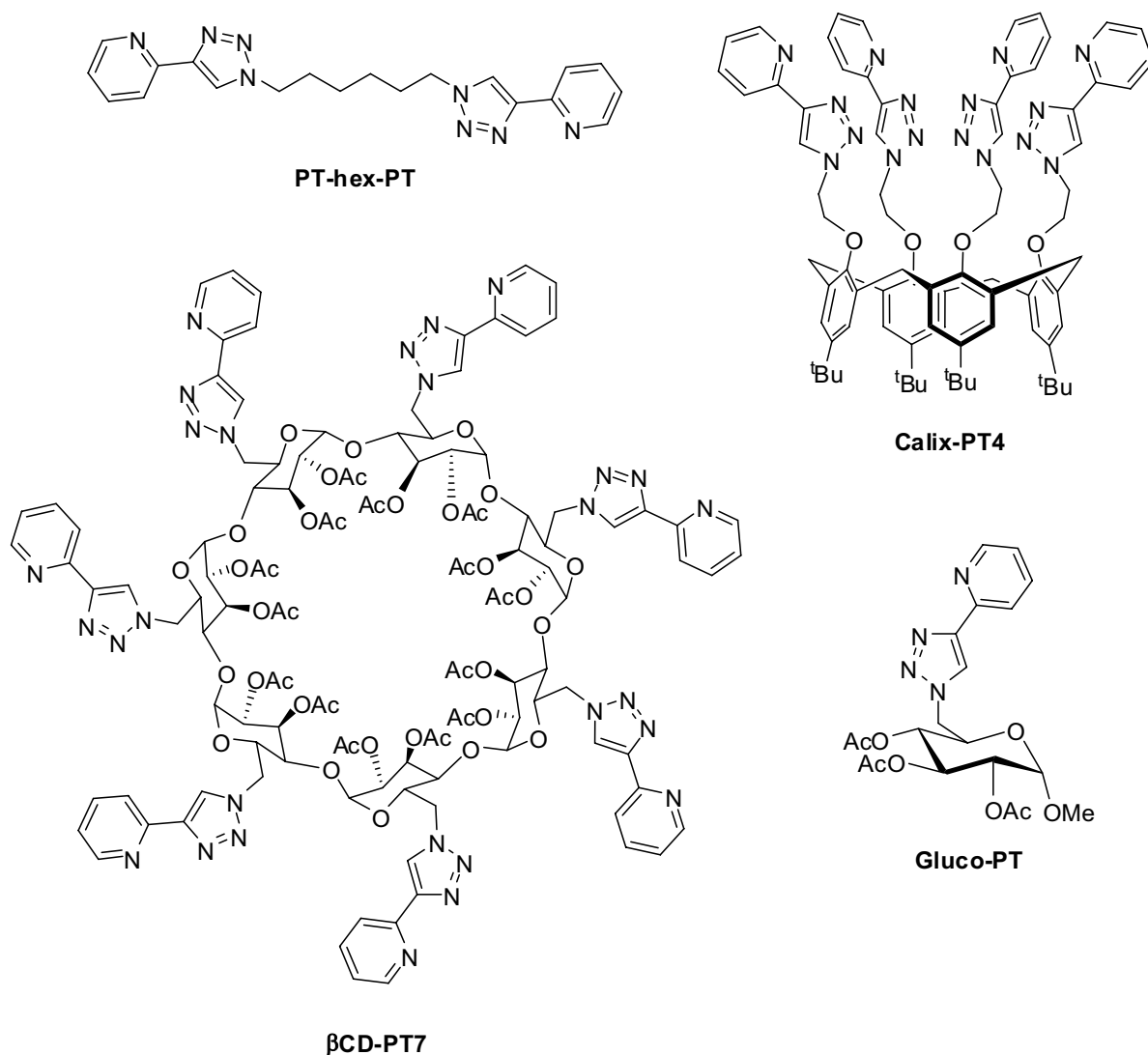


4-pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Cependant, à l'inverse des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,4-triazole, les propriétés photophysiques et complexantes des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole désormais facilement accessibles par « click chemistry » n'ont, à notre connaissance, pas encore été étudiées. C'est dans cette optique qu'une série de composés incorporant un ou plusieurs motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles a été synthétisée et étudiée.

IV.1.2. Synthèse des dérivés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

L'équipe du Pr. Juan Xie a ainsi synthétisé un sucre modèle Gluco-PT substitué par un motif pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole, un dimère PT-hex-PT au sein duquel deux motifs sont reliés par une chaîne *n*-hexyle, et une cyclodextrine heptasubstituée β CD-PT7.³² Leur synthèse est décrite dans la référence 32. Afin de compléter la famille de molécules étudiée, le calix[4]arène tétrasubstitué Calix-PT4 a également été synthétisé. Les quatre composés qui seront étudiés par la suite sont présentés ci-après.



Le calixarène Calix-PT4 a été synthétisé suivant le schéma réactionnel présenté sur la Figure 3-29. L'intermédiaire tétratosylé Calix-OTos est obtenu à partir du *tert*-butylcalix[4]arène commercial par réactions successives d'alkylation (bromoacétate d'éthyle dans le DMF en présence de NaH), de réduction (DIBAL-H dans le toluène) et enfin de tosylation (TsCl, NEt₃, CH₂Cl₂).⁷² Le rendement global de formation de Calix-OTos sur ces trois étapes est de 55 %. La réaction de substitution entre le calixarène tosylé Calix-OTos et un excès d'azidure de sodium dans le DMF permet la formation quantitative du calixarène tétraazide Calix-N₃. Puis, le composé Calix-PT4 est synthétisé par cycloaddition entre la 2-éthynylpyridine et le composé tétraazide Calix-N₃ dans des conditions classiques de catalyse par des sels de cuivre (CuSO₄, NaAsc, THF/EtOH/H₂O).⁷³ Le composé final Calix-PT4 est finalement obtenu avec un rendement de 32 %.

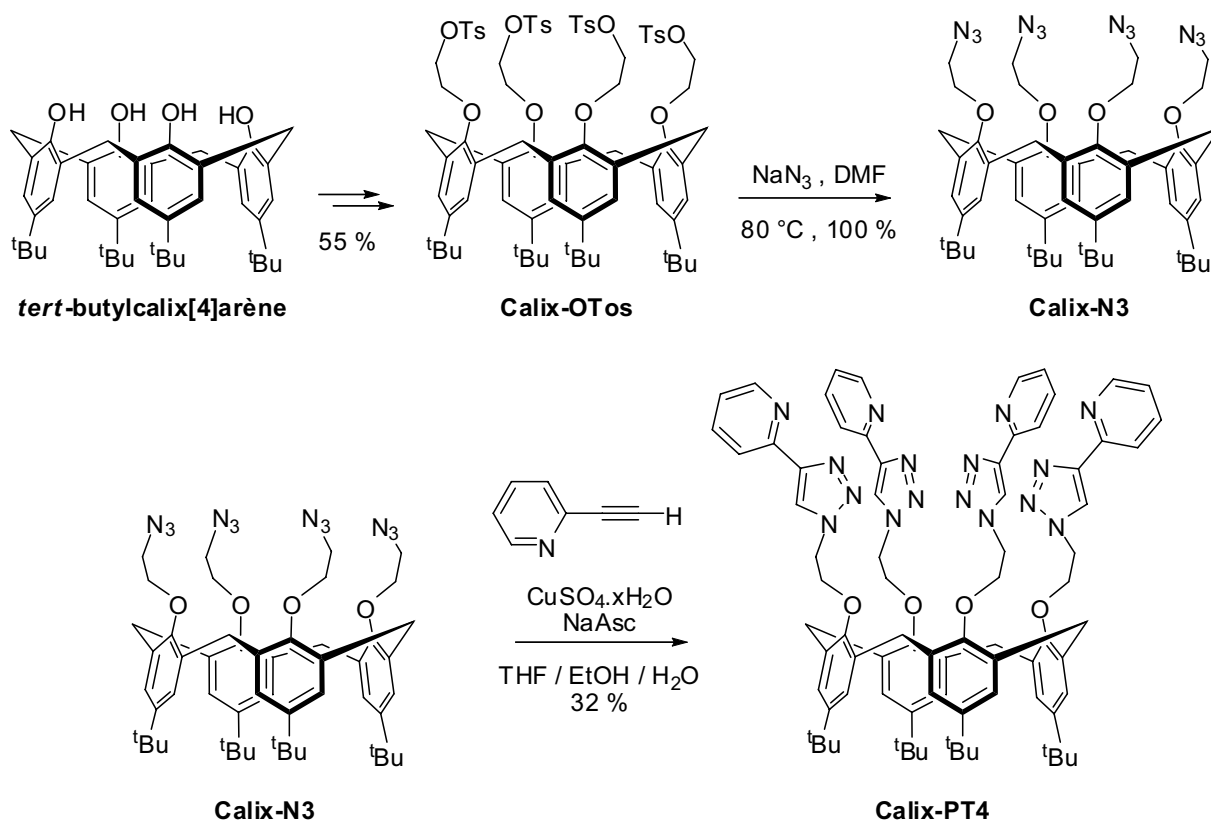


Figure 3-29. Synthèse du calixarène Calix-PT4

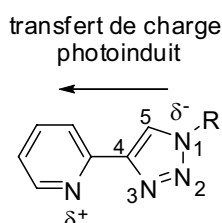
IV.2. Propriétés photophysiques des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Dans ce paragraphe vont être étudiées et comparées par absorption UV-visible, fluorescence stationnaire et résolue en temps les propriétés photophysiques dans le méthanol des quatre composés décrits précédemment : le sucre modèle Gluco-PT, le dimère PT-hex-PT dont les deux motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles sont reliés par une chaîne hexyle, le calixarène Calix-PT4 substitué par quatre chromophores et la β -cyclodextrine β CD-PT7 qui en comporte sept.

IV.2.1. Etude du sucre modèle Gluco-PT

Les propriétés photophysiques du sucre modèle Gluco-PT ont été étudiées dans le méthanol par spectroscopies d'absorption et de fluorescence stationnaires. L'effet du pH sur ces propriétés a également été étudié et les mesures de déclin de fluorescence du ligand dans le méthanol et en milieu acide ont été réalisées. Des calculs de modélisation moléculaire ont enfin permis de caractériser le phénomène de transfert de charge photoinduit au sein des fluorophores de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole.

Etude par spectroscopies stationnaires



Les spectres d'absorption et de fluorescence stationnaires du composé Gluco-PT dans le méthanol sont représentés sur la Figure 3-30. Le maximum de la bande d'absorption se situe à 279 nm et le coefficient d'absorption molaire à cette longueur d'onde est de $7300 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$. Le spectre de fluorescence

après excitation à 280 nm se caractérise par une bande de fluorescence relativement étroite centrée à 316 nm. Le rendement quantique de fluorescence du sucre modèle dans le méthanol est assez faible ($\Phi_F = 0,012$). Cette bande peut être associée à un transfert de charge photoinduit entre le noyau triazole riche en électrons et le noyau pyridine accepteur. Cette hypothèse sera confirmée par l'étude de la fluorescence de Gluco-PT en fonction du pH et par les calculs DFT réalisés sur un fluorophore modèle.

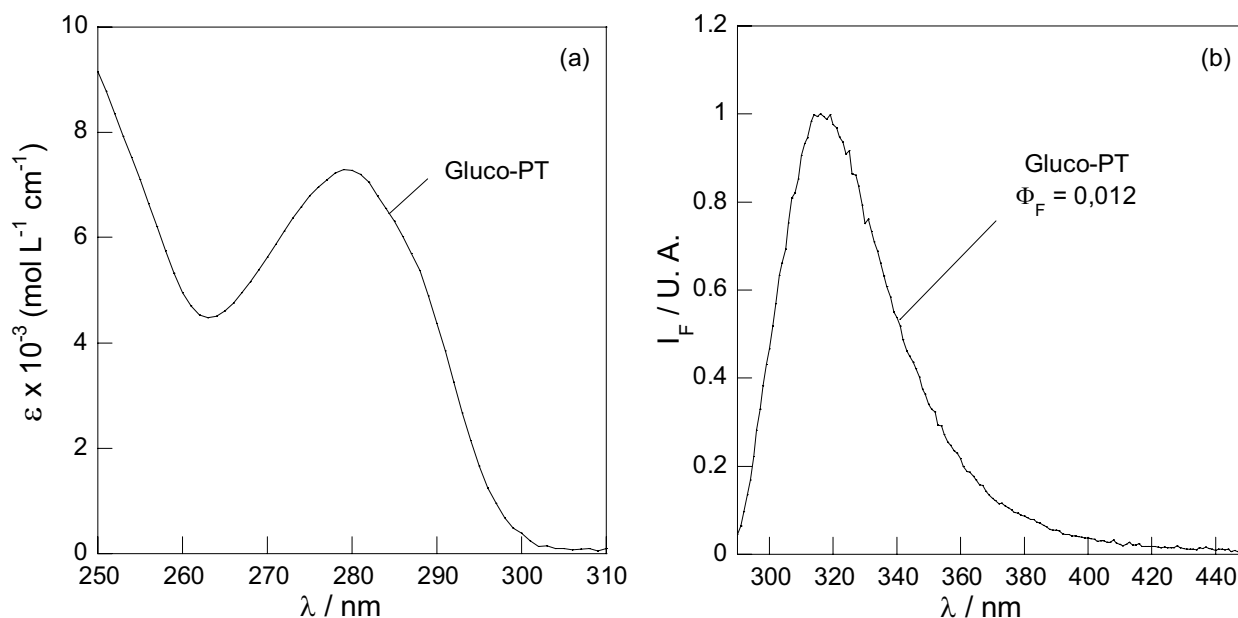


Figure 3-30. (a) Spectre d'absorption et (b) spectre de fluorescence du composé Gluco-PT dans le méthanol (excitation à 280 nm).

Effet du pH sur le composé modèle Gluco-PT

Le composé modèle Gluco-PT possède de nombreux atomes d'azote protonables, notamment l'atome d'azote du noyau pyridine. Du fait de sa position au cœur de la pince complexante, cet atome d'azote est vraisemblablement impliqué dans la complexation des cations par le motif pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole. Aussi est-il particulièrement intéressant de déterminer la constante d'acidité liée à ce site basique et les effets photophysiques associés à la protonation de ce site.

Les spectres d'absorption et de fluorescence stationnaires du composé Gluco-PT ont été enregistrés en milieu organo-aqueux eau/méthanol 80:20 v/v pour différentes valeurs de pH. L'évolution en fonction du pH des spectres d'absorption et de fluorescence est représentée sur la Figure 3-31, le pH étant ajusté par ajout d'une solution acide de ligand concentrée en acide perchlorique. La concentration en ligand est maintenant constante au cours du titrage et le pH de la solution est mesuré directement dans la cuve où l'expérience est réalisée. A noter que la valeur de pH mesurée est légèrement différente de celle mesurée dans un milieu de concentration identique en proton mais totalement aqueux. Elle doit par conséquent être corrigée et les valeurs de pH et de pK_a indiquées tiennent compte de cette correction (*cf.* partie expérimentale).

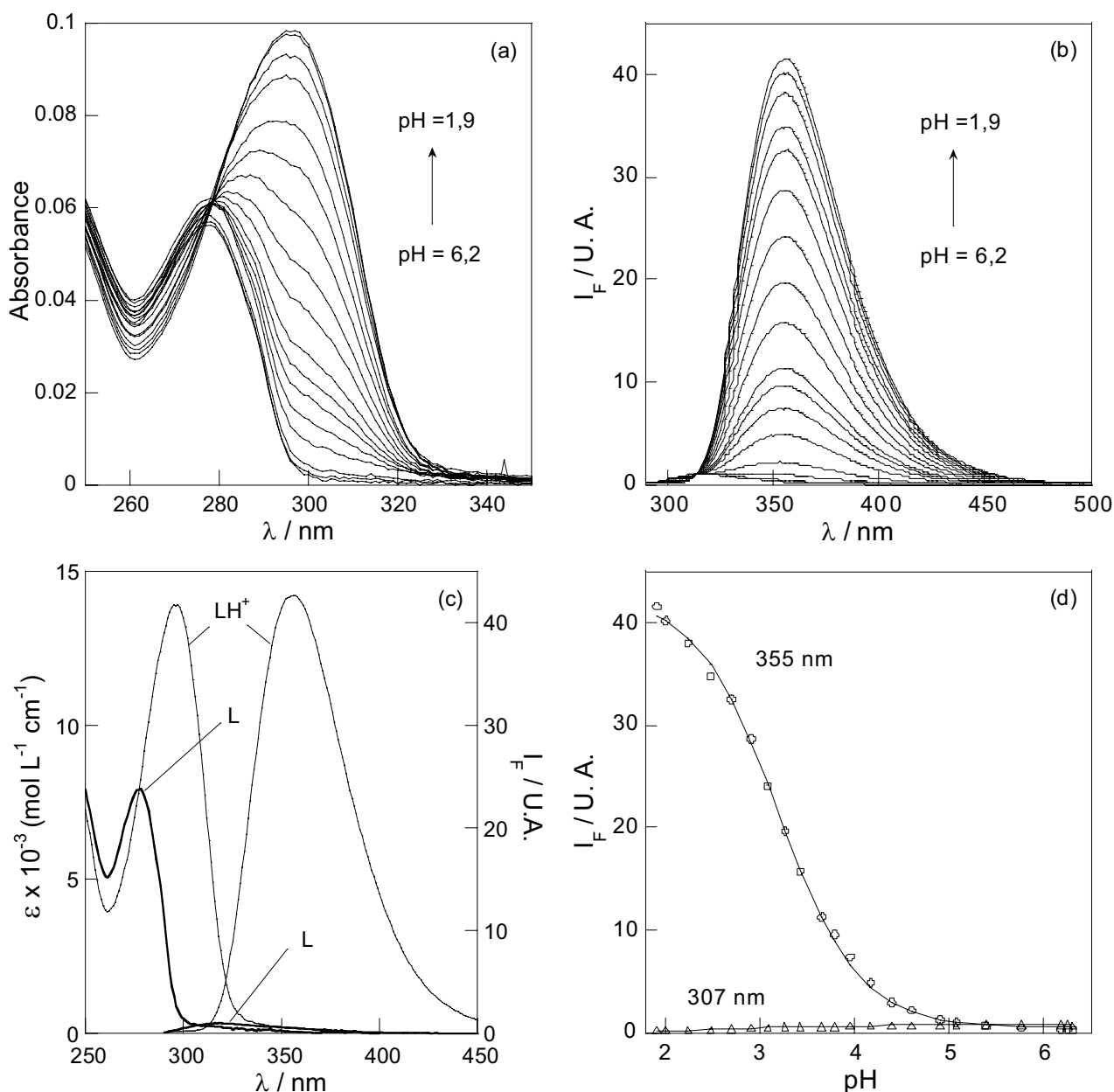
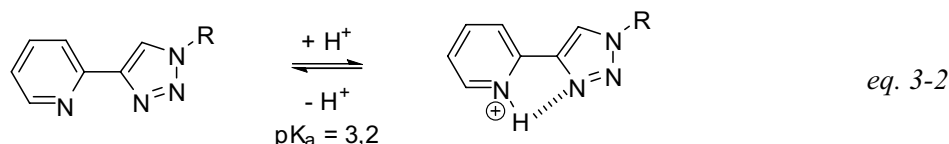


Figure 3-31. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) de fluorescence du composé Gluco-PT en fonction du pH dans un milieu eau/méthanol 80:20 ($[L] = 7,4 \mu\text{M}$; $\lambda_{\text{exc}} = 280 \text{ nm}$); (c) spectres des espèces L et LH^+ reconstruits par le logiciel SPECFIT[™] et (d) ajustement numérique en fluorescence à deux longueurs d'onde d'émission.

La diminution du pH entraîne en absorption un important déplacement bathochrome (de 278 nm à 296 nm) ainsi qu'une importante exaltation du coefficient d'absorption molaire au maximum d'absorption. En fluorescence stationnaire, le déplacement spectral observé vers le rouge est encore plus significatif puisque le maximum de la bande passe de 318 nm à 356 nm. Mais l'effet le plus spectaculaire est l'importante augmentation du rendement quantique de fluorescence en milieu acide (d'un facteur 40 environ). Si l'on considère le motif pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole comme un fluorophore à transfert de charge pour lequel le noyau pyridine joue le rôle d'accepteur, les effets photophysiques observés sont en accord avec la protonation de l'azote de la pyridine. En effet, la formation en milieu acide de l'ion pyridinium renforce le caractère accepteur de la pyridine et le transfert de charge du triazole vers la pyridine est renforcé. Les spectres d'absorption et de

fluorescence de la forme acide du composé Gluco-PT sont donc logiquement déplacés vers le rouge et le rendement quantique de fluorescence de la forme acide est exalté. L'ajustement des faisceaux de courbes en absorption et en fluorescence grâce au logiciel SPECFIT™ permet de trouver 3,2 comme valeur du pK_a de l'azote de la pyridine. Cette valeur est de deux unités inférieure à celle de la pyridine ($pK_a = 5,23$)⁷⁴ en raison de la proximité d'un atome d'azote du noyau triazole assurant une stabilisation du proton par formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire. D'ailleurs, cette valeur est comparable à celle tabulée pour des composés de type bipyridine ($pK_a = 3,62$).⁷⁵



Etude par fluorescence résolue en temps

Les mesures de déclin de fluorescence pour le composé Gluco-PT ont été réalisées dans le méthanol en excitant à 288 nm. La longueur d'onde d'émission choisie est de 330 nm, en raison de la présence de résidus du pulse d'excitation aux longueurs d'onde inférieures. L'analyse des courbes par une somme discrète d'exponentielles est réalisée avec le logiciel GLOBALS™. Les résultats des différents ajustements numériques sont donnés dans le Tableau 3-3. La durée de vie moyenne $\langle \tau_i \rangle$ est calculée à partir des constantes de temps τ_i et des coefficients préexponentiels normalisés α_i issus de l'ajustement numérique :

$$\langle \tau_i \rangle = \sum_i \alpha_i \tau_i \quad \text{avec} \quad \sum_i \alpha_i = 1 \quad \text{eq. 3-3}$$

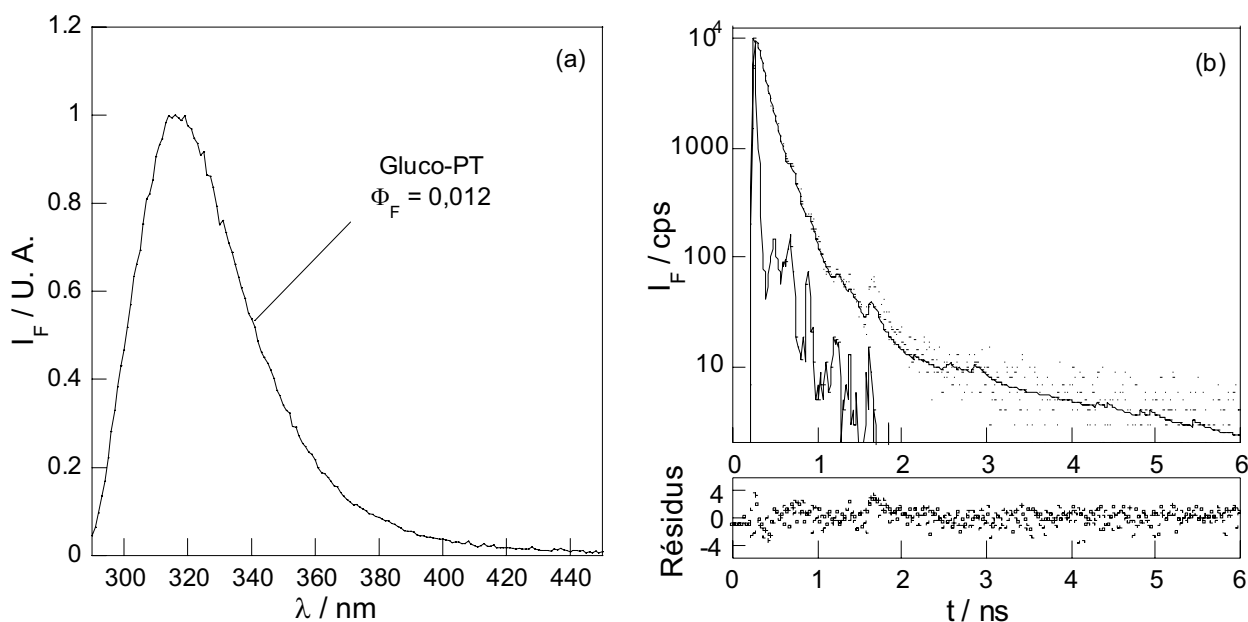


Figure 3-32. (a) Spectre de fluorescence du ligand Gluco-PT dans le méthanol ($\lambda_{exc} = 280$ nm) et (b) déclin de fluorescence à 330 nm ($\lambda_{exc} = 288$ nm, 14,6 ps.canal⁻¹).

Une somme de deux exponentielles est nécessaire pour obtenir un ajustement numérique satisfaisant. Celui-ci fait apparaître une constante de temps très majoritaire égale à 112 ps. Cette constante de temps peut donc être considérée comme étant la durée de vie du fluorophore modèle

pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole. Néanmoins, une constante de temps plus longue et très minoritaire est nécessaire pour obtenir un ajustement numérique satisfaisant aux temps longs. Celle-ci peut être fixée à la valeur de la durée de vie de la forme protonée de Gluco-PT dans le méthanol (*cf.* paragraphe suivant). Une faible proportion d'espèce protonée dans le méthanol (inférieure à 0,1 %) peut donc être à l'origine de cette seconde constante de temps plus longue.

Conditions		τ_i (ns)	α_i	f_i	$\langle \tau_i \rangle$ (ns)	χ_R^2
Gluco-PT	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$ 14,6 ps.canal ⁻¹	$0,116 \pm 0,010$	1	1	0,116	2,35
		$0,112 \pm 0,003$	0,998	0,97	0,115	1,11
		$1,66 \pm 0,5$	0,002	0,03		
		$0,112 \pm 0,003$	0,998	0,97		
		2,05 (fixé)	0,002	0,03	0,115	1,12

Tableau 3-3. Analyse du déclin de fluorescence du composé Gluco-PT dans le méthanol.

Des mesures de durée de vie ont également été effectuées dans le méthanol en présence d'acide perchlorique. Comme le montre le déclin de fluorescence enregistré à 360 nm et présenté sur la Figure 3-33, il est monoexponentiel et la constante de temps associée est de $2,05 \pm 0,04 \text{ ns}$. Il faut donc noter l'importante augmentation de la durée de vie de la forme acide comparativement à la forme neutre dont la composante très majoritaire du déclin dans le méthanol est de 112 ps. Cette augmentation explique en grande partie que le rendement quantique de fluorescence de la forme acide soit bien plus élevé que celui de la forme neutre.

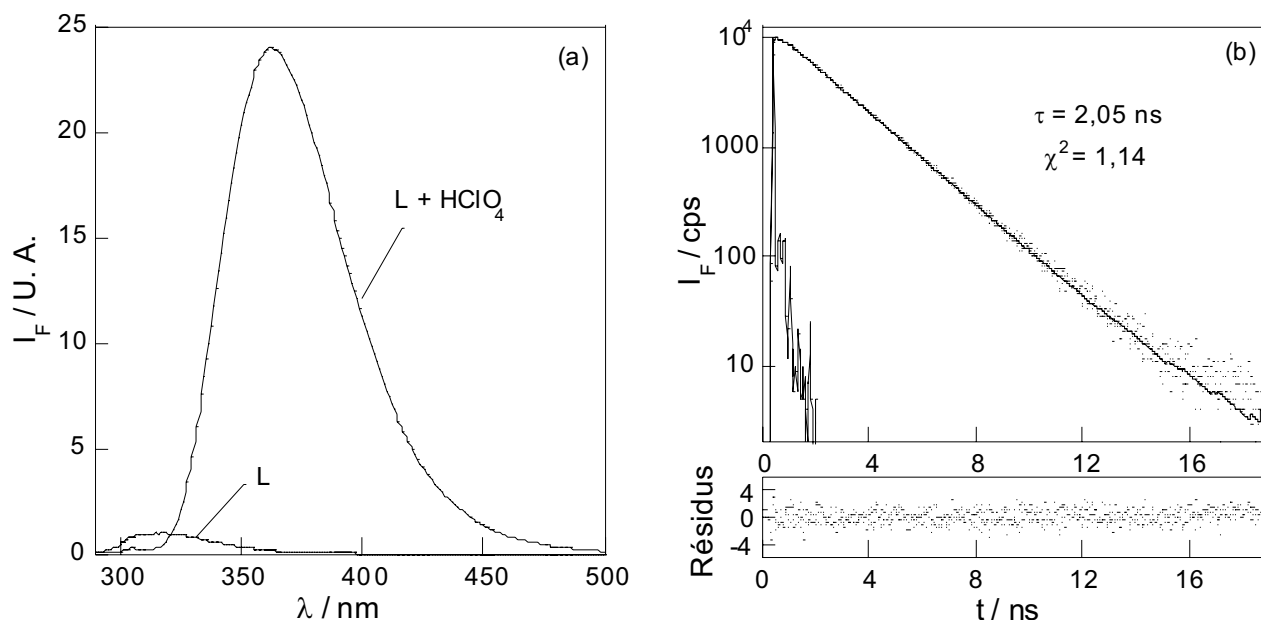
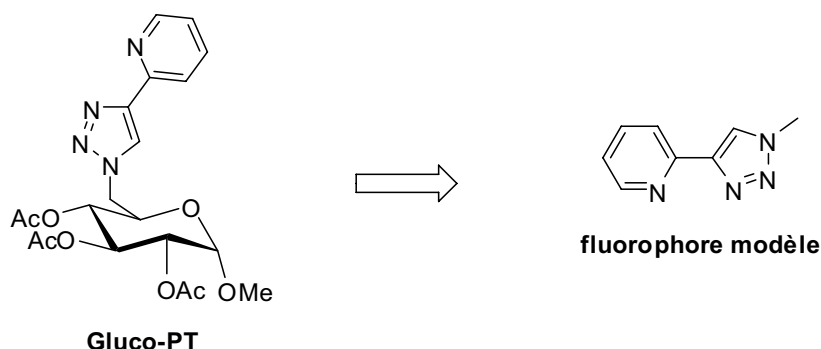


Figure 3-33. (a) Spectres de fluorescence du ligand Gluco-PT dans le méthanol en absence et en présence d'acide perchlorique ($\lambda_{exc} = 280 \text{ nm}$) et (b) déclin de fluorescence à 360 nm de la forme acide ($\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$, $24,4 \text{ ps.canal}^{-1}$, $[L] = 9,7 \text{ }\mu\text{M}$).

Etude par DFT d'un fluorophore modèle de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Dans le but de valider l'hypothèse émise d'un transfert de charge photoinduit du cycle triazole vers la pyridine acceptrice, des calculs de modélisation moléculaire via le logiciel Gaussian 03⁷⁶ ont été

réalisés sur un fluorophore modèle substitué en position 1 du groupement triazole par un groupement méthyle. Ceux-ci utilisent la méthode de la fonctionnelle de densité (DFT) avec la fonctionnelle mixte B3LYP. L'optimisation de géométrie, le calcul des orbitales moléculaires et des premières transitions électroniques ont été réalisés avec la base 6-31+G* en phase gaz.



Ainsi, l'optimisation de la géométrie du fluorophore modèle montre que la conformation la plus stable est la conformation plane où l'atome d'azote de la pyridine est tête-bêche avec l'atome d'azote en position 3 du noyau triazole. Cette conformation (notée *trans*) est en effet plus stable de 27,2 kJ mol⁻¹ par rapport à la forme *cis* où les atomes d'azotes de la pyridine et du triazole sont côte à côte (cf. Figure 3-34). La barrière énergétique permettant le passage de la forme *cis* à la forme *trans* est de 5 kJ mol⁻¹. Elle est calculée comme l'énergie de la conformation où les deux cycles aromatiques sont perpendiculaires. Cette barrière étant de l'ordre de grandeur de $k_B T$, il est donc fort probable que la conformation *trans* soit majoritaire.

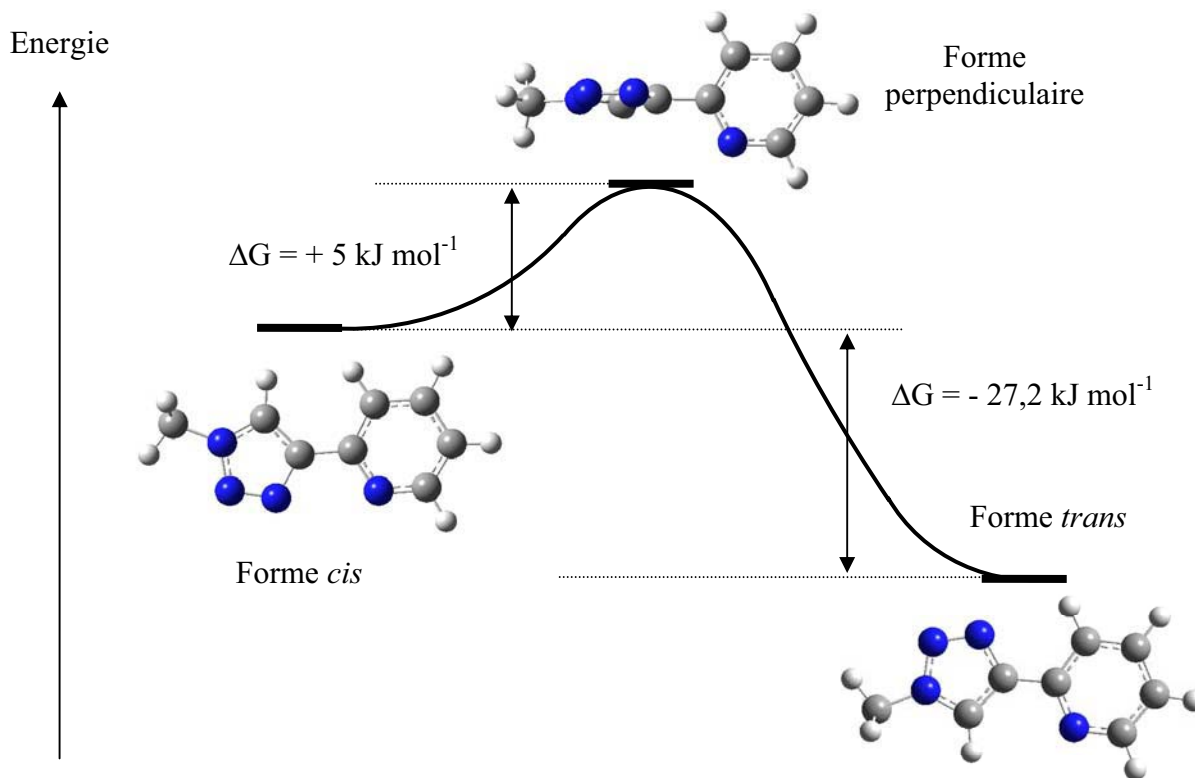


Figure 3-34. Géométries optimisées du fluorophore modèle pour les formes *cis*, *trans* et perpendiculaire (B3LYP/6-31+G*).

A partir de la géométrie optimisée à l'état fondamental (autrement dit la conformation *trans*), des calculs de TDDFT (théorie de la fonctionnelle de densité dépendante du temps) ont été réalisés afin de prédire les transitions électroniques (orbitales moléculaires mises en jeu et force d'oscillateur) et les longueurs d'onde d'absorption correspondantes. La transition électronique $S_0 \rightarrow S_1$ correspond à une transition $\pi \rightarrow \pi^*$ dont la composante majoritaire est la transition HOMO \rightarrow LUMO. Cette transition met en évidence une réorganisation du nuage électronique lors de l'excitation. En effet, l'orbitale HOMO de symétrie π est délocalisée de manière quasi uniforme entre le cycle triazole et la pyridine. L'orbitale LUMO (également de symétrie π) est quant à elle localisée majoritairement sur le cycle pyridine, ce qui semble confirmer que le transfert de la densité électronique lors de l'excitation s'effectue du groupement triazole donneur vers la pyridine acceptrice. La direction du moment de transition correspondant au passage $S_0 \rightarrow S_1$ est représentée sur la Figure 3-35. En ce qui concerne la longueur d'onde correspondant à cette transition, le calcul donne une valeur de 265 nm compatible avec la valeur expérimentale de 279 nm mesurée pour le composé Gluco-PT dans le méthanol sachant que les calculs sont réalisés en absence de solvant.

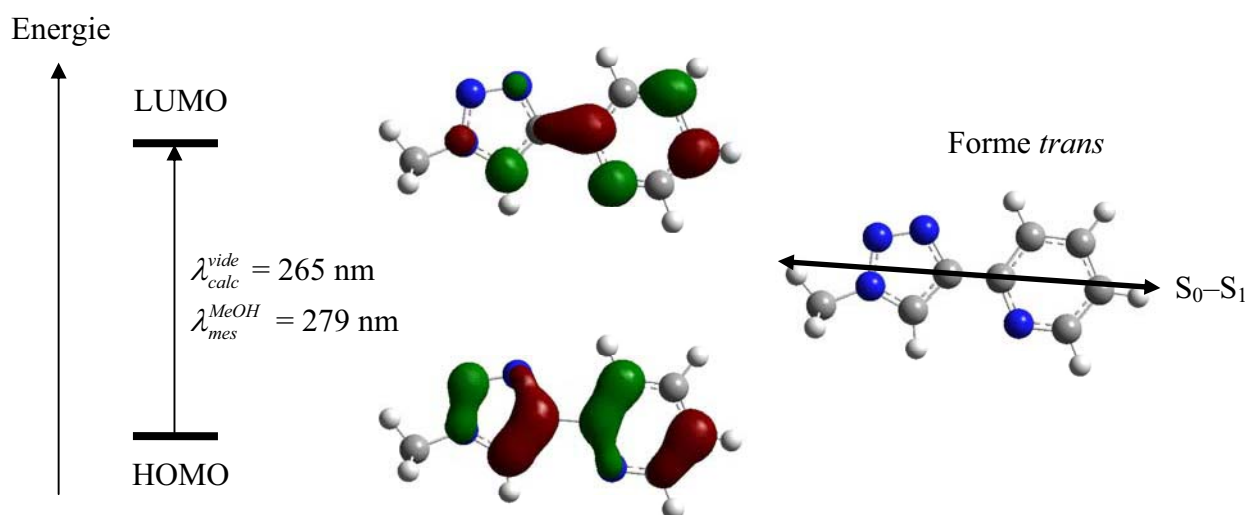


Figure 3-35. Géométrie optimisée, orbitales HOMO et LUMO de la forme *trans* (B3LYP/6-31+G*).

Afin de mettre en évidence de manière plus explicite le transfert de charge du groupement triazole vers la pyridine, des calculs similaires ont été réalisés dans les mêmes conditions sur la forme protonée du fluorophore en conformation *cis* et *trans*. L'optimisation montre que la forme protonée de la conformation *cis* est plus stable que la forme protonée de la conformation *trans* ($-24,9 \text{ kJ mol}^{-1}$). Ceci est certainement dû dans la conformation *cis* à la proximité d'un deuxième atome d'azote qui stabilise le proton du cycle pyridinium. Cette stabilisation est sans doute à relier à la faible valeur de pK_a mesurée pour ce proton.

A l'instar de ce qui a été observé pour la forme non protonée en conformation *trans*, la transition électronique $S_0 \rightarrow S_1$ pour la forme protonée *cis* correspond majoritairement à une transition de type $\pi \rightarrow \pi^*$ entre les orbitales HOMO et LUMO. Comme le montrent les représentations de ces deux orbitales moléculaires présentées sur la Figure 3-36, cette transition se caractérise par un important transfert de la densité électronique du noyau triazole vers le noyau pyridinium lors de l'excitation. Cette transition intervient à plus haute longueur d'onde que pour la forme neutre (296 nm par le calcul contre 265 nm) et se caractérise par un transfert de charge

beaucoup plus marqué en raison du meilleur caractère accepteur du cycle pyridinium. Ces calculs sont en accord avec l'évolution des spectres d'absorption du ligand Gluco-PT dans un mélange MeOH/H₂O 80:20 v/v en fonction du pH (déplacement vers le rouge en milieu acide).

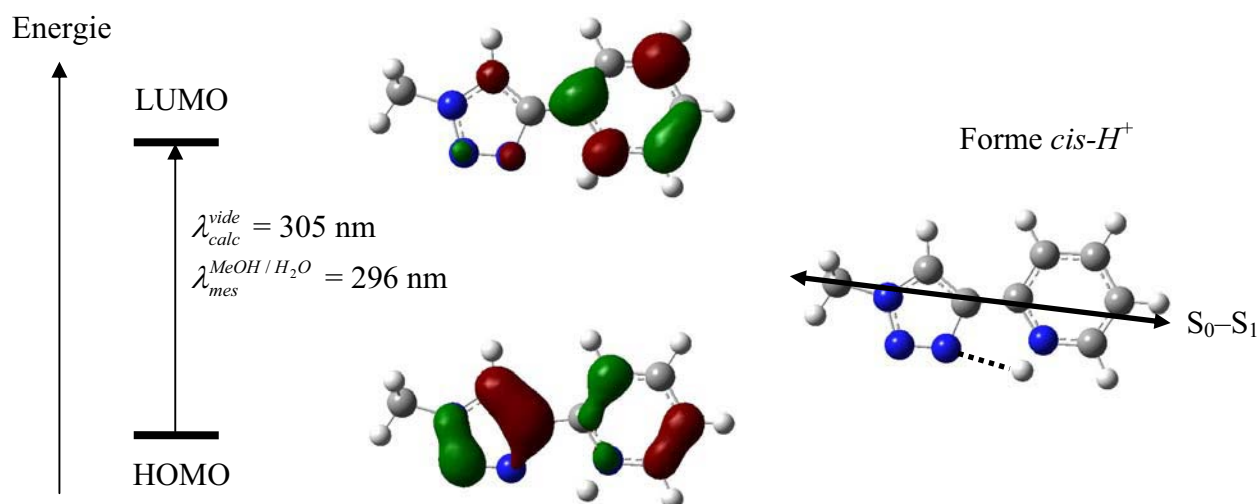


Figure 3-36. Géométrie optimisée, orbitales HOMO et LUMO de la forme cis protonée (B3LYP/6-31+G*).

IV.2.2. Etude comparée des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Etude par spectroscopies d'absorption et de fluorescence stationnaires

Les spectres d'absorption et de fluorescence des différents composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole ont été enregistrés dans le méthanol. Afin de pouvoir effectuer la comparaison avec le composé modèle Gluco-PT, les coefficients d'absorption molaires des différents composés sont rapportés au nombre d'unités pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole qu'ils comportent.

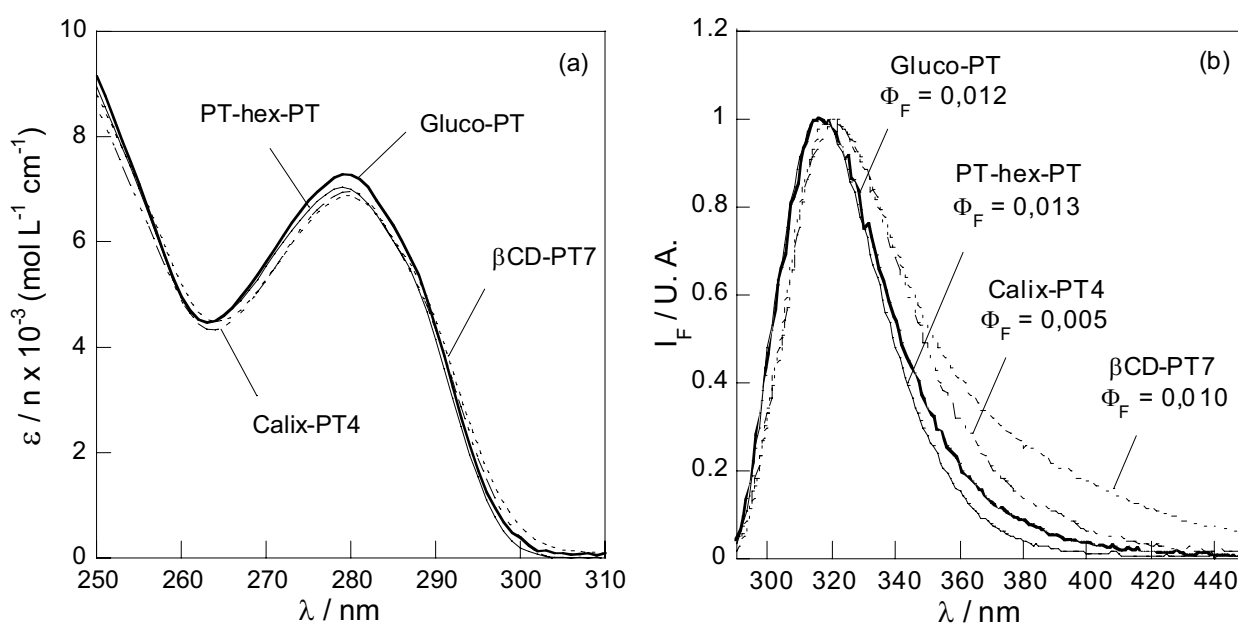


Figure 3-37. (a) Spectres d'absorption des composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole dans le méthanol rapportés au nombre de chromophores qu'ils comportent ; (b) spectres de fluorescence normés de ces composés dans le méthanol (excitation à 280 nm).

Les mesures en absorption présentées sur la Figure 3-37(a) montrent clairement que les spectres de chaque composé sont très similaires à celui du composé modèle Gluco-PT (en gras sur la figure). Le maximum de la bande d'absorption se situe à environ 280 nm pour les quatre composés et la forme de la bande d'absorption est très peu modifiée. Le coefficient d'absorption molaire à cette longueur d'onde divisé par le nombre de motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole est d'environ $7000 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. L'ensemble de ces résultats montre donc qu'il n'existe au sein des composés multichromophoriques étudiés que peu d'interactions entre les chromophores à l'état fondamental.

Il en est tout autrement à l'état excité puisque les spectres de fluorescence stationnaire diffèrent d'un composé à l'autre. Concernant le dimère PT-hex-PT, son rendement quantique de fluorescence ($\Phi_F = 0,013$) et la forme de sa bande d'émission centrée à 315 nm sont assez proches de ceux observés pour le composé modèle. En revanche, le calixarène et la cyclodextrine montrent un élargissement de leur spectre de fluorescence particulièrement important et le maximum en émission est légèrement décalé vers les grandes longueurs d'onde. Pour le calixarène Calix-PT, cet élargissement s'accompagne d'une diminution du rendement quantique de fluorescence ($\Phi_F = 0,005$) tandis que celui de la cyclodextrine β CD-PT est de 0,010. Ces résultats montrent qu'à l'état excité, les fluorophores pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles au sein du calixarène et de la cyclodextrine interagissent notablement les uns avec les autres, à l'inverse du dimère PT-hex-PT pour lequel ces interactions sont faibles. Les principaux paramètres photophysiques des différents composés sont reportés dans le Tableau 3-4.

	Gluco-PT	PT-hex-PT	Calix-PT4	βCD-PT7
$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$ (nm)	279 ± 1	279 ± 1	280 ± 1	280 ± 1
ε ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)	7300 ± 300	14150 ± 500	28050 ± 1000	48200 ± 2000
ε / n ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)	7300 ± 300	7100 ± 250	7000 ± 250	6900 ± 300
$\lambda_{\text{max}}^{\text{ém}}$ (nm)	316 ± 1	315 ± 1	322 ± 1	319 ± 1
Φ_F	$0,012 \pm 0,002$	$0,013 \pm 0,002$	$0,005 \pm 0,001$	$0,010 \pm 0,002$

Tableau 3-4. Paramètres photophysiques des composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole dans le méthanol.

Suite à ces résultats obtenus par absorption et fluorescence stationnaires, des études comparatives sur ces quatre ligands ont été réalisées par fluorescence impulsionnelle.

Etude par fluorescence résolue en temps

Les mesures de déclin de fluorescence pour ces quatre composés ont été réalisées dans le méthanol en excitant à 288 nm. De la même manière que précédemment, la longueur d'onde en émission est 330 nm et les courbes sont analysées par une somme discrète d'exponentielles via le logiciel GLOBALS™. Les résultats compilés dans le Tableau 3-5 pour les quatre composés sont issus de l'ajustement numérique le plus satisfaisant.

	Conditions	τ_i (ns)	α_i	f_i	$\langle \tau_i \rangle$ (ns)	χ_R^2
Gluco-PT	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$	$0,112 \pm 0,003$	0,998	0,97	0,115	1,12
	14,6 ps.canal ⁻¹	2,05 (fixé)	0,002	0,03		
PT-hex-PT	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$	$0,115 \pm 0,003$	0,98	0,83	0,137	1,17
	14,6 ps.canal ⁻¹	$1,50 \pm 0,12$	0,02	0,17		
Calix-PT4	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$ 14,6 ps.canal ⁻¹	$0,033 \pm 0,002$	0,710	0,34	0,070	1,11
		$0,116 \pm 0,005$	0,273	0,45		
		$0,54 \pm 0,06$	0,015	0,12		
		$4,4 \pm 1,3$	0,002	0,09		
βCD-PT7	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$ 14,6 ps.canal ⁻¹	$0,034 \pm 0,004$	0,496	0,17	0,101	1,04
		$0,134 \pm 0,005$	0,489	0,65		
		$0,66 \pm 0,12$	0,013	0,08		
		$6,0 \pm 1,2$	0,002	0,10		

Tableau 3-5. Analyse des déclins de fluorescence des composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole dans le méthanol.

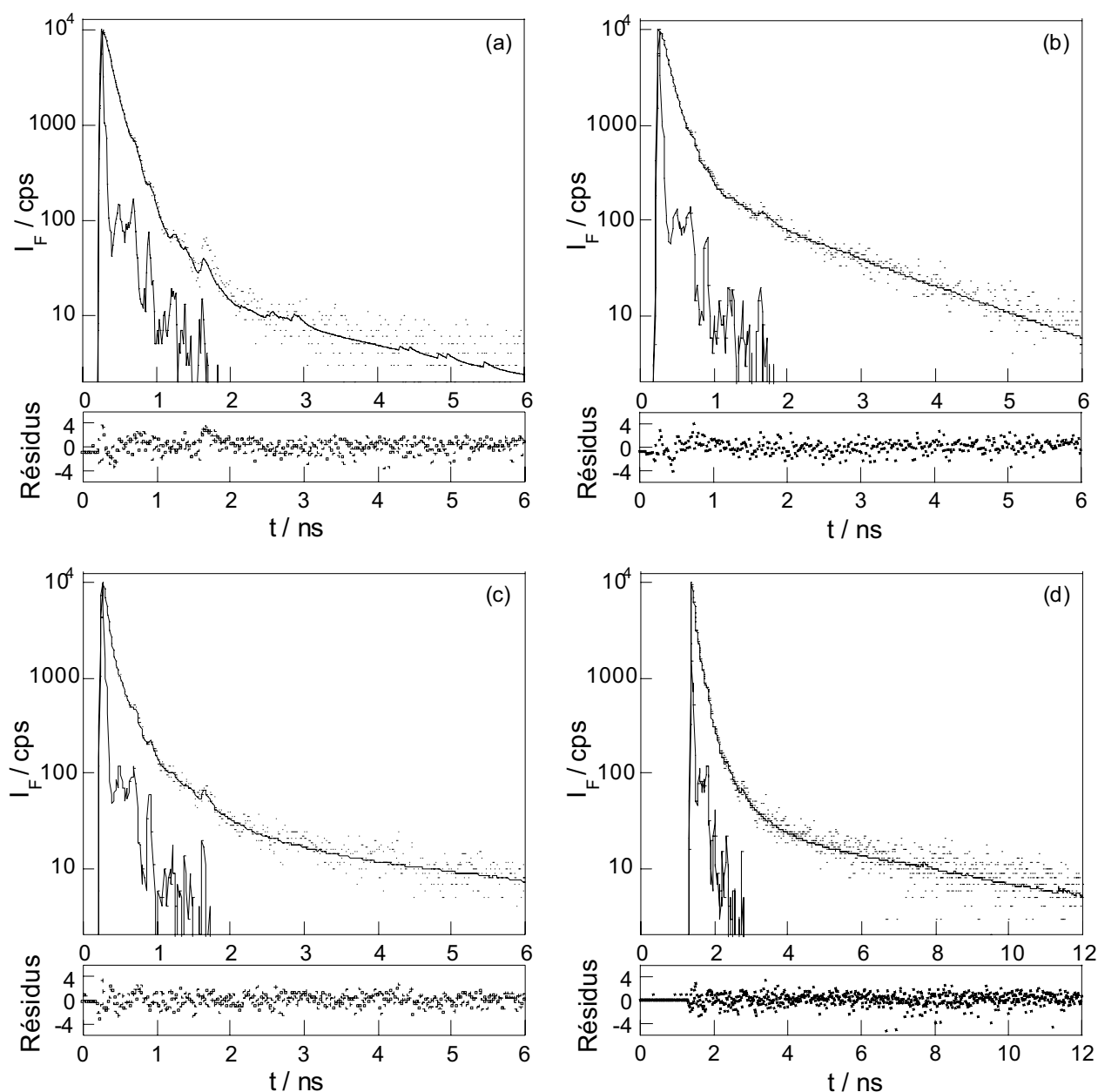


Figure 3-38. Déclins de fluorescence de (a) Gluco-PT ; (b) PT-hex-PT ; (c) Calix-PT4 et (d) β CD-PT7 dans le méthanol ($\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$).

Le premier déclin représenté sur la Figure 3-38(a) est celui du composé modèle dans le méthanol. Concernant le dimère PT-hex-PT, une constante de temps comparable à la durée de vie du fluorophore modèle (115 ps) est également très majoritaire puisque sa proportion est de l'ordre de 98 %. La présence d'une seconde constante de temps plus longue de 1,5 ns est cependant difficile à interpréter par la présence d'une espèce protonée.^a Le déclin biexponentiel du dimère démontre donc l'existence d'interactions entre les deux fluorophores du dimère PT-hex-PT. Cependant, la durée de vie attribuée au ligand étant fortement majoritaire, ces interactions sont peu importantes.

Le calixarène Calix-PT4 se distingue quant à lui par un rendement quantique nettement inférieur à celui du composé modèle. Ainsi, il n'est pas surprenant de voir apparaître dans le déclin de fluorescence à 330 nm des constantes de temps plus courtes que la durée de vie du ligand libre. Quatre constantes de temps sont nécessaires à l'obtention d'un ajustement numérique correct. La composante majoritaire du déclin (71 %) est une composante très courte (33 ps) tandis que la constante de temps du fluorophore modèle de 116 ps est également présente à hauteur de 27 %. Enfin, deux autres constantes de temps plus longues de 0,54 ns et 4,43 ns apparaissent aux temps longs. Leur attribution sera discutée par la suite.

Pour le composé β CD-PT7 qui comporte sept chromophores, le déclin enregistré dans le méthanol est également très complexe et quatre constantes de temps sont nécessaires à un bon ajustement numérique. Les valeurs des constantes de temps sont assez similaires à celles trouvées pour le calixarène. Par exemple, la composante ultra-courte de 34 ps qui compte pour moitié en terme de coefficient préexponentiel est identique à la composante majoritaire du déclin du calixarène Calix-PT4. De même, l'autre constante de temps majoritaire de 134 ps est relativement proche de la durée de vie du fluorophore modèle. Enfin, deux constantes de temps plus longues apparaissent également, la première étant égale à 0,65 ns, la seconde à 5,95 ns.

Interprétation des données spectroscopiques

Les mesures réalisées en absorption nous ont montré que les motifs fluorescents des différents composés multichromophoriques synthétisés interagissaient peu entre eux à l'état fondamental. A l'inverse, ces interactions sont significatives à l'état excité pour certains d'entre eux. En effet, alors que le dimère PT-hex-PT possède des propriétés photophysiques très proches de celles du composé modèle Gluco-PT, celles des composés Calix-PT4 et β CD-PT7 sont très différentes (élargissement du spectre d'émission et apparition de nouvelles constantes de temps dans les déclins de fluorescence à 330 nm). Plusieurs hypothèses sont alors envisageables dans le but d'expliquer ce comportement : existence de multiples conformations et donc de multiples microenvironnements pour les fluorophores, mais aussi formation éventuelle d'excimères entre fluorophores.

Si l'existence d'excimères intramoléculaires a déjà été mise en évidence pour certains systèmes multichromophoriques de type cyclodextrine,⁷⁷ cette hypothèse semble néanmoins peu probable dans le cas des composés étudiés ici. En effet, les déplacements spectraux et l'élargissement de la bande d'émission demeurent trop faibles pour être expliqués par la formation d'un excimère. De plus, invoquer la formation d'excimère pour les ligands libres semble peu

^a Contrairement au composé modèle, le déclin de fluorescence du dimère en milieu acide à 360 nm est biexponentiel avec une constante de temps majoritaire de $2,75 \pm 0,02$ ns (92 %) et une seconde minoritaire de $0,67 \pm 0,25$ ns (8 %).

judicieux compte tenu des résultats obtenus après complexation de Calix-PT4 par le cadmium et qui seront décrits par la suite. Par conséquent, l'hétérogénéité des microenvironnements pour les différents fluorophores semble être la raison essentielle de la différence de comportement entre le sucre modèle, le calixarène et la cyclodextrine. Quant à l'apparition d'une constante de temps très courte, il peut s'agir d'un phénomène d'agrégation entre fluorophores.

En conclusion, les propriétés photophysiques des différents composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole ont été étudiées et il est fort probable que l'hétérogénéité des microenvironnements des fluorophores soit à l'origine des différents phénomènes observés aussi bien par fluorescence stationnaire que résolue en temps sur les composés Calix-PT4 et β CD-PT7. Toutefois, la complexité des déclins nous empêche d'effectuer une analyse rigoureuse de tous les phénomènes qui interviennent au sein de ces structures.

IV.3. Propriétés complexantes des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Dans ce paragraphe seront décrites les propriétés complexantes des composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole vis-à-vis du cadmium. Les effets induits par le cadmium sur les propriétés photophysiques des différents ligands ont été étudiés, et l'affinité de ces ligands pour le cadmium dans le méthanol a été évaluée. Enfin, une étude de sélectivité par rapport aux autres cations métalliques a été effectuée.

IV.3.1. Complexation du cadmium par les composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole

Dans ce paragraphe seront étudiés les effets induits par le cadmium sur les propriétés photophysiques des composés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole dans le méthanol par absorption et fluorescence stationnaires, et fluorescence résolue en temps. Les constantes thermodynamiques de formation des complexes avec le cadmium seront également déterminées.

Complexation du cadmium par le sucre modèle Gluco-PT

Les spectres d'absorption et de fluorescence du ligand Gluco-PT sont enregistrés dans le méthanol pour différentes concentrations en cadmium par ajouts croissants d'une solution concentrée de perchlorate de cadmium $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$. La concentration en ligand est maintenue constante tout au long du dosage ($[\text{L}] = 8,8 \mu\text{M}$). Les cinétiques de complexation sont suffisamment rapides à 20°C pour que la réaction de complexation se déroule dans le temps du mélange de la solution.

Comme le montre la Figure 3-40, l'ajout de cadmium à une solution de ligand Gluco-PT entraîne un déplacement bathochrome des spectres d'absorption de 6 nm et s'accompagne d'une exaltation du coefficient d'absorption molaire au maximum de la bande d'absorption. Un point isosbestique à 273 nm semble indiquer la présence simultanée de deux espèces en proportions variables. Par ailleurs, les effets observés sont certes d'une moindre ampleur mais comparables à ceux observés lors de la protonation de l'azote du groupement pyridine. Cela confirme la chélation du cation Cd^{2+} avec cet atome d'azote dont le caractère accepteur est alors renforcé. L'évolution des spectres de fluorescence de Gluco-PT (*cf.* Figure 3-41) avec l'ajout de cadmium confirme cette hypothèse. En effet, la complexation du cation Cd^{2+} s'accompagne d'une importante exaltation de

fluorescence (d'un facteur 10). Celle-ci est logiquement plus faible que celle observée pour la forme acide et le déplacement spectral observé en émission est minime (2 nm).

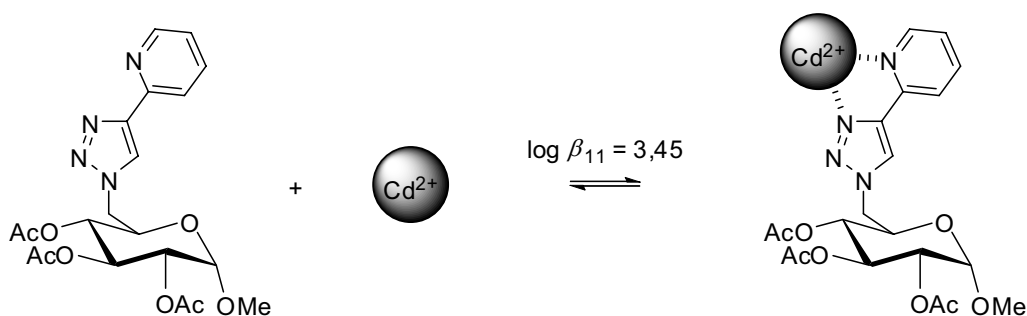


Figure 3-39. Complexation du cadmium par le composé Gluco-PT dans le méthanol.

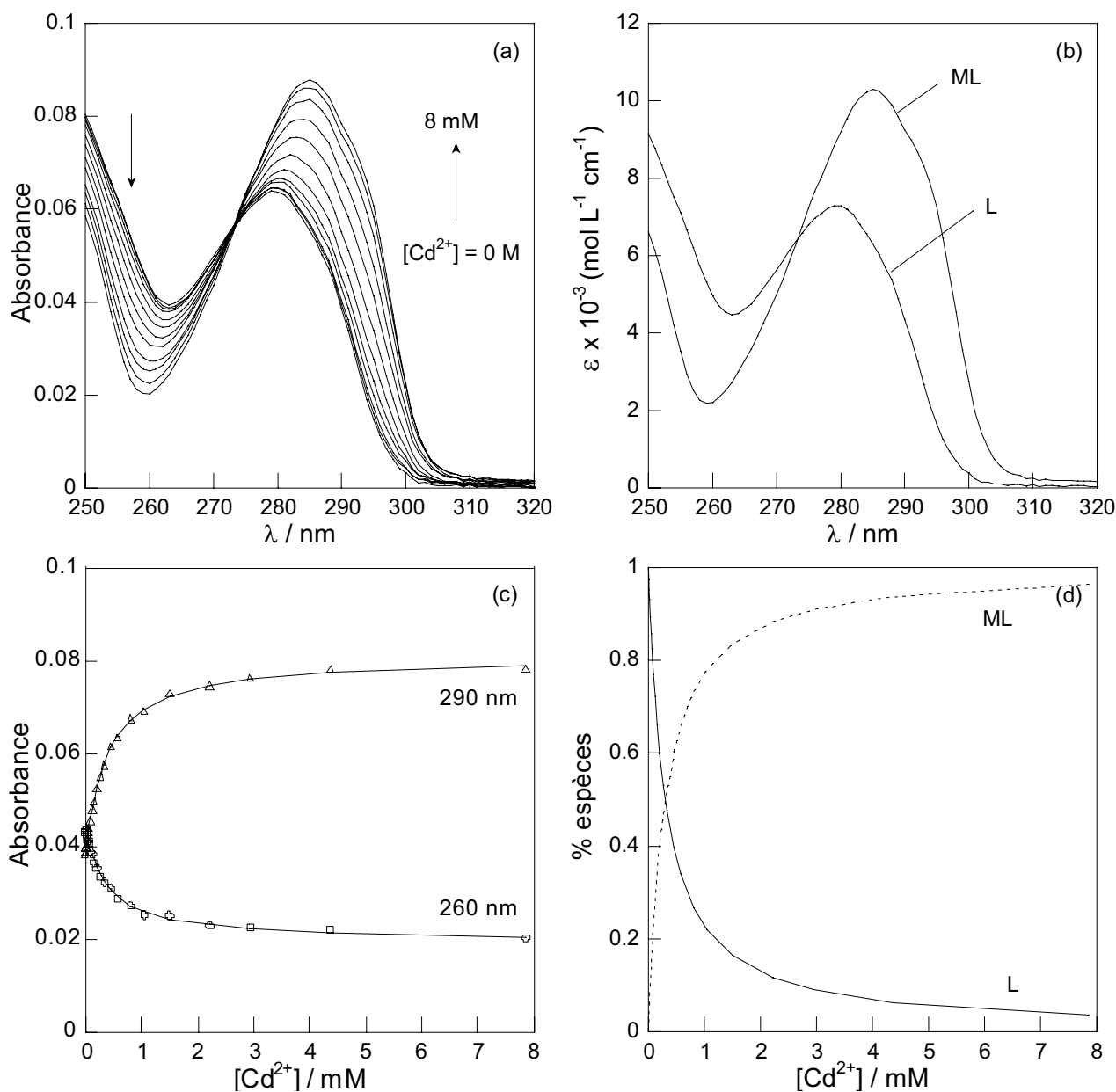


Figure 3-40. (a) Evolution des spectres d'absorption de Gluco-PT avec l'ajout de cadmium dans le méthanol ($[L] = 8,8 \mu\text{M}$) ; (b) spectres d'absorption du ligand L et du complexe ML reconstruits par le logiciel SPECFIT™ ; (c) ajustements numériques à 260 nm et 290 nm ; (d) spéciation de Gluco-PT avec l'ajout de cadmium.

L'ajustement numérique par le logiciel SPECFIT™ des faisceaux de courbes obtenus en absorption et en fluorescence stationnaires permet d'accéder aux constantes de complexation du composé Gluco-PT avec le cadmium. Le modèle le plus pertinent suppose la formation d'un unique complexe ML de stoechiométrie 1:1 (Figure 3-39). Ainsi, les expériences en absorption et en émission conduisent à une constante de complexation identique ($\log \beta_{11} = 3,45 \pm 0,1$) et des ajustements numériques satisfaisants. La présence d'espèces où plusieurs ligands sont en interaction avec le métal n'a pas été mise en évidence.

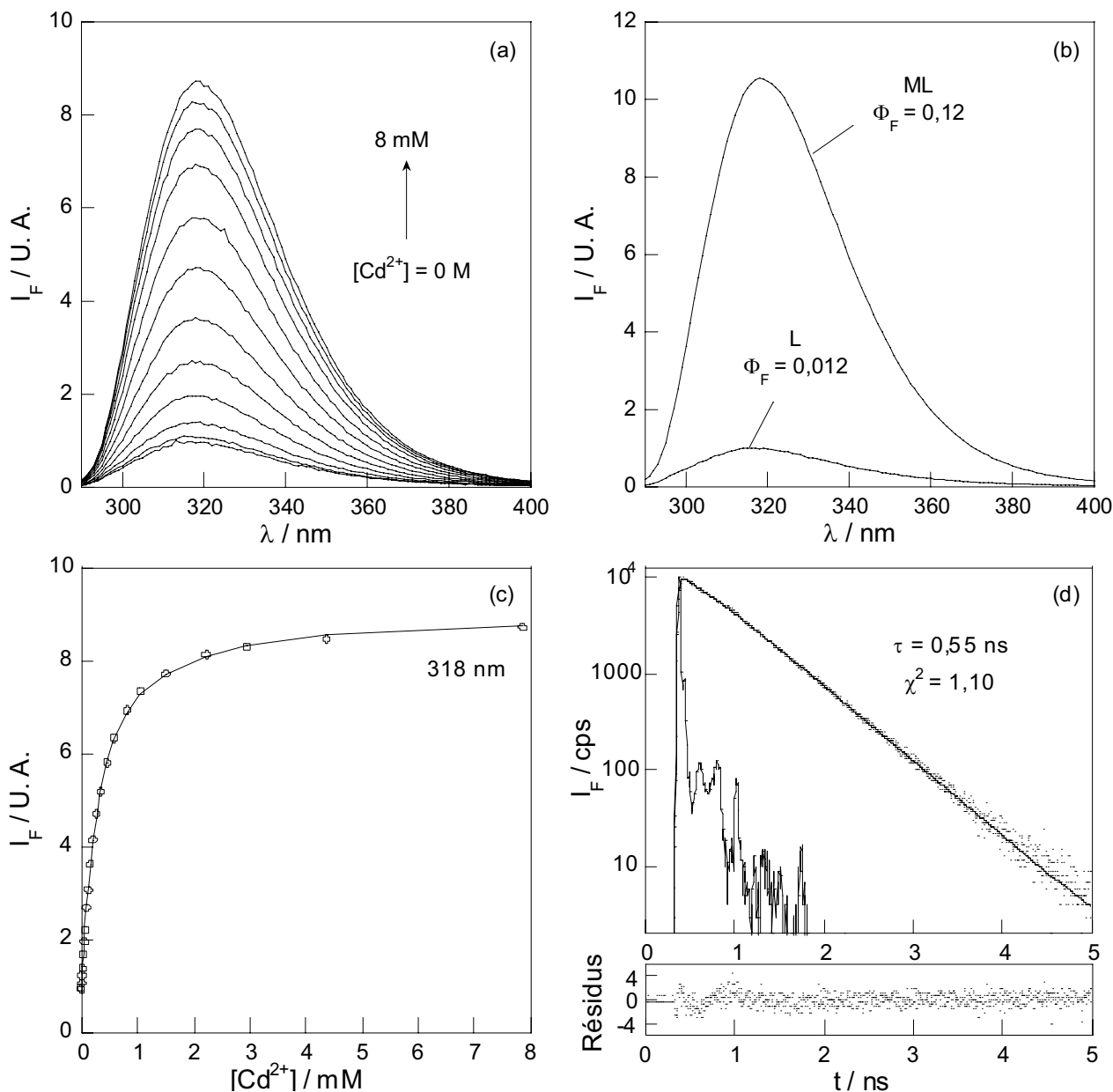


Figure 3-41. (a) Evolution des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance de Gluco-PT avec l'ajout de cadmium dans le méthanol ($[L] = 8,8 \mu M$, $\lambda_{exc} = 280 nm$) ; (b) spectres d'émission du ligand L et du complexe ML reconstruits par le logiciel SPECFIT™ ; (c) ajustement numérique à 318 nm ; (d) déclin de fluorescence de Gluco-PT dans le méthanol en présence d'un large excès de cadmium (16 mM), $\lambda_{exc} = 288 nm$, $\lambda_{em} = 330 nm$, $5,86 ps.canal^{-1}$, $[L] = 9,5 \mu M$.

En ce qui concerne le déclin de fluorescence du ligand enregistré à 330 nm dans le méthanol (excitation à 288 nm) en présence d'un large excès de cadmium, celui-ci est monoexponentiel avec

une durée de vie égale à 0,55 ns. Cette durée de vie correspondant à la durée de vie du complexe formé avec le cadmium est logiquement plus grande que celle du ligand libre (112 ps). Cette augmentation de la constante de vitesse de désexcitation radiative s'accompagne d'une diminution de la constante de vitesse de désexcitation non radiative, sans doute en raison de la rigidification de la pince complexante en présence du cation Cd^{2+} ($k_r = 1,1 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ et $k_{nr} = 8,6 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ pour le ligand libre ; $k_r = 2,1 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ et $k_{nr} = 1,8 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ pour le complexe de cadmium).

Complexation du cadmium par le dimère PT-hex-PT

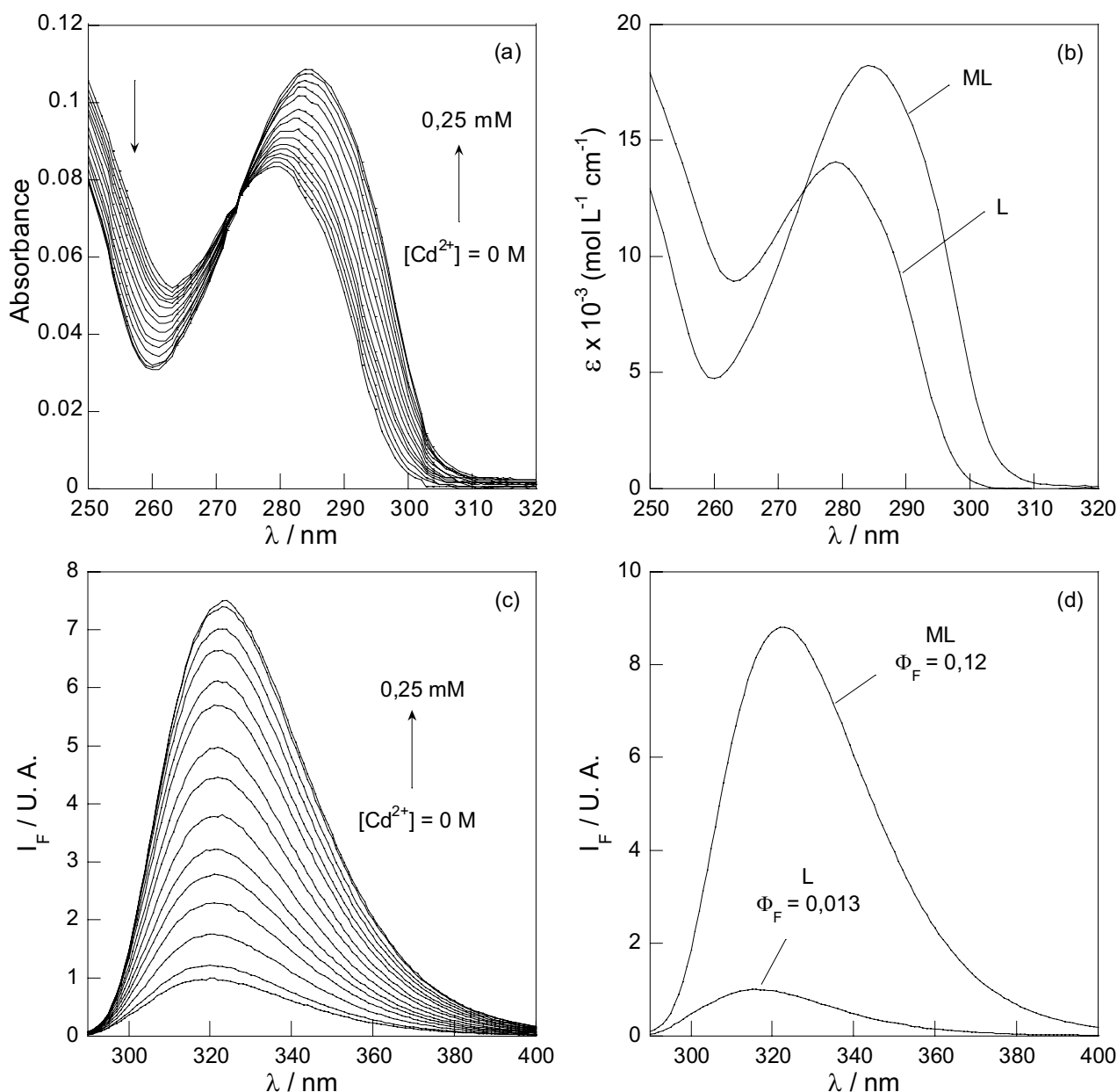


Figure 3-42. (a) Evolution des spectres d'absorption de PT-hex-PT avec l'ajout de cadmium dans le méthanol ($[L] = 5,9 \mu\text{M}$) ; (b) spectres d'absorption du ligand L et du complexe ML reconstruits par le logiciel SPECFIT™ ; (c) évolution des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance de PT-hex-PT avec l'ajout de cadmium dans le méthanol ($[L] = 5,9 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc} = 280 \text{ nm}$) et (d) spectres d'émission du ligand L et du complexe ML reconstruits par le logiciel SPECFIT™.

Des expériences similaires à celles réalisées sur le composé modèle ont été effectuées pour le dimère PT-hex-PT dans le méthanol ($[L] = 5,9 \mu\text{M}$). Les faisceaux de courbes en absorption et en

fluorescence stationnaire sont représentés sur la Figure 3-42, ainsi que les spectres reconstruits par le logiciel SPECFIT™ sur la base d'un modèle faisant intervenir le ligand libre L et un complexe ML de stoechiométrie 1:1. A l'instar du composé modèle, les spectres d'absorption se déplacent vers le rouge avec l'ajout de cadmium et un point isobestique est visible à 273 nm. En fluorescence stationnaire, les effets observés sont également très proches de ceux évoqués ci-dessus pour le composé modèle. En effet, la complexation du cadmium se traduit par une importante exaltation de fluorescence et un très léger déplacement spectral vers le rouge.

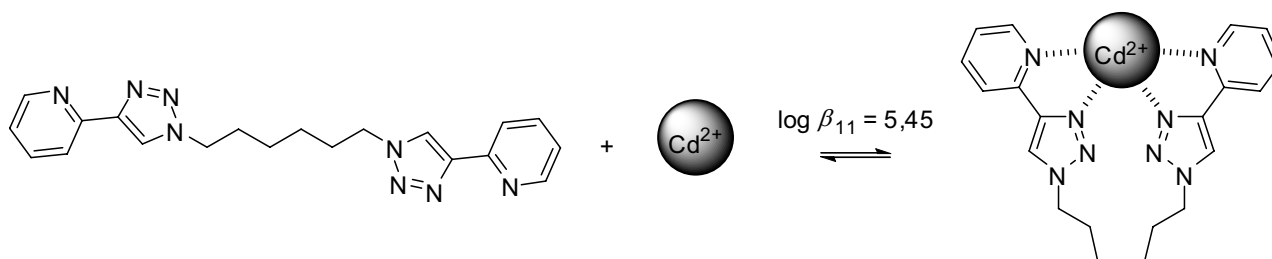


Figure 3-43. Complexation du cadmium par le composé PT-Hex-PT dans le méthanol.

L'ajustement numérique le plus satisfaisant est obtenu avec un modèle ne faisant intervenir qu'un unique complexe de stoechiométrie 1:1 (*cf.* Figure 3-43). La complexation d'un second cation et l'existence d'un complexe de type M_2L n'ont pas été observées. Ainsi, la constante de formation de ce complexe ML dans le méthanol est calculée par le biais des mesures en absorption et en fluorescence et vaut : $\log \beta_{11} = 5,45 \pm 0,1$. Cette valeur est de deux ordres de grandeur supérieure à celle trouvée pour le composé modèle, ce qui montre que la complexation du cation par deux motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles est thermodynamiquement plus favorable (effet chélate).

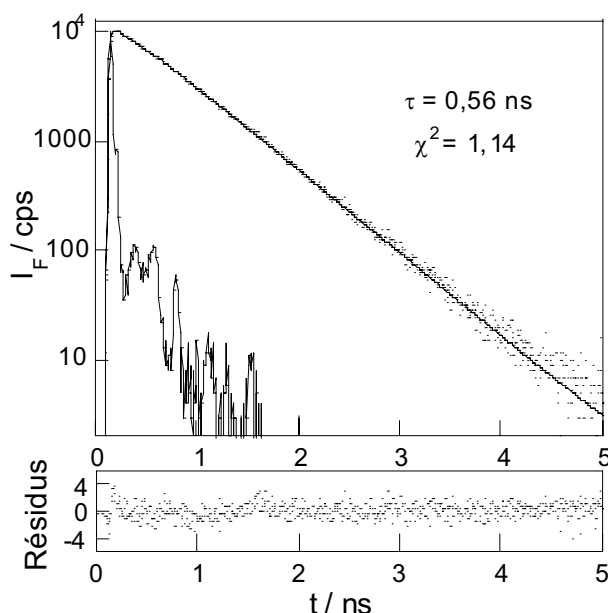


Figure 3-44. Déclin de fluorescence de PT-hex-PT dans le méthanol en présence d'un large excès de cadmium (16 mM), $\lambda_{exc} = 288$ nm, $\lambda_{em} = 330$ nm, 7,32 ps.canal⁻¹, [L] = 5,2 μ M.

Par ailleurs, le déclin de fluorescence de PT-hex-PT en présence d'un large excès de cadmium est monoexponentiel, avec une durée de vie de 0,56 ns identique à celle du complexe formé par le composé modèle avec le cadmium (*cf.* Figure 3-44). Ceci montre donc que les deux fluorophores du dimère participent à la complexation du cation de manière équivalente. Comme pour le composé modèle, l'augmentation du rendement quantique en présence de cadmium s'explique d'une part par l'augmentation de la constante de vitesse de désexcitation radiative, mais également par une diminution des modes de désexcitation non radiatifs en raison d'une rigidification du composé dimère en présence de métal ($k_r = 1,1 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ et $k_{nr} = 8,8 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ pour le ligand libre ; $k_r = 2,2 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$ et $k_{nr} = 1,6 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ pour le complexe de cadmium).

Ainsi, l'ensemble des expériences réalisées sur PT-hex-PT montre que le dimère et le complexe qu'il forme avec le cadmium possèdent des propriétés photophysiques extrêmement proches de celles observées pour le sucre modèle. La principale différence réside dans la plus grande stabilité des complexes formés par le dimère avec le cadmium en raison de l'effet chélate.

Complexation du cadmium par le calixarène Calix-PT4

Calix-PT4 comporte quatre motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles potentiellement complexants. La formation de complexes avec plusieurs cations métalliques n'est donc pas à exclure. Les études de la complexation du cadmium dans le méthanol ont été menées par absorption et fluorescence stationnaires (*cf.* Figure 3-45). Deux régimes de complexation successifs ont ainsi été identifiés.

Dans un premier temps, pour des concentrations comprises entre zéro et un équivalent de métal, un point isosbestique à 272 nm et un point isoémissif à 414 nm traduisent la coexistence de deux espèces en proportions variables. Dans cette zone de concentration, les spectres d'absorption se déplacent vers les grandes longueurs d'onde (+ 4 nm) et une exaltation du coefficient d'absorption molaire au maximum d'absorption survient. Bien que plus faibles que ceux observés sur le sucre modèle, les effets de la complexation sur les spectres d'absorption sont similaires. En revanche, une inhibition de fluorescence à 330 nm est observée avec l'ajout de cadmium, et une bande centrée à 480 nm apparaît. Ce comportement diffère totalement de celui décrit pour le sucre modèle ou le dimère.

Le second régime intervient en présence d'un excès de cadmium et se caractérise par la disparition des points isosbestique et isoémissif. Ainsi, les spectres d'absorption sont encore davantage déplacés vers le rouge et le coefficient d'absorption molaire continue d'augmenter. A l'issue de ce second régime, les variations enregistrées en absorption sont comparables à celles observées pour le dimère PT-hex-PT. En émission, l'ajout de cadmium entraîne peu de modifications au niveau de la bande de fluorescence centrée à 330 nm, mais provoque une importante exaltation de celle à 480 nm. Une interprétation de cette bande sera donnée par la suite.

L'observation de ces deux régimes nous a donc conduit à envisager l'existence successive de deux complexes ML et M₂L de stoechiométries respectives 1:1 et 2:1. L'ajustement numérique des faisceaux de courbes en absorption et en fluorescence par le logiciel SPECFIT™ fournit les spectres d'absorption et de fluorescence respectifs de chaque espèce (Figure 3-45), ainsi que les valeurs des constantes de formation associées aux équilibres ci-dessous : $\log \beta_{11} = 6,0 \pm 0,15$ et $\log \beta_{21} = 8,7 \pm 0,15$.

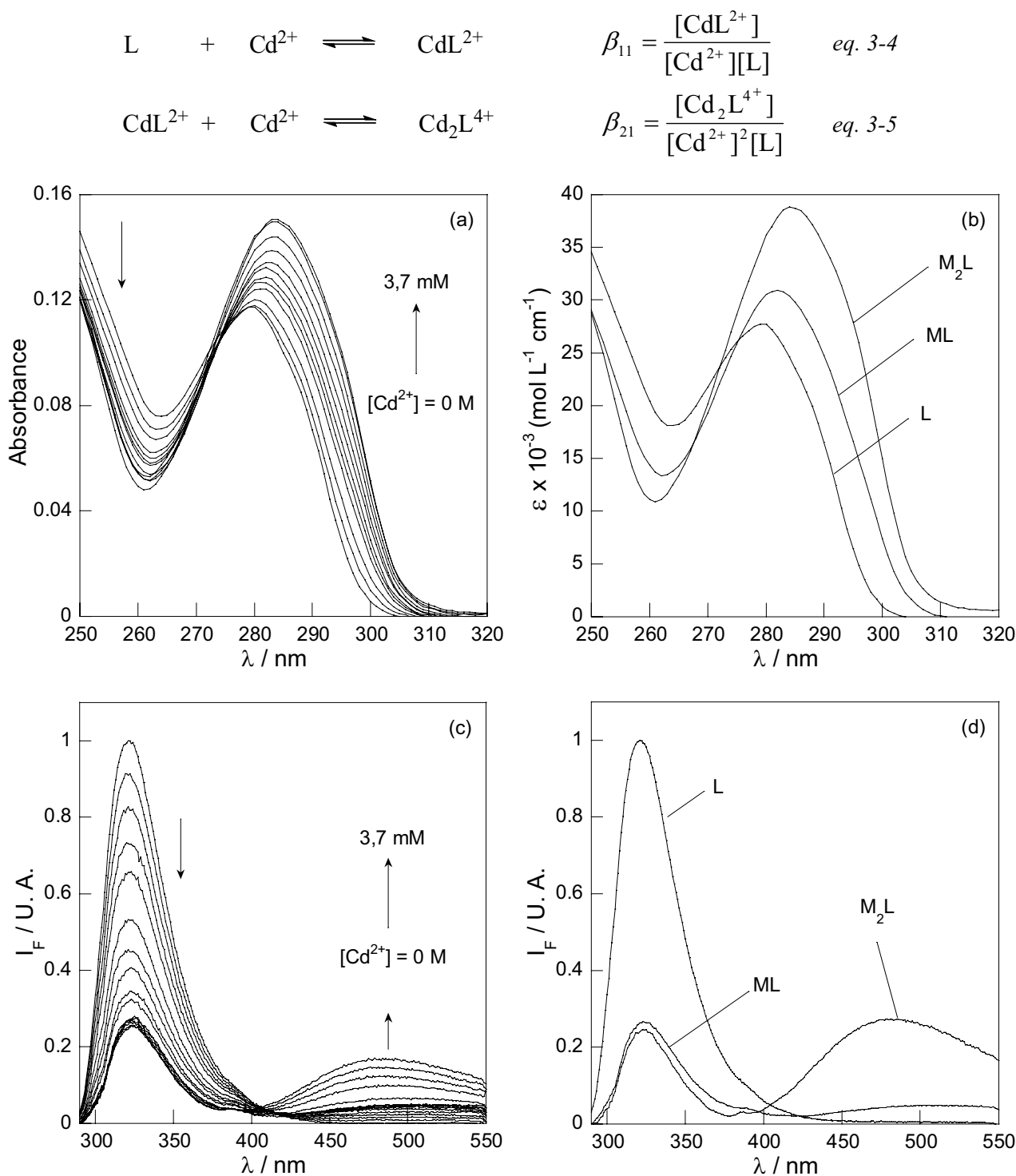


Figure 3-45. (a) Evolution des spectres d'absorption de Calix-PT4 avec l'ajout de cadmium dans le méthanol ($[L] = 4,2 \mu M$) ; (b) spectres d'absorption du ligand L et des complexes ML et M_2L reconstruits par le logiciel SPECFITTM ; (c) évolution des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance de Calix-PT4 avec l'ajout de cadmium dans le méthanol ($[L] = 4,2 \mu M$, $\lambda_{exc} = 280 \text{ nm}$) et (d) spectres d'émission du ligand L et des complexes ML et M_2L reconstruits par le logiciel SPECFITTM.

Ainsi, tandis que le complexe formé par le calixarène avec un seul cation est relativement stable, l'addition d'un second cation sur le squelette calixarène est beaucoup plus difficile, vraisemblablement en raison de la répulsion électrostatique entre les deux cations Cd^{2+} au sein du complexe M_2L (effet anti-copératif). La valeur calculée pour le rapport des constantes partielles de

formation des complexes ML et M₂L ($K_{21}/K_{11} = 5 \times 10^{-4}$) est en effet très inférieure à la valeur théorique de 0,25 lorsque les deux sites de complexation sont équivalents.⁷⁸

L'une des particularités de la complexation du cadmium par le composé Calix-PT4 est l'apparition d'une bande de fluorescence centrée à 480 nm, particulièrement intense dans le complexe de stoechiométrie 2:1. Les déclin de fluorescence de ce ligand en présence d'un excès de cadmium de sorte que l'espèce M₂L soit majoritaire (cf. Figure 3-46) ont alors été enregistrés à deux longueurs d'onde d'émission différentes (330 nm et 480 nm).

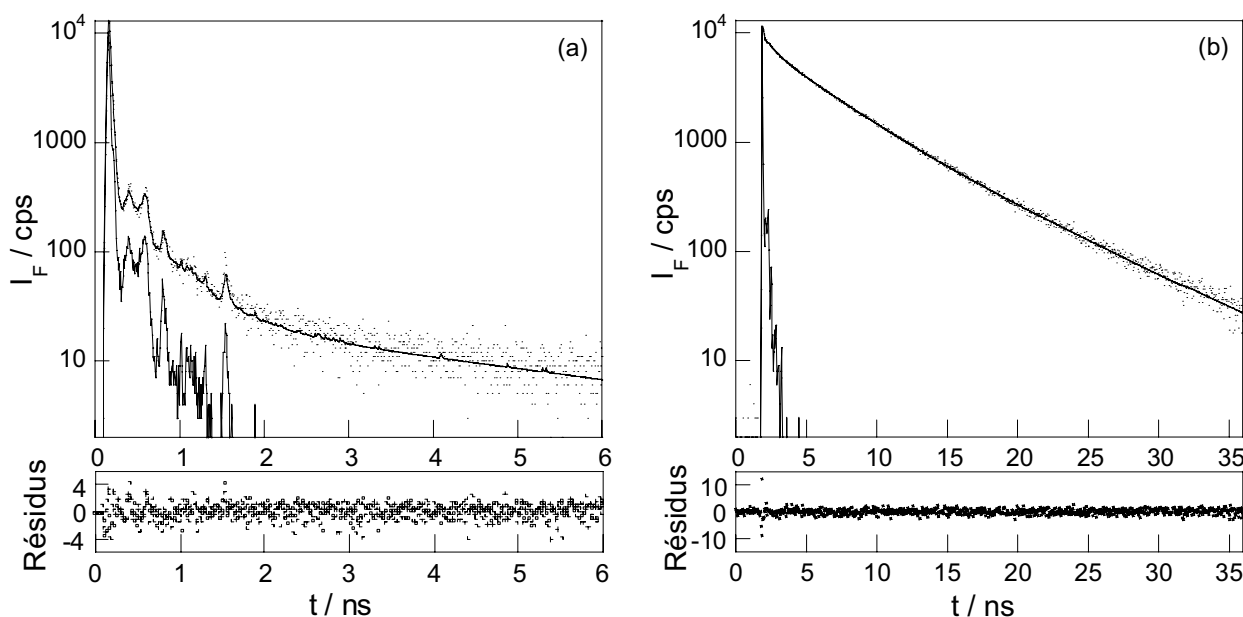


Figure 3-46. (a) Déclin de fluorescence à 330 nm ($7,32 \text{ ps.canal}^{-1}$) et (b) déclin de fluorescence à 480 nm (39 ps.canal^{-1}) de Calix-PT4 dans le méthanol en présence d'un large excès de cadmium (16 mM) ; $\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$; $[L] = 4,2 \mu\text{M}$.

L'analyse de ces déclin par une somme d'exponentielles discrète nécessite au moins trois exponentielles à 330 nm et quatre exponentielles à 480 nm. Les valeurs issues de l'ajustement numérique sont regroupées dans le Tableau 3-6.

	Conditions	τ_i (ns)	α_i	f_i	$\langle \tau_i \rangle$ (ns)	χ_R^2
Calix-PT4	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$	$0,033 \pm 0,002$	0,710	0,34	0,070	1,11
	$\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$	$0,116 \pm 0,005$	0,273	0,45		
	$14,6 \text{ ps.canal}^{-1}$	$0,54 \pm 0,06$	0,015	0,12		
		$4,4 \pm 1,3$	0,002	0,09		
2Cd²⁺ ⊂ Calix-PT4	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$	$0,012 \pm 0,001$	0,995	0,73	0,016	1,32
	$\lambda_{em} = 330 \text{ nm}$	$0,48 \pm 0,07$	0,004	0,13		
	$7,32 \text{ ps.canal}^{-1}$	$4,3 \pm 1,3$	0,001	0,14		
2Cd²⁺ ⊂ Calix-PT4	$\lambda_{exc} = 288 \text{ nm}$	$0,050 \pm 0,02$	0,42	0,01	2,65	1,22
	$\lambda_{em} = 480 \text{ nm}$	$0,64 \pm 0,12$	0,07	0,02		
	39 ps.canal^{-1}	$3,88 \pm 0,07$	0,34	0,49		
		$7,3 \pm 0,12$	0,17	0,48		

Tableau 3-6. Analyse des déclin de fluorescence du composé Calix-PT4 dans le méthanol en absence et en présence de cadmium ($[\text{Cd}^{2+}] = 16 \text{ mM}$; $[L] = 4,2 \mu\text{M}$).

L'analyse des différents déclins mesurés lorsque le complexe de cadmium M_2L est majoritaire ($[Cd^{2+}] = 16 \text{ mM}$) se révèle particulièrement complexe. D'un point de vue qualitatif, on peut tout de même noter l'apparition à 330 nm d'une composante extrêmement courte très majoritaire, ce qui est en accord avec l'inhibition de fluorescence observée à cette longueur d'onde. En revanche, une constante de temps beaucoup plus longue (7,3 ns) est présente dans le déclin enregistré à 480 nm. Ces observations sont caractéristiques de la formation d'excimères intramoléculaires entre les fluorophores du calixarène. L'absence de temps de montée à 480 nm indique que la formation de l'excimère est très rapide ($< 10 \text{ ps}$) et que les excimères sont déjà quasiment préformés.⁷⁷

En conclusion, l'ensemble des résultats obtenus par spectroscopies de fluorescence stationnaire et résolue en temps suggère que la complexation d'un cation Cd^{2+} s'effectue dans une conformation pour laquelle la formation d'un excimère est favorisée. La formation de ce dernier est très rapide compte tenu de la proximité des fluorophores. La fluorescence du monomère est alors inhibée tandis que l'émission de l'excimère se caractérise par une bande d'émission centrée à 480 nm. La complexation d'un second cation (qui intervient en présence d'un large excès de cadmium en raison des répulsions électrostatiques entre cations) favorise encore davantage la formation d'excimères, et provoque une exaltation de la fluorescence à 480 nm. Enfin, concernant les propriétés complexantes de ce calixarène pour le cadmium, la constante de formation du complexe de stoechiométrie 1:1 dans le méthanol ($\log \beta_{11} = 6,0$) est suffisamment élevée dans le méthanol pour envisager la détection de faibles concentrations en cadmium (inférieures au μM).

Complexation du cadmium par la cyclodextrine $\beta\text{CD-PT7}$

La β -cyclodextrine $\beta\text{CD-PT7}$ a été testée comme complexant potentiel du cadmium dans le méthanol. L'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence avec l'ajout de cadmium est représentée sur la Figure 3-47.

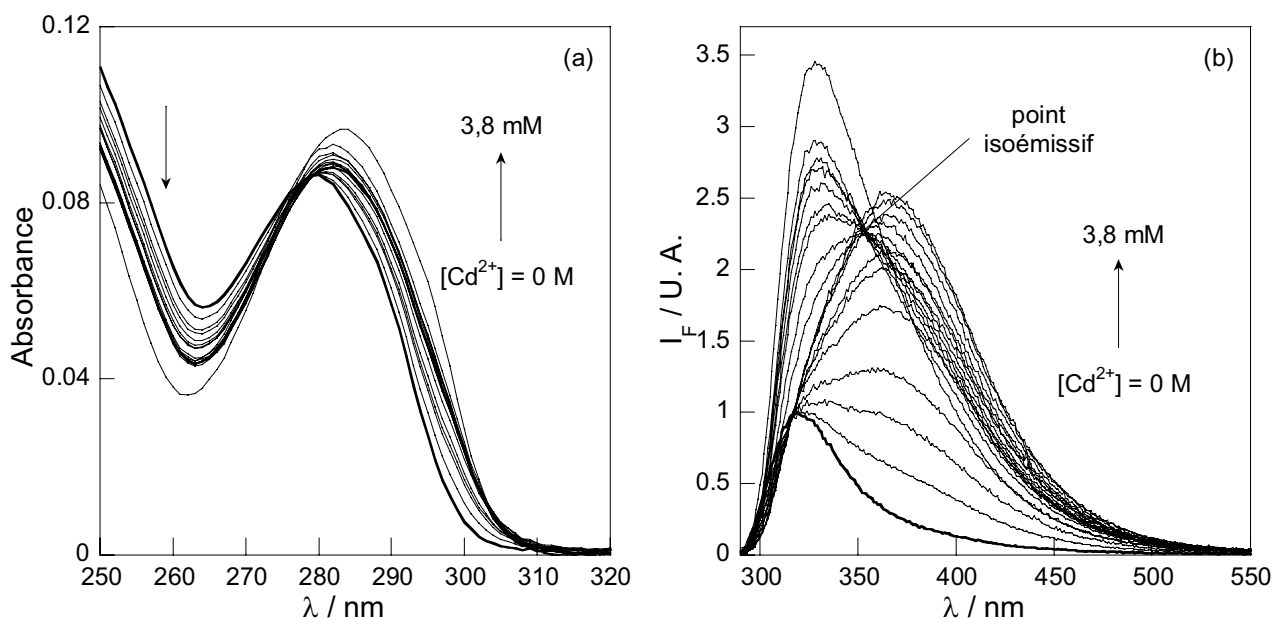


Figure 3-47. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) de fluorescence corrigés de l'absorbance du ligand $\beta\text{CD-PT7}$ dans le méthanol avec l'ajout de perchlorate de cadmium, $[L] = 1,8 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc} = 280 \text{ nm}$.

Les spectres d'absorption subissent un léger déplacement bathochrome vers le rouge du fait de la complexation par le cadmium. Cependant, les effets observés sont peu importants par rapport aux évolutions des spectres de fluorescence. En effet, l'ajout de cadmium à une solution de β CD-PT7 dans le méthanol entraîne dans un premier temps (entre zéro et un équivalent de cadmium) une importante exaltation de fluorescence et un fort déplacement spectral puisque le maximum de la bande d'émission passe de 319 nm à 365 nm. Ce maximum est atteint lorsque la concentration de cadmium atteint un équivalent. Par la suite, les spectres de fluorescence subissent un déplacement hypsochrome et un point isoémissif à 352 nm apparaît. Enfin, en présence d'un très large excès de cadmium, les spectres dévient de ce point isoémissif et présentent une bande de fluorescence centrée à 328 nm.

L'ajustement des faisceaux de courbes en émission est réalisé de manière satisfaisante en utilisant un modèle faisant intervenir trois complexes successifs ML, M_2L et M_3L . En effet, avec sept motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles, plusieurs cations sont susceptibles d'être complexés. Ainsi, les spectres de chacune des espèces sont représentés sur la Figure 3-48, ainsi que la spéciation de β CD-PT7 en fonction de la concentration totale en cadmium.

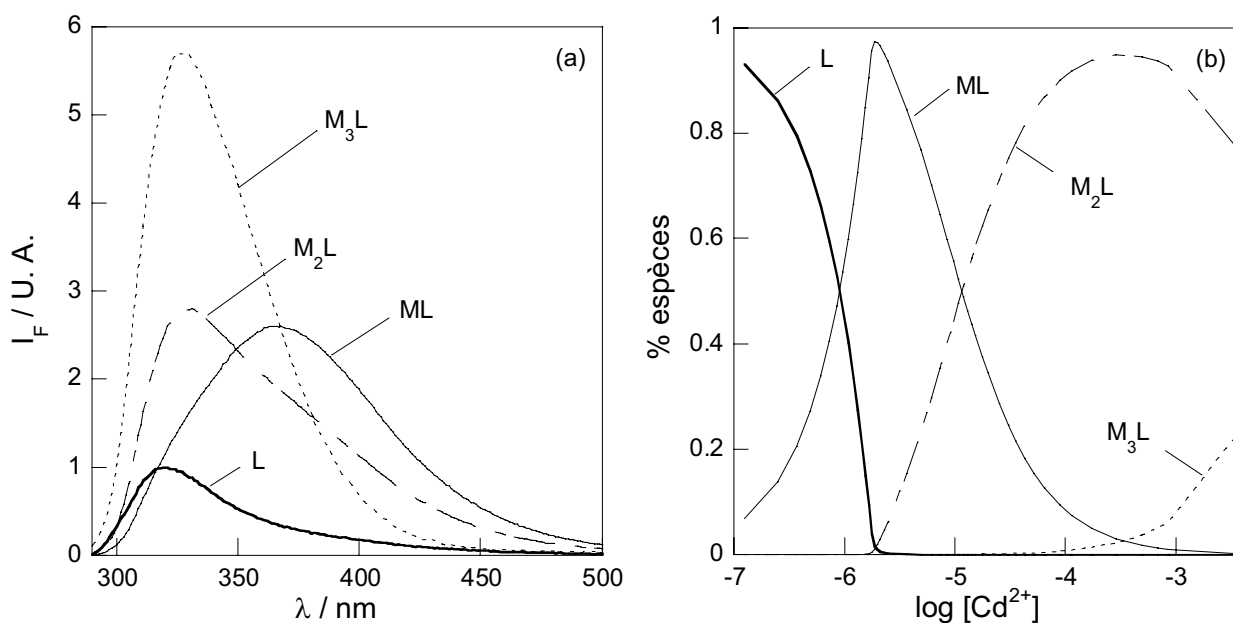


Figure 3-48. (a) Spectres de fluorescence des espèces L, ML, M_2L et M_3L reconstruits par le logiciel SPECFIT™ et (b) spéciation du ligand β CD-PT7 en fonction de la concentration totale en cadmium.

Les constantes globales de formation des complexes ML, M_2L et M_3L ont pu être déterminées : $\log \beta_{11} = 8,81 \pm 0,2$; $\log \beta_{21} = 13,9 \pm 0,3$; $\log \beta_{31} = 15,8 \pm 0,4$. En particulier, la constante de formation du complexe de stoechiométrie 1:1 dans le méthanol est très élevée. De plus, elle est associée à un important déplacement spectral en émission ce qui permet d'effectuer des mesures ratiométriques. En effet, la complexation d'un premier cation Cd^{2+} provoque un élargissement important du spectre d'émission du ligand. Concernant les complexes comportant plusieurs cations (M_2L et M_3L), les constantes globales de formation confirment que la complexation d'un second cation et *a fortiori* d'un troisième est plus difficile en raison des répulsions électrostatiques entre cations ($K_{21}/K_{11} \ll 0,25$). En revanche, en présence d'un large excès de cadmium, les déplacements spectraux vers les courtes longueurs d'onde (réapparition

d'une bande centrée à 330 nm) et l'exaltation de fluorescence rappellent le comportement du composé modèle et du dimère en présence de cadmium. Ainsi, à forte concentration en cation, les fluorophores greffés sur la cyclodextrine tendent à se comporter comme des ligands pris individuellement et l'interaction entre fluorophores paraît moins importante que pour le complexe ML. Sans doute la répulsion électrostatique entre les cations tend-elle à « individualiser » le comportement de chaque fluorophore. Des essais ont alors été réalisés en milieu organo-aqueux afin d'évaluer les propriétés complexantes de la cyclodextrine β CD-PT7 en présence d'eau. Malheureusement, ces expériences se sont révélées infructueuses en raison de la non-reproductibilité des mesures et à la probable formation d'agrégats.

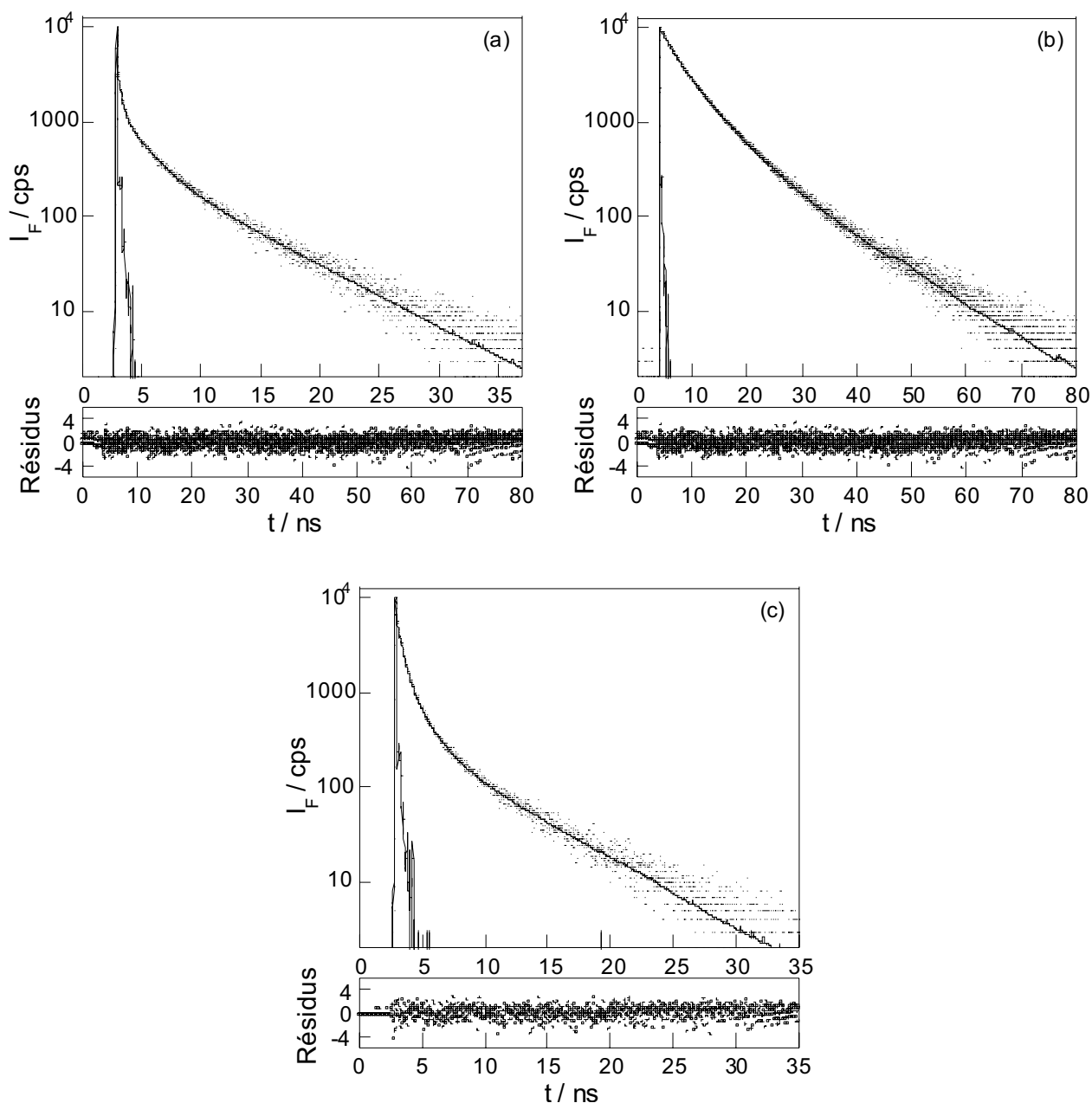


Figure 3-49. Déclins de fluorescence (a) à 330 nm et (b) à 400 nm du composé β CD-PT7 dans le méthanol avec un équivalent de cadmium ; (c) déclin de fluorescence à 330 nm du composé β CD-PT7 dans le méthanol en présence de $3,2 \times 10^{-4}$ M de cadmium ; $\lambda_{exc} = 288$ nm ; $[L] = 1,7 \mu\text{M}$; $24,4$ ps.canal⁻¹.

Les déclin de fluorescence du complexe ML et du complexe M₂L dans le méthanol ont été enregistrés à deux longueurs d'onde d'émission avec un équivalent de cadmium (330 nm et 400 nm) et à 330 nm dans un domaine de concentration où le complexe M₂L est majoritaire ($[Cd^{2+}] = 3,2 \times 10^{-4}$ M). Les résultats des ajustements numériques des déclin par une somme discrète d'exponentielles sont reportés dans le Tableau 3-7.

	Conditions	τ_i (ns)	α_i	f_i	$\langle \tau_i \rangle$ (ns)	χ_R^2
βCD-PT7	$\lambda_{exc} = 288$ nm	$0,034 \pm 0,004$	0,496	0,17	0,101	1,04
	$\lambda_{em} = 330$ nm	$0,134 \pm 0,005$	0,489	0,65		
	14,6 ps.canal ⁻¹	$0,66 \pm 0,12$	0,013	0,08		
		$6,0 \pm 1,2$	0,002	0,10		
$Cd^{2+} \subset \beta$CD-PT7	$\lambda_{exc} = 288$ nm	$0,034 \pm 0,005$	0,83	0,12	0,241	1,18
	$\lambda_{em} = 330$ nm	$0,27 \pm 0,04$	0,11	0,12		
	24,4 ps.canal ⁻¹	$1,92 \pm 0,12$	0,04	0,31		
		$6,6 \pm 0,3$	0,02	0,45		
$Cd^{2+} \subset \beta$CD-PT7	$\lambda_{exc} = 288$ nm	$0,037 \pm 0,010$	0,32	0,004	3,32	1,05
	$\lambda_{em} = 400$ nm	$1,51 \pm 0,17$	0,19	0,09		
	24,4 ps.canal ⁻¹	$5,1 \pm 0,1$	0,41	0,63		
		$11,7 \pm 0,3$	0,08	0,28		
2Cd²⁺ \subset βCD-PT7	$\lambda_{exc} = 288$ nm	$0,036 \pm 0,007$	0,68	0,08	0,32	1,04
	$\lambda_{em} = 330$ nm	$0,43 \pm 0,03$	0,22	0,30		
	24,4 ps.canal ⁻¹	$1,37 \pm 0,07$	0,08	0,33		
		$5,63 \pm 0,27$	0,02	0,29		

Tableau 3-7. Analyse des déclin de fluorescence du composé β CD-PT7 dans le méthanol en absence et en présence de cadmium.

Les déclin enregistrés à 330 nm et 400 nm en présence d'un équivalent de cadmium sont particulièrement complexes et l'interprétation précise des constantes de temps est difficile. Néanmoins, la présence d'une constante de temps très courte de l'ordre de 35 ps est commune aux deux déclin, cette composante étant majoritaire pour les courtes longueurs d'onde. A 400 nm, des composantes plus longues apparaissent. La formation d'excimères ne semble cependant pas à l'origine de ces constantes de temps dans la mesure où la longueur d'onde au maximum d'émission de l'excimère est de 480 nm (*cf.* déclin des complexes de Calix-PT4 avec le cadmium). De plus, aucune composante plus courte que 34 ps n'est observée, ce qui semble réfuter l'hypothèse de la formation d'une nouvelle espèce à l'état excité (excimère ou exciplexe). Enfin, en ce qui concerne le déclin à 330 nm pour une concentration de cadmium égale à $3,2 \times 10^{-4}$ M (complexe M₂L majoritaire), la composante ultracourte d'une trentaine de picoseconde est également majoritaire mais le poids des constantes de temps longues est plus important que pour le complexe ML à 330 nm.

Finalement, du point de vue de la photophysique des complexes formés (la présence de sept chromophores permet la chélation de plusieurs cations Cd²⁺), les nombreuses conformations possibles et les interactions entre fluorophores compliquent l'interprétation des mesures de déclin de fluorescence et l'analyse fine des phénomènes photophysiques induits par la complexation est difficilement envisageable.

IV.3.2. Sélectivité de la complexation du cadmium par β CD-PT7

La cyclodextrine β CD-PT7 est parmi les quatre composés étudiés celui pour lequel la constante de formation du complexe de stoechiométrie 1:1 est la plus élevée. De plus, la complexation se traduit par un important déplacement spectral vers le rouge. Aussi, des expériences de sélectivité ont été menées sur ce composé dans le méthanol.

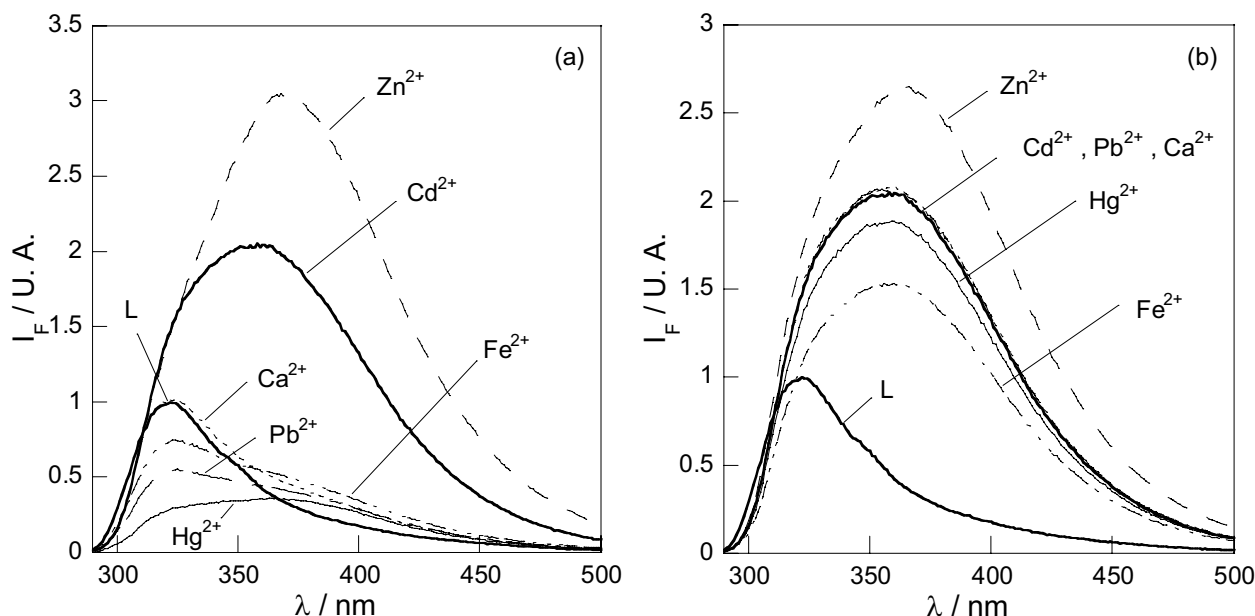


Figure 3-50. Spectres de fluorescence non corrigés de l'absorbance du ligand β CD-PT7 dans le méthanol (a) en présence d'un équivalent de métal et (b) en présence d'un équivalent de métal et d'un équivalent de cadmium ($[L] = 2,3 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 280 \text{ nm}$).

Afin d'évaluer l'influence de différents cations interférents divalents (pris sous leur forme perchlorate) sur les propriétés photophysiques de β CD-PT7, les spectres de fluorescence du ligand dans le méthanol en présence d'un équivalent de cation ont été enregistrés. L'ajout d'un équivalent de perchlorate de cadmium à ces solutions a également été réalisé. Les résultats présentés sur la Figure 3-50 montrent que la sélectivité pour le cadmium n'est pas très bonne. Ainsi, en absence de cadmium, tous les cations divalents testés hormis Ca^{2+} induisent d'importants effets sur le spectre d'émission du ligand. En plus d'un déplacement bathochrome, Hg^{2+} , Pb^{2+} et Fe^{2+} inhibent partiellement la fluorescence tandis que Cd^{2+} et Zn^{2+} provoquent une importante exaltation de celle-ci. Ceci montre que tous les cations (sauf Ca^{2+} pour lequel les effets sont limités) sont complexés au moins partiellement par la cyclodextrine, et ce même à une concentration égale à un équivalent. En ce qui concerne les spectres réalisés en présence du cation interférent et de cadmium, ils confirment la très faible interférence du calcium. Par ailleurs, ils montrent que la complexation du cadmium est plus efficace que celle du plomb, du mercure et dans une moindre mesure du fer. Le zinc est quant à lui un interférent important puisque l'ajout d'un équivalent de cadmium ne déplace pas totalement l'équilibre vers la formation du complexe de cadmium. Cependant, les complexes formés avec le cadmium sont plus stables puisque la valeur de β_{11} mesurée pour le zinc ($\log \beta_{11} = 7,9 \pm 0,3$)³² demeure inférieure à celle mesurée pour le cadmium dans le méthanol. L'affinité pour le cadmium est donc supérieure mais les effets photophysiques associés à la complexation du zinc sont plus importants en raison de sa densité de charge supérieure ($2,70 \text{ q \AA}^{-1}$ contre $2,11 \text{ q \AA}^{-1}$).

IV.3.3. Discussion et conclusion

Les propriétés photophysiques et complexantes vis-à-vis du cadmium de quatre ligands incorporant des motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles ont été étudiées et comparées dans le méthanol.

Concernant les propriétés photophysiques des ligands en l'absence de métal, le sucre modèle Gluco-PT et le dimère PT-hex-PT possèdent des propriétés quasiment identiques et il existe peu d'interactions entre les deux fluorophores du dimère, même à l'état excité. A l'inverse, ces interactions sont significatives pour les systèmes multichromophoriques Calix-PT4 et β CD-PT7 où les fluorophores sont très proches les uns des autres. L'hétérogénéité des microenvironnements de chaque fluorophore semble être à l'origine des différences observées en émission comparativement au composé modèle et au dimère.

Du point de vue des propriétés des complexes de cadmium, la constante de stabilité du complexe ML formé par le dimère avec le cadmium est plus élevée que celle mesurée pour le sucre modèle, du fait de l'effet chélate. Néanmoins, les effets photophysiques associés (déplacement bathochrome en absorption et exaltation de fluorescence) sont similaires pour les deux composés. Là encore, le calixarène et la cyclodextrine se comportent différemment. Ainsi, la formation d'excimères intramoléculaires a été mise en évidence pour le calixarène en présence du cation Cd^{2+} (et *a fortiori* en présence d'un excès de cation). Pour la cyclodextrine, la formation d'une espèce nouvelle à l'état excité ne semble pas avoir lieu. Par ailleurs, les constantes de stabilité des complexes ML formés par ces deux composés avec le cadmium dans le méthanol sont relativement élevées (respectivement de 10^6 et $10^{8,8}$). Cependant, si l'affinité de la cyclodextrine pour le cadmium est élevée dans le méthanol (alors que les cyclodextrines ne constituent pas des plateformes idéales pour la reconnaissance de cation), la sélectivité de β CD-PT7 pour Cd^{2+} reste très limitée comparativement aux autres cations divalents, et plus particulièrement vis-à-vis du zinc. Quant à une éventuelle application de la cyclodextrine β CD-PT7 en tant que senseur fluorescent sélectif du cadmium, le faible rendement quantique de fluorescence, la très faible longueur d'onde d'excitation et l'impossibilité de travailler en milieu aqueux sont également rédhibitoires. Néanmoins, compte tenu des résultats obtenus sur les dérivés calixarène Calix-PT4, la synthèse d'un calixarène comportant des motifs complexants analogues aux pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles mais excitables à plus haute longueur d'onde a été entreprise.

IV.4. Analogues des ligands de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole excitables à plus haute longueur d'onde

Les études précédentes ont montré que la pince pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole possède une très bonne affinité pour le cadmium dans le méthanol, notamment lorsque plusieurs motifs sont greffés sur une architecture supramoléculaire telle que les calix[4]arènes. Néanmoins, leur longueur d'onde d'excitation extrêmement basse et leur faible rendement quantique de fluorescence limitent le champ d'application de ces composés comme senseurs fluorescents de cations. Tout en conservant le site de complexation inchangé, de nouvelles structures incorporant des noyaux aromatiques quinoléines à la place des noyaux pyridines ont donc été synthétisées. L'augmentation de la conjugaison doit alors provoquer un déplacement des spectres vers les grandes longueurs d'onde. Les propriétés complexantes et photophysiques de ce type de ligand ont été étudiées.

IV.4.1. Synthèse de composés substitués par des quinoléines

La synthèse du composé modèle QT-MOD et du calixarène Calix-QT4 substitué par quatre motifs quinoléin-2-yl-1,2,3-triazoles ont été réalisées par réaction d'un composé azide (**35** ou Calix-N3) et d'une quinoléine fonctionnalisée en position 2 par un acétylénique vrai (**34**). Ce dernier est obtenu en deux étapes à partir de la 2-chloroquinoléine commerciale. Ainsi, le couplage de Sonogashira entre ce dérivé chloré et le triméthylsilylacétylène en présence de Pd(PPh₃)₄ et de CuI dans le DMF en milieu basique (NEt₃) conduit à la formation de l'acétylénique protégé par un groupement TMS **33** avec un rendement de 80 %.⁷⁹ La déprotection est réalisée en présence de K₂CO₃ dans un mélange méthanol/dichlorométhane avec un rendement de 58 %. Le β-bromophénétol est quant à lui transformé en son analogue azide en présence de NaN₃ dans le DMF à 80 °C de manière quantitative. La réaction de cycloaddition entre l'alcyne vrai **34** et le composé azide **34** dans des conditions classiques de catalyse par des sels de cuivre (CuSO₄, NaAsc, EtOH/H₂O) permet l'obtention du composé modèle QT-MOD avec un bon rendement de 88 %. Une réaction analogue entre le calixarène tétraazide Calix-N3 et l'alcyne **34** permet l'obtention du calixarène tétrasubstitué Calix-QT4 avec un rendement satisfaisant de 50 %.

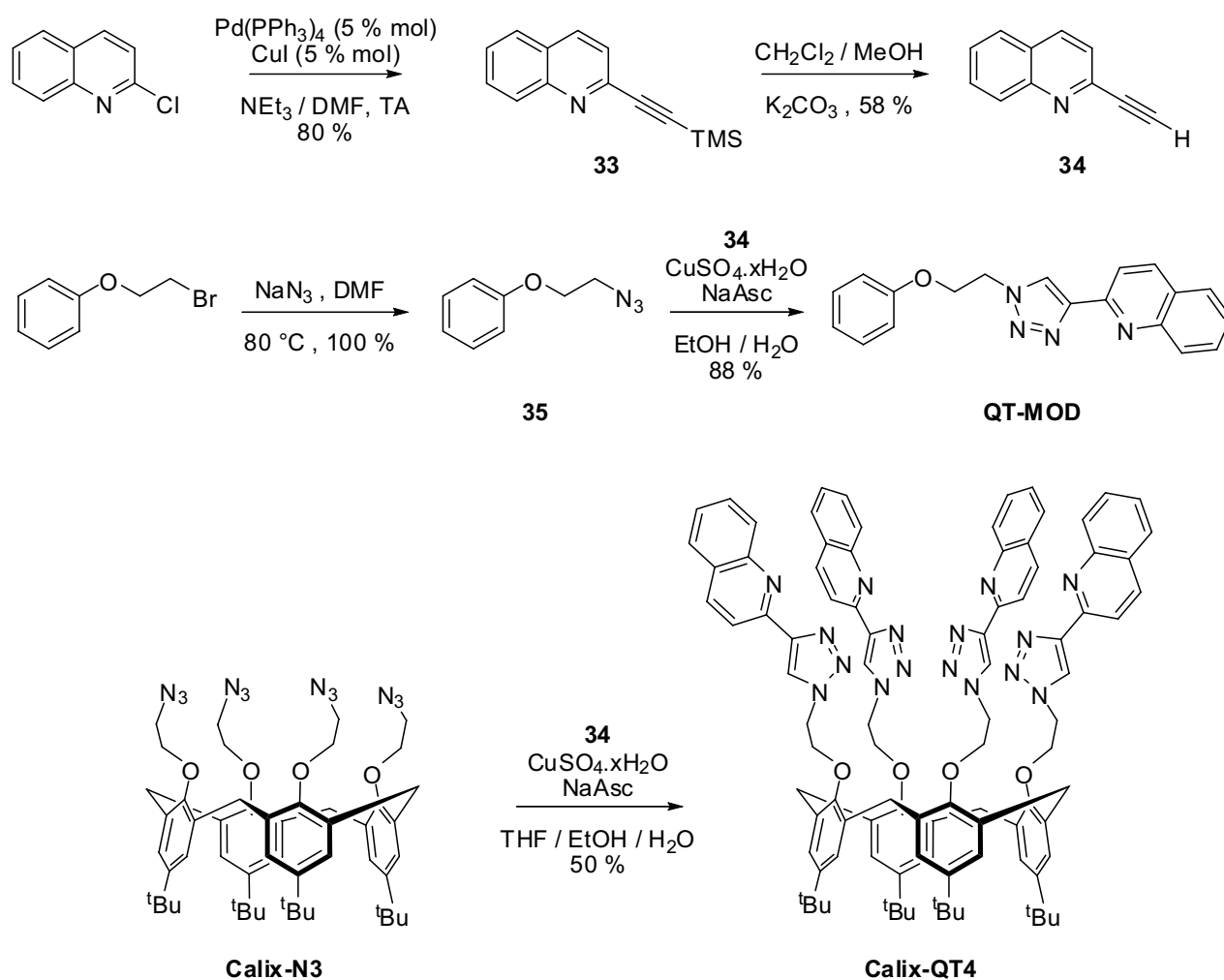


Figure 3-51. Synthèse du composé modèle QT-MOD et du calixarène Calix-QT4.

IV.4.2. Etude préliminaire du composé modèle

Les spectres d'absorption et de fluorescence du composé modèle QT-MOD ont été enregistrés dans le méthanol et sont présentés sur la Figure 3-52. Tout d'abord, il est intéressant de noter que l'augmentation de la conjugaison provoque fort logiquement un déplacement spectral des spectres d'absorption et de fluorescence vers les grandes longueurs d'onde. Ainsi, le composé QT-MOD est excitable jusqu'à 335 nm dans la queue de sa bande d'absorption. Par ailleurs, le très faible déplacement de Stokes (4 nm) et les structures vibrationnelles des spectres d'émission et d'absorption semblent indiquer que le transfert de charge du triazole donneur vers la quinoléine acceptrice est peu efficace. Le rendement quantique de fluorescence dans le méthanol demeure peu élevé ($\Phi_F = 0,015$) et est comparable à celui du composé pyridine modèle Gluco-PT.

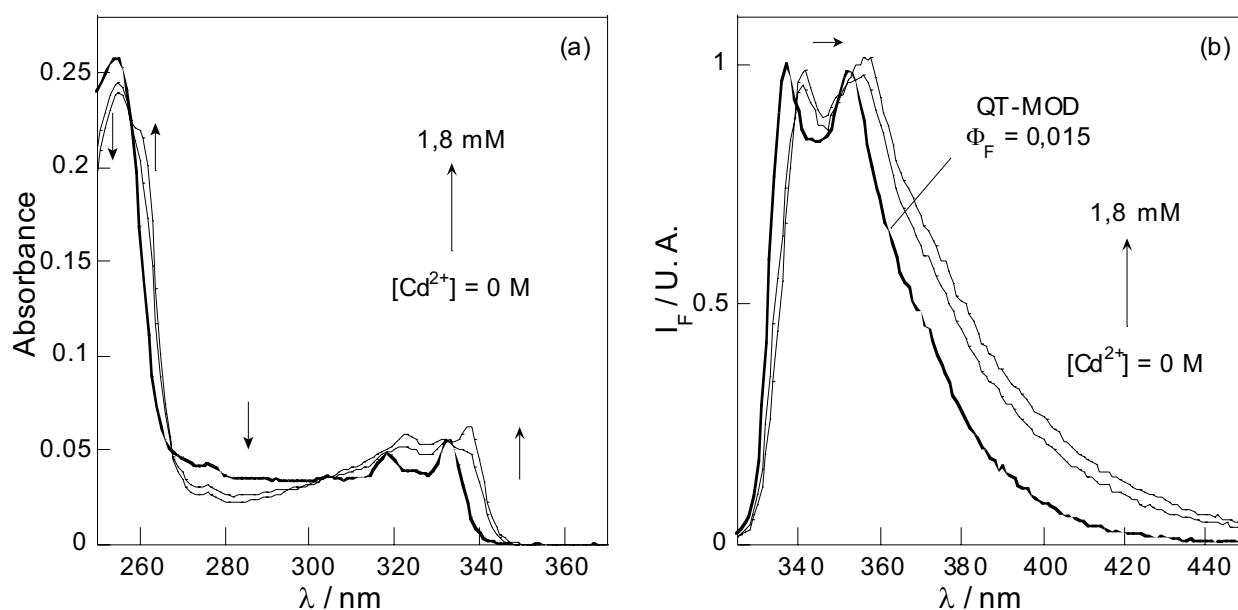


Figure 3-52. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance du composé MOD-QT dans le méthanol avec l'ajout de perchlorate de cadmium ($[L] = 6,6 \mu M$; $\lambda_{exc} = 320$ nm).

Concernant les propriétés complexantes de ce composé dans le méthanol, les premiers essais réalisés montrent que la complexation du cadmium dans le méthanol s'accompagne d'un déplacement bathochrome des spectres d'absorption et d'émission du ligand QT-MOD. Une légère exaltation du coefficient d'absorption molaire et du rendement quantique de fluorescence, ainsi qu'un élargissement du spectre d'émission sont également observés. Par ailleurs, plusieurs points isobestiques apparaissent à 258 nm, 268 nm et 305 nm tandis que les spectres de fluorescence font apparaître des points isoémisifs à 339 nm, 350 nm et 353 nm (mais de manière moins nette). Seules deux espèces semblent donc coexister en proportions variables et la formation d'un complexe de stoechiométrie 1:1 est vraisemblable compte tenu des résultats précédemment obtenus avec Gluco-PT. Dans ce complexe, le cation en interaction avec l'azote de la quinoléine appauvrit cette dernière en électrons et renforce le transfert de charge photoinduit entre le triazole et la quinoléine. Il en résulte un déplacement vers le rouge des spectres d'absorption et d'émission. Si la détermination des constantes de stabilité n'a pas été réalisée, le fait de devoir ajouter un large excès

de cadmium (de l'ordre du mM) pour observer des effets photophysiques significatifs indique que ces constantes sont faibles. En raison de l'effet chélate, des constantes de formation beaucoup plus élevées sont attendues pour le calixarène Calix-QT4 fonctionnalisé par des quinoléines, et des études plus poussées ont été réalisées sur ce composé.

IV.4.3. Propriétés complexantes de Calix-QT4 avec le cadmium

Les propriétés complexantes du nouveau calixarène Calix-QT4 ont été étudiées dans un premier temps dans le méthanol afin de pouvoir comparer les effets photophysiques induits par la complexation du cadmium avec ceux observés pour les ligands de type pyridin-2-yl-1,2,3-triazole. Les spectres d'absorption et de fluorescence stationnaires pour quelques concentrations en cadmium sont représentés sur la Figure 3-53.

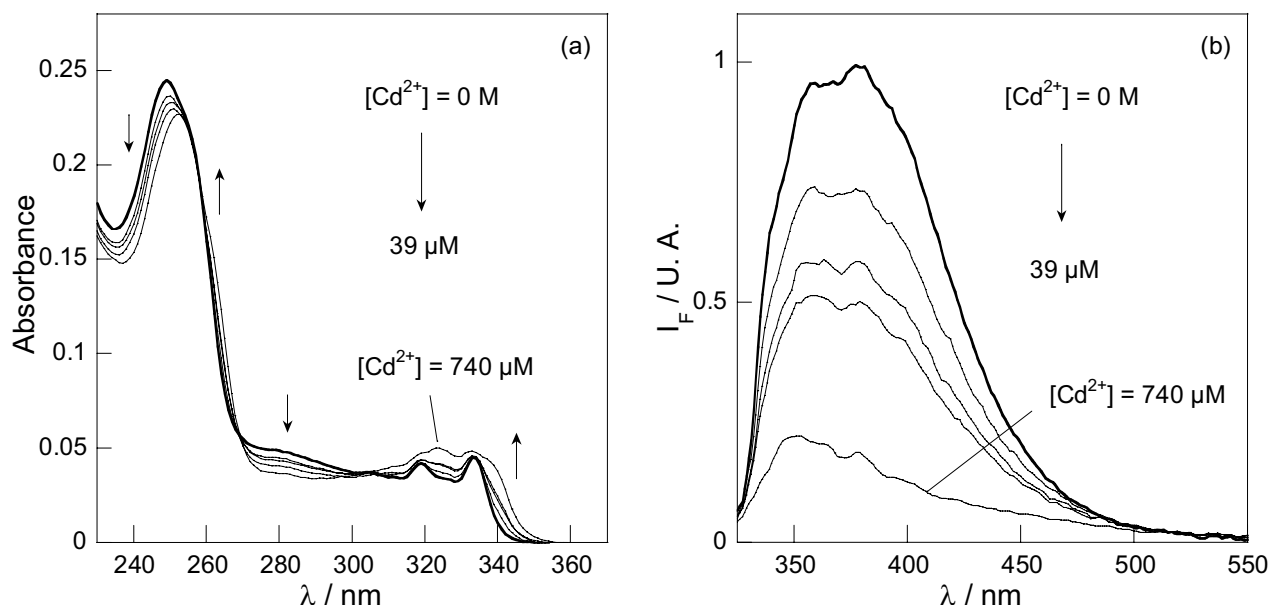


Figure 3-53. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance de Calix-QT4 avec quelques ajouts de cadmium dans le méthanol ($[L] = 1,6 \mu\text{M}$; $\lambda_{exc} = 320 \text{ nm}$).

Le spectre d'absorption dont le maximum se situe à 333 nm et le spectre d'émission dont la première bande présente un maximum à 358 nm possèdent une structure pseudo-vibrationnelle moins marquée que pour le composé modèle QT-MOD. Le déplacement de Stokes est plus important (25 nm) et le rendement quantique de fluorescence de Calix-QT4 est de 0,016. Un net élargissement de la bande d'émission est également perceptible. Ceci indique que les fluorophores interagissent les uns avec les autres à l'état excité, à l'instar de ce qui a été observé pour Calix-PT4.

Pour ce qui est des propriétés complexantes dans le méthanol, les essais préliminaires montrent que l'ajout de cadmium entraîne une diminution du rendement quantique de fluorescence ainsi qu'un léger déplacement bathochrome des spectres d'absorption. Néanmoins, contrairement à Calix-PT4, un large excès de cation est nécessaire à complexer totalement le ligand. Les effets photophysiques associés à la complexation sont donc similaires à ceux observés pour le dérivé pyridine mais la complexation semble moins efficace pour le dérivé quinoléine ($\beta_{11} \sim 10^{4,5}$ environ).

Des études ont alors été réalisées dans l'acétonitrile afin d'évaluer l'influence du solvant sur les propriétés complexantes de Calix-QT4. L'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence de ce ligand avec l'ajout de perchlorate de cadmium est représentée sur la Figure 3-54.

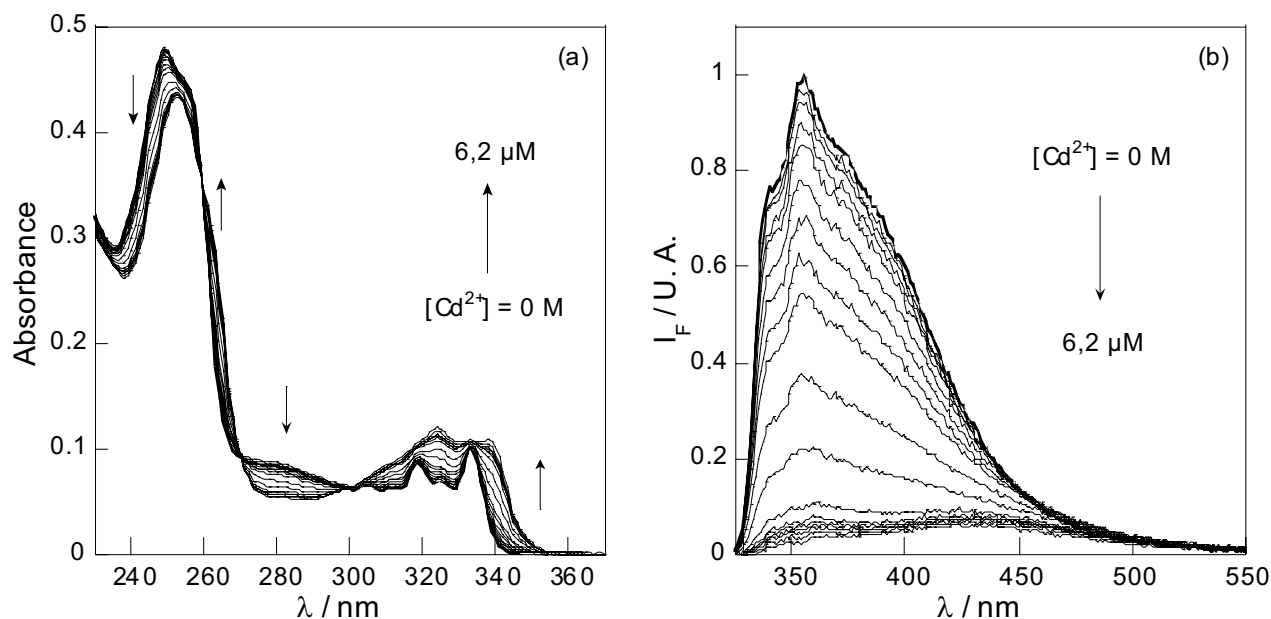


Figure 3-54. Evolution (a) des spectres d'absorption et (b) des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance de Calix-QT4 avec l'ajout de cadmium dans l'acétonitrile ($[L] = 3,2 \mu\text{M}$; $\lambda_{exc} = 320 \text{ nm}$).

A l'instar de ce qui a été observé dans le méthanol, la complexation du cadmium provoque un déplacement bathochrome en absorption et une importante diminution du rendement quantique de fluorescence. Par contre, cette diminution s'accompagne d'un déplacement bathochrome des spectres d'émission puisque le maximum de la bande d'émission passe de 355 nm à 435 nm. Bien que des points isobestiques apparaissent à 259 nm, 270 nm et 300 nm, les faisceaux de courbes traités par le logiciel SPECFIT™ fournissent un ajustement numérique optimal lorsqu'un modèle faisant intervenir deux complexes ML et M_3L_2 est utilisé. Dans ces conditions, les constantes globales de formation des complexes ont pu être mesurées par absorption et par fluorescence et valent : $\log \beta_{11} = 7,5 \pm 0,35$ et $\log \beta_{32} = 28,1 \pm 1,1$. Les spectres d'absorption et d'émission des différentes espèces, l'ajustement numérique et la répartition des différentes espèces sont représentés sur la Figure 3-55. Si l'existence d'un complexe M_3L_2 peut paraître surprenante compte tenu de la topologie du ligand, de telles stoechiométries ont déjà été observées pour des complexes de cadmium formés dans l'acétonitrile avec des calixarènes fonctionnalisés par quatre groupements de type méthoxyquinoléine.⁸⁰ Par ailleurs, les constantes de stabilité des complexes formés dans l'acétonitrile sont élevées et bien plus grandes que dans le méthanol. L'utilisation d'un solvant protique semble donc diminuer fortement l'affinité du composé Calix-QT4 pour le cadmium. Les essais réalisés par la suite en milieu mixte eau/acétonitrile 1:1 tamponné à $\text{pH} = 7$ par un tampon lutidine ont confirmé cette observation puisque dans un tel milieu, un large excès de métal (plus de 15 équivalents) n'induit aucune modification spectrale, ni en absorption, ni en émission.

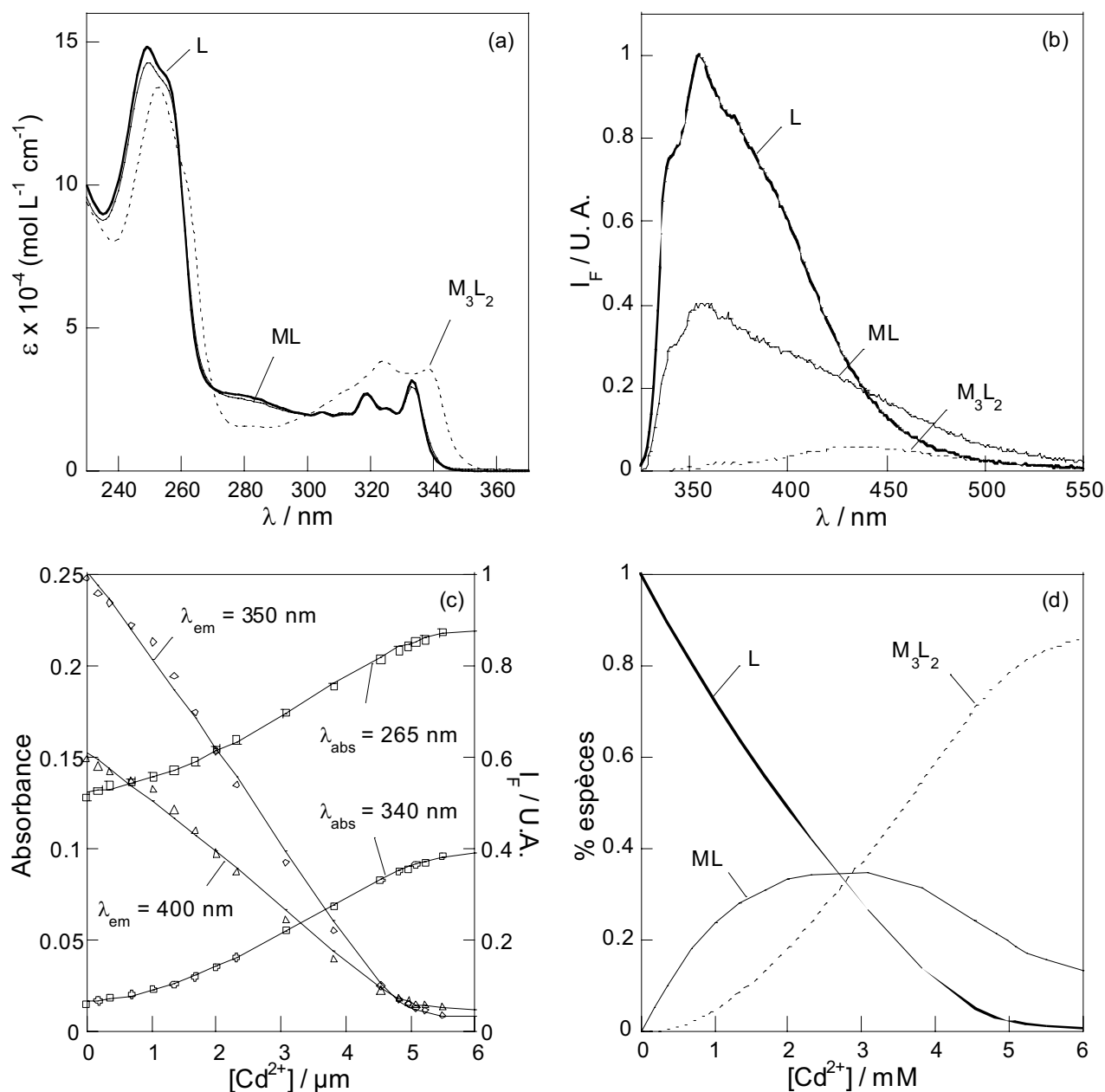


Figure 3-55. (a) Spectres d'absorption et (b) spectres de fluorescence du ligand Calix-QT4 et des complexes ML et M_3L_2 reconstruits par le logiciel SPECFITTM; (c) ajustements numériques en absorption et en émission et (d) répartition des espèces en fonction de la concentration en cadmium ($[L] = 3,2 \mu\text{M}$).

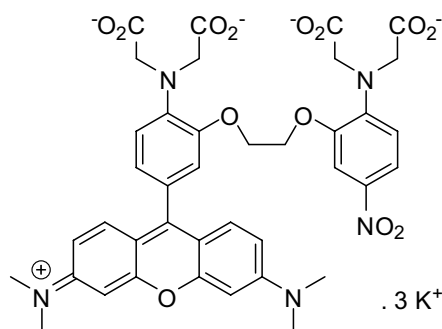
IV.4.4. Conclusion sur les composés de type quinoléine

En conclusion, un composé modèle QT-MOD et un calixarène tétrasubstitué Calix-QT4 excitables à plus haute longueur d'onde que les dérivés de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole ont été synthétisés. Pour ces composés, une longueur d'onde d'excitation de 335 nm peut être utilisée. En ce qui concerne leurs propriétés photophysiques, leur rendement quantique de fluorescence demeure faible et le transfert de charge photoinduit du triazole vers la quinoléine semble peu efficace. A noter l'existence d'importantes interactions entre fluorophores pour le calixarène. Concernant les propriétés complexantes de Calix-QT4 vis-à-vis du cadmium, elles sont bonnes en solvant non protiques ($\log \beta_{11} = 7,5$ dans l'acétonitrile) mais mauvaises en milieu protique, en particulier dans le

méthanol. L'utilisation du composé Calix-QT4 comme senseur de cadmium n'est donc *a priori* pas envisageable en milieu aqueux ou organo-aqueux.

V. Etude d'une sonde commerciale : le Rhod-5N

Le Rhod-5N est un composé commercialisé sous forme de sel de potassium par la société Invitrogen comme sonde de calcium de faible affinité pour la mesure de concentrations en calcium comprises entre 0,1 et 1 mM.⁴⁰ A l'instar de nombreux senseurs fluorescents de calcium, elle comporte une pince complexante de type BAPTA mais possède un groupement nitro en position 5 susceptible de lui conférer une meilleure affinité pour les métaux lourds tels que le cadmium. En ce qui concerne le fluorophore utilisé, il s'agit d'une rhodamine pouvant être excitée dans le visible.



Rhod-5N.3 K⁺

L'objectif est donc d'étudier les propriétés complexantes du Rhod-5N avec différents cations et plus particulièrement avec le cadmium. Réalisées en collaboration avec Mathieu Soibinet (ATER au CNAM), les études en absorption, en fluorescence stationnaire et résolue en temps présentées par la suite ont été réalisées dans un milieu tamponné MOPS^a (10 mM) équilibré à pH = 7 par KOH. La potasse est choisie pour équilibrer le pH du milieu car des études préliminaires ont montré qu'à la concentration à laquelle le cation K⁺ est contenu dans le tampon, ce dernier n'engendre pas de modifications des propriétés photophysiques du ligand.

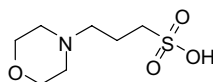
V.1. Etude par spectroscopies stationnaires

V.1.1. Etude du ligand Rhod-5N en absence de cations

Le spectre d'absorption du ligand Rhod-5N dans un milieu tamponné à pH = 7 par un tampon MOPS-KOH 10 mM présente une bande centrée à 550 nm caractéristique des chromophores de type rhodamine. En émission, le déplacement de Stokes est relativement faible puisque le maximum de la bande de fluorescence du ligand se situe à 576 nm (*cf.* Figure 3-56).

En ce qui concerne le rendement quantique de fluorescence du ligand, celui-ci est particulièrement faible en absence de cations autres que ceux contenus dans le tampon MOPS. En effet, il se produit à l'état excité un transfert d'électron photoinduit des atomes d'azote de la pince BAPTA vers le fluorophore rhodamine excité, provoquant ainsi une inhibition de la fluorescence. Il est d'ailleurs intéressant de noter que le rendement quantique de fluorescence varie d'une solution à l'autre en raison du calcium résiduel adsorbé sur les parois des cuves et relargué dans la solution.

^a MOPS = acide 3-morpholinopropanesulfonique



Dès lors, le rendement quantique de fluorescence du Rhod-5N partiellement lié par les cations présents dans le tampon MOPS est de l'ordre de $0,015 \pm 10 \%$. Une mesure a été effectuée en présence de 50 équivalents d'EDTA afin de déterminer le rendement quantique de fluorescence du Rhod-5N non lié. Une valeur de 0,002 a finalement été trouvée après avoir vérifié sur un composé analogue dépourvu de pince complexante (la Rhodamine B) que l'ajout d'EDTA n'entraînait pas d'inhibition de fluorescence.

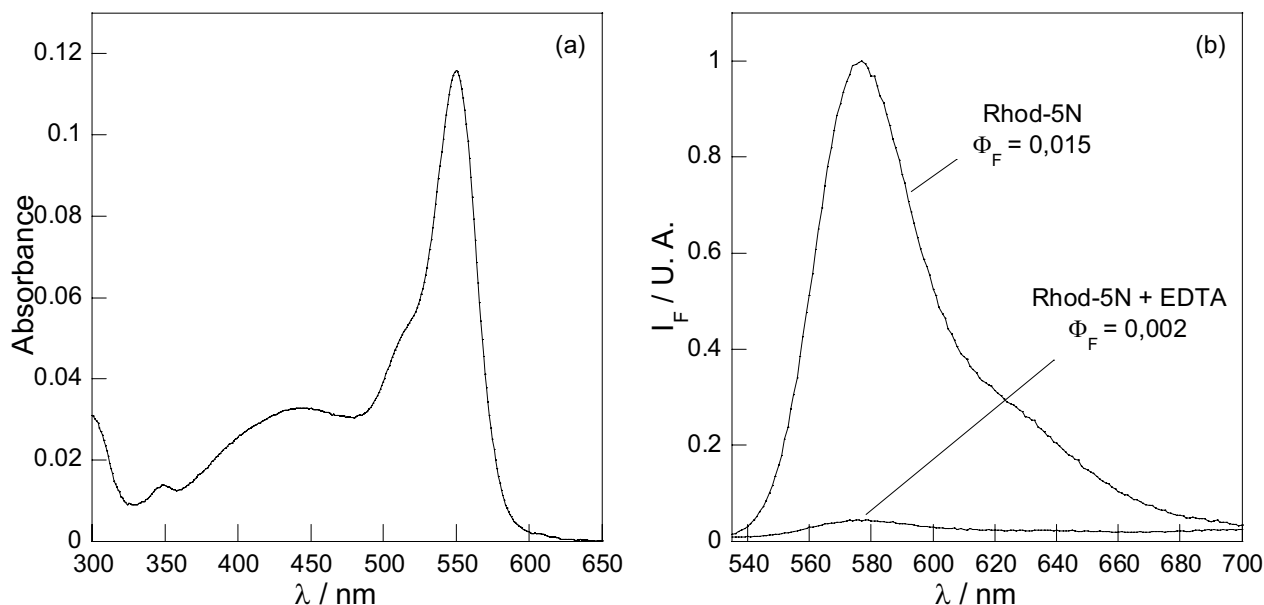


Figure 3-56. (a) Spectre d'absorption et (b) spectres de fluorescence du Rhod-5N dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à pH = 7 en absence d'EDTA et en présence de 50 équivalents d'EDTA ($[L] = 1,9 \mu\text{M}$; $\lambda_{exc} = 551 \text{ nm}$).

V.1.2. Complexation du cadmium par le ligand Rhod-5N

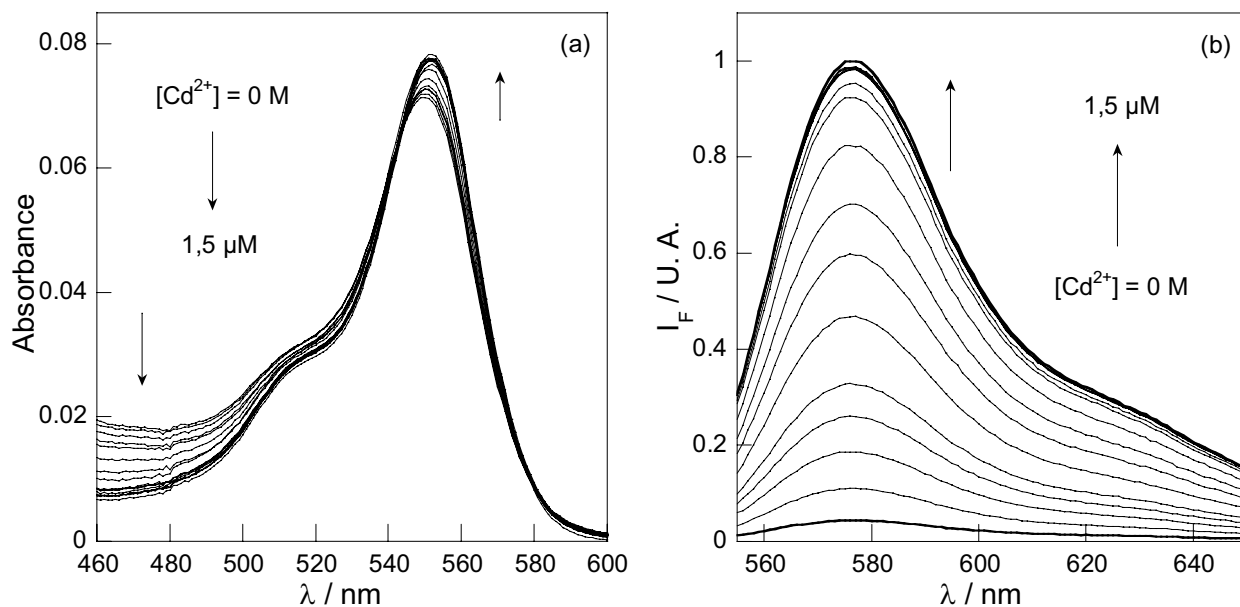


Figure 3-57. Evolution (a) des spectres d'absorption ($[L] = 1,2 \mu\text{M}$) et (b) des spectres de fluorescence corrigés de l'absorbance ($[L] = 0,9 \mu\text{M}$) du Rhod-5N dans un tampon MOPS-KOH pH = 7 avec l'ajout de quantités croissantes de perchlorate de cadmium; $\lambda_{exc} = 551 \text{ nm}$.

La complexation du cadmium par le Rhod-5N a été étudiée par absorption et fluorescence stationnaire.

L'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence du ligand Rhod-5N avec l'ajout de perchlorate de cadmium est représentée sur la Figure 3-57. L'ajout de métal entraîne un léger déplacement bathochrome des spectres d'absorption (+ 4 nm) mais surtout une importante exaltation de la fluorescence. Ainsi, le rendement quantique de fluorescence est exalté d'un facteur supérieur à 20 en présence d'un excès de métal. En effet, la complexation du cation au sein de la pince BAPTA inhibe le transfert d'électron photoinduit entre les atomes d'azote et le fluorophore rhodamine et provoque une importante exaltation de la fluorescence.

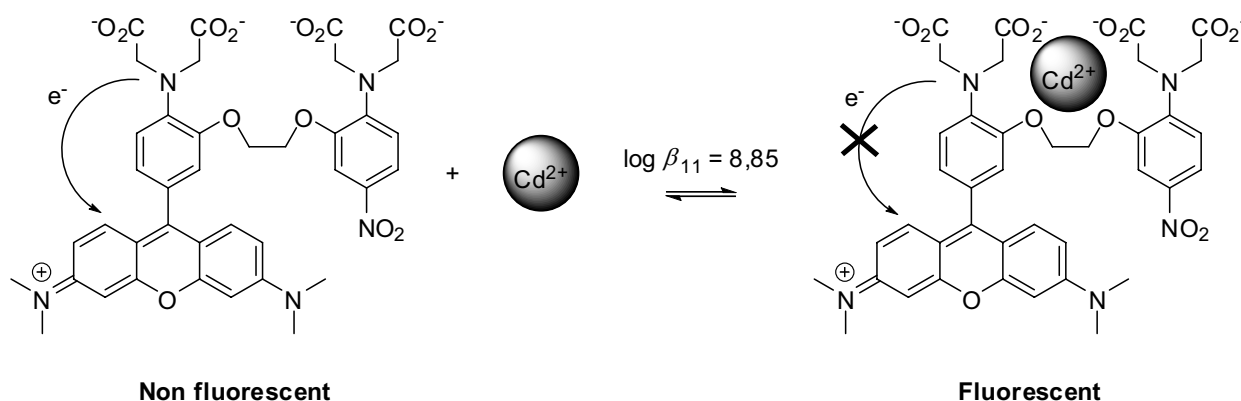


Figure 3-58. Complexation du cadmium par le Rhod-5N.

L'ajustement numérique des spectres d'émission par le logiciel SPECFIT™ en utilisant un modèle faisant intervenir un unique complexe de stoechiométrie 1:1 permet d'obtenir la valeur de la constante apparente de complexation : $\log \beta_{11} = 8,85 \pm 0,05$. D'autre part, le spectre de fluorescence du complexe de cadmium a pu être déterminé et le rendement quantique de fluorescence de ce complexe est de 0,35 (cf. Figure 3-59).

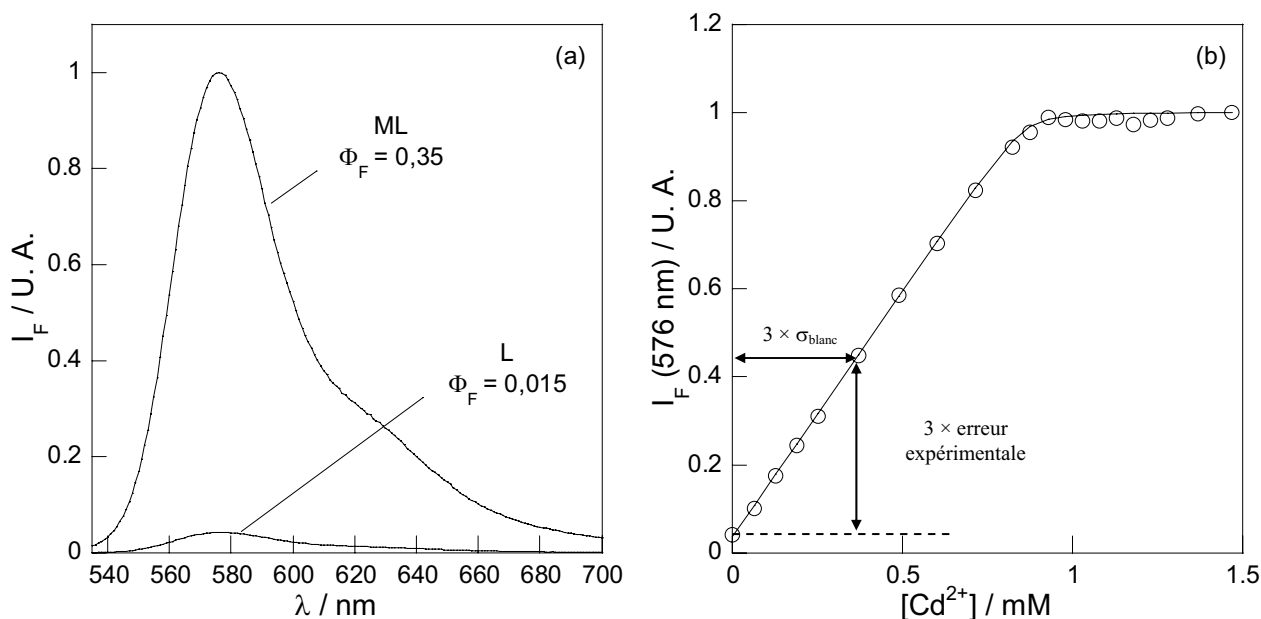


Figure 3-59. (a) Spectres de fluorescence du Rhod-5N et du complexe ML formé avec le cadmium et (b) courbe de calibration à 576 nm ($[L] = 0,9 \mu\text{M}$; $\lambda_{\text{ex}} = 551 \text{ nm}$) dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à pH = 7.

L'importante exaltation de fluorescence ainsi que la forte valeur de la constante de stabilité du complexe de cadmium permettent d'envisager l'utilisation de ce composé pour la détection de traces de cadmium. La courbe de calibration présentée ci-dessus (linéaire entre 0 et 0,8 μM en cadmium) permet la détermination de limites de détection et de quantification pour la détection du cadmium dans ce milieu. Celles-ci sont définies respectivement comme 3 et 5 fois la valeur de l'écart type mesuré pour l'intensité de fluorescence à 576 nm d'une cuve contenant le ligand Rhod-5N dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à $\text{pH} = 7$. L'écart type sur cette mesure est de 12 % principalement en raison des ions résiduels susceptibles d'être complexés par le Rhod-5N. En terme de concentration, cet écart type équivaut à 9,3 nM en cadmium. Une limite de détection égale à 28 nM ($3,1 \mu\text{g L}^{-1}$) et une limite de quantification de 47 nM ($5,2 \mu\text{g L}^{-1}$) ont alors été mesurées. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que les recommandations fixées par l'OMS pour les eaux de consommation ($3 \mu\text{g L}^{-1}$).⁸¹

V.1.3. Etude de la sélectivité du ligand Rhod-5N

La sélectivité du Rhod-5N a ensuite été testée par rapport aux cations suivants : Cd^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ et K^+ . Les cations alcalins Na^+ et K^+ n'ont pas montré d'interférences significatives pour des concentrations de l'ordre du mM. En revanche, les différents cations divalents testés sont complexés par le Rhod-5N et induisent des modifications des propriétés photophysiques du ligand.

Les dosages avec les différents cations mentionnés ci-dessus ont donc été réalisés. A l'instar des effets observés avec le cadmium, l'ajout de cation entraîne un léger déplacement bathochrome de la bande d'absorption située à 550 nm et une exaltation de fluorescence. Cette exaltation dépend du cation considéré : le rendement quantique de fluorescence du complexe de calcium est de 0,3 ; celui du complexe de plomb 0,13 et celui du complexe de zinc 0,06 alors que celui du complexe de cadmium est de 0,35. Plus la densité de charge du cation complexé est grande, plus l'exaltation de fluorescence est importante, sauf pour le zinc qui, bien que possédant la densité de charge la plus élevée, entraîne une exaltation modérée.

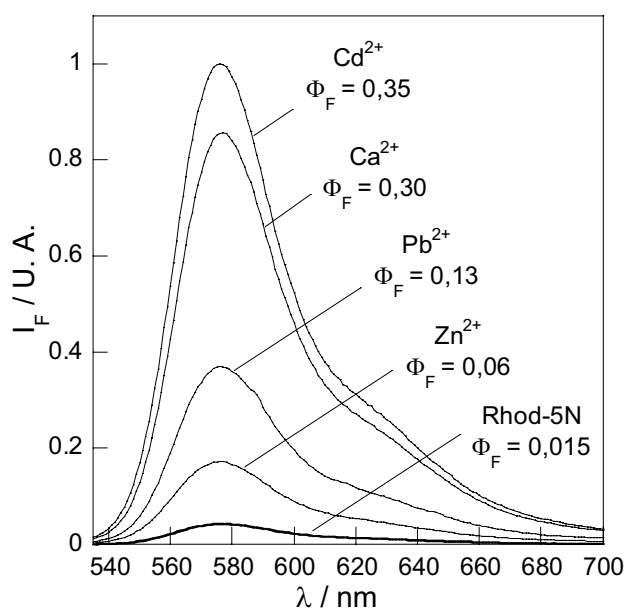


Figure 3-60. Spectres de fluorescence des complexes formés par le Rhod-5N avec différents cations dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à $\text{pH} = 7$.

Cation	$\log \beta_{11}$	$K(\text{Cd}^{2+}) / K(\text{M}^{n+})$	Φ_F *	Densité de charge ($q \text{ \AA}^{-1}$)
-	-	-	0,015	-
Ca^{2+}	$4,20 \pm 0,02$	$4,5 \times 10^4$	0,30	2,0
Zn^{2+}	$5,55 \pm 0,01$	$2,0 \times 10^3$	0,06	2,7
Pb^{2+}	$7,95 \pm 0,06$	8	0,13	1,7
Cd^{2+}	$8,85 \pm 0,05$	-	0,35	2,1

* déterminé à $\pm 10 \%$

Tableau 3-8. Constantes de stabilité et rendements quantiques de fluorescence des complexes formés par le Rhod-5N avec différents cations dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à pH = 7.

Les faisceaux de spectres de fluorescence obtenus avec ces cations ont pu être analysés avec le logiciel SPECFIT™ en utilisant un modèle faisant intervenir un unique complexe ML. Les constantes de stabilité des complexes formés ainsi que les spectres de fluorescence de ces complexes ont pu être calculés. L'ensemble de ces résultats est résumé sur la Figure 3-60 et dans le Tableau 3-8.

La sélectivité $\text{Cd}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ est très intéressante dans la mesure où le rapport des constantes de stabilité des deux complexes est supérieur à 1000. La constante de stabilité mesurée pour le complexe de calcium ($\log \beta_{11} = 4,20 \pm 0,02$) est encore plus faible que celle mesurée pour le zinc. Elle est néanmoins légèrement supérieure à celle annoncée par Invitrogen à pH = 7,2 en présence de 0,1 M de KCl ($\log \beta_{11} = 3,5$) et celle mesurée par Ribou *et al.* ($\log \beta_{11} = 3,85$).⁸² Si la sélectivité par rapport au zinc et au calcium est bonne, il n'en est pas de même pour le plomb puisque le rapport entre les deux constantes de stabilité des complexes n'est que de 8. La détection de cadmium en présence de plomb paraît donc difficilement envisageable.

V.2. Etude par fluorimétrie résolue en temps

Le ligand Rhod-5N et les complexes qu'il forme avec les cations Cd^{2+} et Ca^{2+} ont été étudiés par fluorimétrie impulsionnelle dans le milieu MOPS-KOH 10 mM à pH = 7. Les déclin du ligand libre et du complexe de cadmium ont été enregistrés à 576 nm après excitation à 495 nm et analysés comme une somme discrète d'exponentielles avec le logiciel GLOBALS™. Les déclin sont présentés sur la Figure 3-61.

Le déclin du Rhod-5N dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à pH = 7 est triexponentiel et fait apparaître une constante de temps majoritaire relativement courte de 54 ps. Une constante de temps de temps intermédiaire de 0,42 ns et une plus longue de 1,72 ns sont nécessaires à l'obtention d'un ajustement numérique satisfaisant. Cette dernière est égale à la valeur de la durée de vie du complexe ML formé par le Rhod-5N avec le calcium (*cf.* Tableau 3-9). Cette constante de temps peut donc être attribuée au ligand partiellement complexé par le calcium résiduel présent dans la cuve de mesure. Les deux autres constantes de temps pourraient être expliquées par la présence de deux conformations pour le Rhod-5N : une où le transfert d'électron est possible et qui correspondrait à la constante de temps très courte de 54 ps ; et une seconde conformation pour laquelle ce transfert d'électron ne peut avoir lieu (constante de temps plus longue de 0,42 ns). Des observations similaires ont déjà été réalisées sur le Calcium Green, un fluoroionophore de type PET possédant un site de reconnaissance du calcium de type BAPTA.⁸³

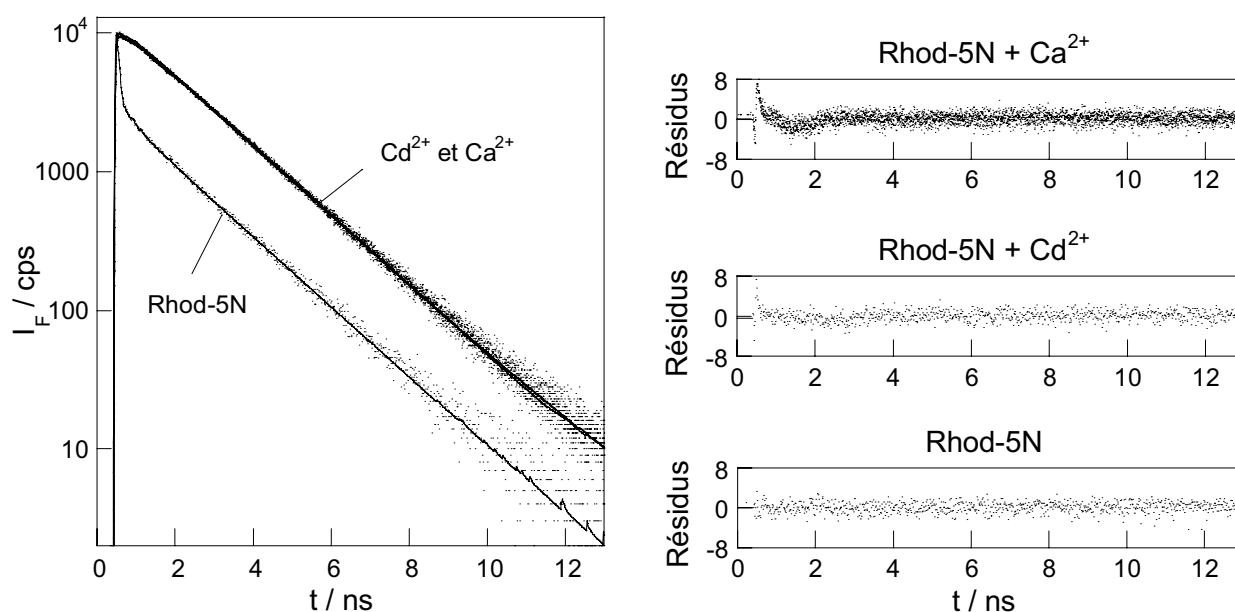


Figure 3-61. Déclins de fluorescence à 576 nm du ligand Rhod-5N et du complexe qu'il forme avec Cd^{2+} et Ca^{2+} dans le tampon MOPS-KOH 10 mM ; $\lambda_{exc} = 495$ nm.

Espèce	τ_i	α_i	f_i	χ_R^2
Rhod-5N	$0,054 \pm 0,004$	0,82	0,15	1,09
	$0,42 \pm 0,09$	0,04	0,05	
	$1,72 \pm 0,03$	0,14	0,80	
$\text{Cd}^{2+} \subset \text{Rhod-5N}$	$1,72 \pm 0,03$	1,00	1	1,16
$\text{Ca}^{2+} \subset \text{Rhod-5N}$	$1,73 \pm 0,03$	1,00	1	1,37

Tableau 3-9. Analyse des déclins de fluorescence à 576 nm du Rhod-5N et de ces complexes dans le tampon MOPS-KOH 10 mM à pH = 7 ; $\lambda_{exc} = 495$ nm.

Le déclin de fluorescence du complexe de cadmium a également été enregistré. Ce dernier est monoexponentiel et la durée de vie de 1,72 ns trouvée correspond à la durée de vie du ligand Rhod-5N complexé par le cadmium. Celle-ci est supérieure à la durée de vie moyenne du ligand libre, ce qui est en accord avec le fait que l'ajout de cadmium entraîne une importante exaltation de fluorescence. De même, une unique durée de vie de 1,73 ns est observée pour le complexe de calcium, ce qui est conforme au fait que les effets photophysiques induits par le calcium et le cadmium sont quasiment identiques.

V.3. Conclusion de l'étude sur le Rhod-5N

Dans ce paragraphe, l'utilisation du composé Rhod-5N comme senseur fluorescent de cadmium en milieu aqueux à pH = 7 a été envisagée. La complexation du cadmium inhibe le transfert d'électron photoinduit et provoque une importante exaltation de fluorescence du ligand dont le rendement quantique une fois complexé atteint 0,35. La durée de vie du complexe de cadmium a été mesurée (1,72 ns) et est bien supérieure à la durée de vie moyenne du Rhod-5N en l'absence de cation. De plus, la constante de stabilité du complexe formé avec le cadmium s'est révélée particulièrement élevée ($\log \beta_{11} = 8,85$). Ainsi, une limite de détection très faible de $3,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a été déterminée. La sélectivité pour le cadmium est également très bonne par rapport à de nombreux cations (Na^+ , K^+ ,

Ca^{2+} et surtout Zn^{2+}), le plomb constituant le seul interférent gênant. Enfin, ce composé est excitable à 550 nm ce qui permet de s'affranchir de l'auto-fluorescence des milieux biologiques. Il est de plus disponible commercialement sous une forme estérifiée capable de traverser les membranes biologiques ou sous forme de sel de potassium directement soluble en milieu aqueux. Le Rhod-5N constitue par conséquent une alternative intéressante pour la détection de faibles quantités de cadmium en milieu aqueux ou biologique pour peu que le milieu ne contienne pas un excès de plomb.

VI. Conclusion générale sur les fluoroionophores sélectifs de cadmium

Dans ce chapitre ont donc été étudiés différents composés potentiellement complexants et sélectifs du cadmium. Plusieurs approches avaient été envisagées, aussi bien la synthèse et l'étude de nouveaux composés que l'étude d'une sonde disponible commercialement.

La première approche constituait à développer de nouveaux fluoroionophores incorporant une pince de type *N,N,N',N'*-tétraalkyl-3-6-dioxa-octane-dithioamide, décrite dans la littérature comme particulièrement sélective et affine du cadmium. Quatre composés conçus comme des fluoroionophores de type PCT ont été synthétisés. Tous se sont révélés très peu fluorescents en raison d'un transfert d'électron photoinduit des groupements thioamides vers les fluorophores excités. Plus surprenant, la complexation du cadmium n'a pas été observée et seul le mercure semble être complexé par ces composés. L'ajout de métal entraîne alors soit une exaltation de fluorescence due à une réaction de désulfuration des fonctions thioamides en milieu organo-aqueux, soit une modification des spectres d'absorption du ligand liée à une modification du transfert de charge photoinduit au sein du fluorophore.

Une seconde voie consistait à étudier des pinces complexantes soufrées analogues de la 2-dipicolylamine qui est connue pour complexer très efficacement le zinc. Deux nouveaux fluoroionophores de type PCT possédant un chromophore de type 2-(4-aminobenzylidène) malononitrile ont été synthétisés mais les propriétés complexantes avec le cadmium se sont révélées inexistantes. Pour l'un de ces composés, des effets intéressants ont été mis en évidence avec le mercure mais la faible constante de stabilité des complexes formés et le faible rendement quantique de fluorescence ne permettent pas d'envisager l'utilisation de ce composé comme senseur fluorescent de mercure.

L'étude de nouvelles pinces complexantes synthétisées par « click chemistry » a permis d'identifier de nouvelles entités complexantes du cadmium de type pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole. Les propriétés photophysiques et complexantes de ces nouveaux chromophores greffés sur différentes architectures supramoléculaires (dimère, calixarène, cyclodextrine) ont été étudiées dans le méthanol. Avec l'ajout de cadmium dans le méthanol, il se produit pour les ligands testés d'importantes modifications des propriétés photophysiques et les constantes de stabilité des complexes formés sont élevées. En revanche, la longueur d'onde d'excitation extrêmement basse (280 nm), les difficultés rencontrées en milieu aqueux et la faible sélectivité de ces composés demeurent les principaux inconvénients. Les composés analogues excitables à plus haute longueur d'onde qui ont été synthétisés n'ont pas permis de s'affranchir de ces inconvénients et se sont révélés moins affins pour le cadmium.

Enfin, l'étude d'une sonde de calcium de faible affinité commercialisée par Invitrogen, le Rhod-5N, a été réalisée. Possédant une pince complexante BAPTA avec un groupement nitro en position 5 et un fluorophore de type rhodamine, ce fluoroionophore de type PET s'est montré extrêmement affiné pour le cadmium en milieu tamponné à pH = 7. Profitant de la constante de stabilité élevée du complexe formé avec le cadmium et de l'importante exaltation de fluorescence provoquée par la complexation, une limite de détection de 3,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ a ainsi été déterminée. Soluble en milieu aqueux à pH = 7, excitable à 550 nm, le Rhod-5N s'est également montré très sélectif par rapport aux cations K^+ , Na^+ , Ca^{2+} et Zn^{2+} . Seul Pb^{2+} constitue un interférent gênant. Néanmoins,

l'utilisation du Rhod-5N pour la détection de faibles quantités de cadmium est tout à fait envisageable dans des milieux où le plomb n'est pas présent en quantité significative. Disponible commercialement sous forme estérifiée, son utilisation pour la visualisation du cadmium intracellulaire est également possible.

Références bibliographiques

- [1] J.M. Lehn et F. Montavon. "Cryptates .25. Stability and selectivity of cation inclusion complexes of polyaza-macrobicyclic ligands - selective complexation of toxic heavy-metal cations", Helv. Chim. Acta, **1978**, 61, 67-82.
- [2] J. Costa, R. Delgado, M.G.B. Drew et V. Felix. "Methyl pyridine derivatives of 14-membered tetraaza macrocycles. A new host with high selectivity for cadmium", J. Chem. Soc. Dalton Trans., **1999**, 4331-4339.
- [3] D. Caiazza, S.F. Lincoln et A.D. Ward. "A preparative study of some coronands and their complexation of silver(I), zinc(II), cadmium(II) and lead(II)", Inorg. Chim. Acta, **2004**, 357, 716-722.
- [4] M. Shamsipur et M.H. Mashhadizadeh. "Cadmium ion-selective electrode based on tetrathia-12-crown-4", Talanta, **2001**, 53, 1065-1071.
- [5] G. Lager, L. Tomaszewski, M.D. Osborne, B.J. Seddon et H.H. Girault. "Electrochemical extraction of heavy metal ions assisted by cyclic thioether ligands", J. Electroanal. Chem., **1998**, 451, 29-37.
- [6] M. Duta, Z. Asfari, N. Kruchinina, P. Thuery, A. Hagege et M. Leroy. "Thiacrownalix[4]arene derivatives: Synthesis and complexing properties", Supramol. Chem., **2005**, 17, 221-226.
- [7] J.K. Schneider, P. Hofstetter, E. Pretsch, D. Ammann et W. Simon. "N,N,N',N'-tetrabutyl-3,6-dioxaoctane-dithioamide, an ionophore with selectivity for Cd²⁺", Helv. Chim. Acta, **1980**, 63, 217-224.
- [8] T. Sokalski, A. Ceresa, T. Zwickl et E. Pretsch. "Large improvement of the lower detection limit of ion-selective polymer membrane electrodes", J. Am. Chem. Soc., **1997**, 119, 11347-11348.
- [9] M.A. Pineros, J.E. Shaff, L.V. Kochian et E. Bakker. "Selectivity of liquid membrane cadmium microelectrodes based on the ionophore N,N,N',N'-tetrabutyl-3,6-dioxaoctanedithioamide", Electroanalysis, **1998**, 10, 937-941.
- [10] A.C. Ion, E. Bakker et E. Pretsch. "Potentiometric Cd²⁺-selective electrode with a detection limit in the low ppt range", Anal. Chim. Acta, **2001**, 440, 71-79.
- [11] S. Wilke et H.M. Wang. "Transfer of heavy metal ions across the water vertical bar nitrobenzene microinterface facilitated by the cadmium selective ionophore ETH1062", J. Electroanal. Chem., **1999**, 475, 9-19.
- [12] P.L.H.M. Cobben, R.J.M. Egberink, J. Bomer, J.R. Haak, P. Bergveld et D.N. Reinhoudt. "Detection of heavy metal ions by ISFETs in a flow injection analysis cell", Sens. Actuators B, **1992**, 6, 304-307.
- [13] P. Cobben, R.J.M. Egberink, J.G. Bomer, P. Bergveld, W. Verboom et D.N. Reinhoudt. "Transduction of selective recognition of heavy-metal ions by chemically modified field-effect transistors (CHEMFETs)", J. Am. Chem. Soc., **1992**, 114, 10573-10582.
- [14] R.J.W. Lugtenberg, R.J.M. Egberink, J.F.J. Engbersen et D.N. Reinhoudt. "Pb²⁺ and Cd²⁺ selective chemically modified field effect transistors based on thioamide functionalized 1,3-alternate calix[4]arenes", J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2, **1997**, 1353-1357.
- [15] S.K. Kim, J.H. Lee et J. Yoon. "Fluorescent PET chemosensor for cadmium ions in 100% aqueous solution", Bull. Korean Chem. Soc., **2003**, 24, 1032-1034.

- [16] N.J. Youn et S.K. Chang. "Dimethylcyclam based fluoroionophore having Hg^{2+} - and Cd^{2+} -selective signaling behaviors", *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 125-129.
- [17] L. Prodi, M. Montalti, N. Zaccheroni, J.S. Bradshaw, R.M. Izatt et P.B. Savage. "Characterization of 5-chloro-8-methoxyquinoline appended diaza-18-crown-6 as a chemosensor for cadmium", *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 2941-2944.
- [18] R.T. Bronson, D.J. Michaelis, R.D. Lamb, G.A. Husseini, P.B. Farnsworth, M.R. Linford, R.M. Izatt, J.S. Bradshaw et P.B. Savage. "Efficient immobilization of a cadmium chemosensor in a thin film: Generation of a cadmium sensor prototype", *Org. Lett.*, **2005**, 7, 1105-1108.
- [19] E.U. Akkaya, M.E. Huston et A.W. Czarnik. "Chelation-enhanced fluorescence of anthrylazamacrocyclic conjugate probes in aqueous-solution", *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 3590-3593.
- [20] M.E. Huston, C. Engleman et A.W. Czarnik. "Chelatoselective fluorescence perturbation in anthrylazamacrocyclic conjugate probes - electrophilic aromatic cadmiation", *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 7054-7056.
- [21] N. Ertas, E.U. Akkaya et O.Y. Ataman. "Simultaneous determination of cadmium and zinc using a fiber optic device and fluorescence spectrometry", *Talanta*, **2000**, 51, 693-699.
- [22] M. Choi, M. Kim, K.D. Lee, K.N. Han, I.A. Yoon, H.J. Chung et J. Yoon. "A new reverse PET chemosensor and its chelatoselective aromatic cadmiation", *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3455-3457.
- [23] T. Gunnlaugsson, T.C. Lee et R. Parkesh. "Cd(II) sensing in water using novel aromatic iminodiacetate based fluorescent chemosensors", *Org. Lett.*, **2003**, 5, 4065-4068.
- [24] T. Gunnlaugsson, T.C. Lee et R. Parkesh. "Highly selective fluorescent chemosensors for cadmium in water", *Tetrahedron*, **2004**, 60, 11239-11249.
- [25] L. Prodi, F. Bolletta, M. Montalti et N. Zaccheroni. "Searching for new luminescent sensors: Synthesis and photophysical properties of a tripodal ligand incorporating the dansyl chromophore and of its metal complexes", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1999**, 455-460.
- [26] C.L. Lu, Z.C. Xu, J.N. Cui, R. Zhang et X.H. Qian. "Ratiometric and highly selective fluorescent sensor for cadmium under physiological pH range: A new strategy to discriminate cadmium from zinc", *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 3554-3557.
- [27] X.J. Peng, J.J. Du, J.L. Fan, J.Y. Wang, Y.K. Wu, J.Z. Zhao, S.G. Sun et T. Xu. "A selective fluorescent sensor for imaging Cd^{2+} in living cells", *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 129, 1500-1501.
- [28] S.C. Burdette, G.K. Walkup, B. Spingler, R.Y. Tsien et S.J. Lippard. "Fluorescent sensors for Zn^{2+} based on a fluorescein platform: Synthesis, properties and intracellular distribution", *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 7831-7841.
- [29] S.C. Burdette, C.J. Frederickson, W.M. Bu et S.J. Lippard. "ZP4, an improved neuronal Zn^{2+} sensor of the Zinpyr family", *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 1778-1787.
- [30] D.Y. Sasaki et B.E. Padilla. "Dithioamide metal ion receptors on fluorescent lipid bilayers for the selective optical detection of mercuric ion", *Chem. Commun.*, **1998**, 1581-1582.
- [31] A. Sousa-Pedrares, J. Romero, J.A. Garcia- Vazquez, M.L. Duran, I. Casanova et A. Sousa. "Electrochemical synthesis and structural characterisation of zinc, cadmium and mercury complexes of heterocyclic bidentate ligands (N, S)", *Dalton Trans.*, **2003**, 1379-1388.

- [32] O. David, S. Maisonneuve et J. Xie. "Generation of new fluorophore by Click chemistry: synthesis and properties of β -cyclodextrin substituted by 2-pyridyl triazole", Tetrahedron Lett., **2007**, 48, 6527–6530.
- [33] G. Grynkiewicz, M. Poenie et R.Y. Tsien. "A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties", J. Biol. Chem., **1985**, 260, 3440-3450.
- [34] S.R. Adams, J.P.Y. Kao, G. Grynkiewicz, A. Minta et R.Y. Tsien. "Biologically useful chelators that release Ca^{2+} upon illumination", J. Am. Chem. Soc., **1988**, 110, 3212-3220.
- [35] S.R. Adams, J.P.Y. Kao et R.Y. Tsien. "Biologically useful chelators that take up Ca^{2+} upon illumination", J. Am. Chem. Soc., **1989**, 111, 7957-7968.
- [36] T. Vo-dinh, P. Viallet, L. Ramirez, A. Pal et J. Vigo. "Detection of cadmium ion using the fluorescence probe Indo-1", Anal. Chim. Acta, **1994**, 295, 67-72.
- [37] H. Prestel, A. Gahr et R. Niessner. "Detection of heavy metals in water by fluorescence spectroscopy: On the way to a suitable sensor system", Fresenius J. Anal. Chem., **2000**, 368, 182-191.
- [38] P. Chavez-Crooker, P. Pozo, H. Castro, M.S. Dice, I. Boutet, A. Tanguy, D. Moraga et G.A. Ahearn. "Cellular localization of calcium, heavy metals, and metallothionein in lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreas", Comp. Biochem. Physiol. C, **2003**, 136, 213-224.
- [39] S. Lindberg, T. Landberg et M. Greger. "A new method to detect cadmium uptake in protoplasts", Planta, **2004**, 219, 526-532.
- [40] R.P. Haugland. "The Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, 9th ed.", Molecular Probes, Eugene, **2002**.
- [41] M.P. Cava et M.I. Levinson. "Thionation reactions of Lawesson reagents", Tetrahedron, **1985**, 41, 5061-5087.
- [42] T. Ozturk, E. Ertas et O. Mert. "Use of Lawesson's Reagent in Organic Syntheses", Chem. Rev., **2007**, ASAP.
- [43] Y. Hirata, T. Okada et T. Nomoto. "Photoinduced intramolecular charge separation of *p*-*N,N*-dimethylamino-*p'*-cyano-diphenylacetylene in polar solvents", Chem. Phys. Lett., **1997**, 278, 133-138.
- [44] B. Dietrich, J.M. Lehn, J.P. Sauvage et J. Blanzat. "Cryptates .X. Synthesis and physical properties of diazopolyoxamacrobicyclic systems", Tetrahedron, **1973**, 29, 1629-1645.
- [45] P.D. Wood et L.J. Johnston. "Photoionization and photosensitized electron-transfer reactions of psoralens and coumarins", J. Phys. Chem. A, **1998**, 102, 5585-5591.
- [46] A. Corsaro et V. Pistara. "Conversion of the thiocarbonyl group into the carbonyl group", Tetrahedron, **1998**, 54, 15027-15062.
- [47] M.Y. Chae et A.W. Czarnik. "Fluorometric chemodosimetry - mercury(II) and silver(I) indication in water via enhanced fluorescence signaling", J. Am. Chem. Soc., **1992**, 114, 9704-9705.
- [48] K.C. Song, J.S. Kim, S.M. Park, K.C. Chung, S. Ahn et S.K. Chang. "Fluorogenic Hg^{2+} -selective chemodosimeter derived from 8-hydroxyquinoline", Org. Lett., **2006**, 8, 3413-3416.
- [49] Y.K. Yang, K.J. Yook et J. Tae. "A rhodamine-based fluorescent and colorimetric chemodosimeter for the rapid detection of Hg^{2+} ions in aqueous media", J. Am. Chem. Soc., **2005**, 127, 16760-16761.

- [50] X.F. Yang, Y. Li et Q. Bai. "A highly selective and sensitive fluorescein-based chemodosimeter for Hg^{2+} ions in aqueous media", *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 584, 95-100.
- [51] D. Jimenez, R. Martinez-Manez, F. Sancenon et J. Soto. "Electro-optical triple-channel sensing of metal cations via multiple signalling patterns", *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 1257-1259.
- [52] D. Jimenez, R. Martinez-Manez, F. Sancenon, J.V. Ros-Lis, J. Soto, A. Benito et E. Garcia-Breijo. "Multi-channel receptors and their relation to guest chemosensing and reconfigurable molecular logic gates", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2005**, 2393-2403.
- [53] Y.B. Lee, H.Y. Woo, C.B. Yoon et H.K. Shim. "Simple synthetic route to soluble polyimides via nitro-displacement reaction and their second-order nonlinear optical properties", *J. Mat. Chem.*, **1999**, 9, 2345-2350.
- [54] S.F. Wnuk, L.A. Bergolla et P.I. Garcia. "Studies toward the Synthesis of α -Fluorinated Phosphonates via Tin-Mediated Cleavage of α -Fluoro α -(pyrimidin-2ylsulfonyl)alkylphosphonates. Intramolecular Cyclization of the α -Phosphonyl Radicals", *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3065-3071.
- [55] C.H. Chen, G.A. Reynolds, H.R. Luss et J.H. Perlstein. "Chemistry of 1,1-dioxothiopyrans .1. Syntheses and reactions of 2,6-diphenyl-4H-thiopyran-4-one 1,1-dioxide and 4H-thioflaven-4-one, 1,1-dioxide", *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 3282-3289.
- [56] R.O. Loutfy et K.Y. Law. "Electrochemistry and spectroscopy of intramolecular charge-transfer complexes - para-N,N-dialkylaminobenzylidenemalononitriles", *J. Phys. Chem.*, **1980**, 84, 2803-2808.
- [57] A.B. Descalzo, R. Martinez-Manez, R. Radeaglia, K. Rurack et J. Soto. "Coupling Selectivity with Sensitivity in an Integrated Chemosensor Framework: Design of a Hg^{2+} -Responsive Probe, Operating above 500 nm", *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 3418-3419.
- [58] H.C. Kolb, M.G. Finn et K.B. Sharpless. "Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004-2021.
- [59] R. Huisgen. "1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1963**, 2, 565-598.
- [60] V.V. Rostovtsev, L.G. Green, V.V. Fokin et K.B. Sharpless. "A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 2596-2599.
- [61] C.W. Tornøe, C. Christensen et M. Meldal. "Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides", *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3057-3064.
- [62] P. Wu et V. Fokin. "Catalytic Azide-Alkyne Cycloaddition: Reactivity and Applications", *Aldrichimica Acta*, **2007**, 40, 7-17.
- [63] K.E. Beatty, J.C. Liu, F. Xie, D.C. Dieterich, E.M. Schuman, Q. Wang et D.A. Tirrell. "Fluorescence visualization of newly synthesized proteins in mammalian cells", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, 45, 7364-7367.
- [64] J. Gierlich, G.A. Burley, P.M.E. Gramlich, D.M. Hammond et T. Carell. "Click chemistry as a reliable method for the high-density postsynthetic functionalization of alkyne-modified DNA", *Org. Lett.*, **2006**, 8, 3639-3642.
- [65] A.J. Link et D.A. Tirrell. "Cell surface labeling of *Escherichia coli* via copper(I)-catalyzed [3+2] cycloaddition", *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 11164-11165.

- [66] O.S. Wofsbais. "The Click Reaction in the Luminescent Probing of Metal Ions, and Its Implications on Biolabeling Techniques", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 2980-2982.
- [67] J.F. Lutz. "1,3-Dipolar Cycloaddition of Azides and Alkynes : A Universal Ligation Tool in Polymer and Materials Science", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 1018-1025.
- [68] S. Fanni, F.M. Weldon, L. Hammarstrom, E. Mukhtar, W.R. Browne, T.E. Keyes et J.G. Vos. "Photochemically induced isomerisation of ruthenium polypyridyl complexes", *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2001**, 529-534.
- [69] D. Mulhern, S. Brooker, H. Gorls, S. Rau et J.G. Vos. "Synthesis of mononuclear and dinuclear ruthenium(II)tris(heteroleptic) complexes via photosubstitution in bis(carbonyl) precursors", *Dalton Trans.*, **2006**, 51-57.
- [70] J.G. Vos et J.M. Kelly. "Ruthenium polypyridyl chemistry; from basic research to applications and back again", *Dalton Trans.*, **2006**, 4869-4883.
- [71] B. Ding, L. Yi, Y. Wang, P. Cheng, D.Z. Liao, S.P. Yan, Z.H. Jiang, H.B. Song et H.G. Wang. "Synthesis of a series of 4-pyridyl-1,2,4-triazole-containing cadmium(II) luminescent complexes", *Dalton Trans.*, **2006**, 665-675.
- [72] F. Arnaud-Neu, J.K. Browne, D. Byrne, D.J. Marrs, M.A. McKervey, P. O'Hagan, M.J. Schwing-Weill et A. Walker. "Extraction and complexation of alkali, alkaline earth, and f-element cations by calixaryl phosphine oxides", *Chem. Eur. J.*, **1999**, 5, 175-186.
- [73] E.H. Ryu et Y. Zhao. "Efficient synthesis of water-soluble calixarenes using click chemistry", *Org. Lett.*, **2005**, 7, 1035-1037.
- [74] D.R. Lide. "Handbook of chemistry and physics - 84th edition" CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington DC, **2003**
- [75] S.M. Nabavizadeh. "Thermodynamic studies of the binding of bidentate nitrogen donors with methyltrioxorhenium (MTO) in CHCl₃ solution", *Dalton Trans.*, **2005**, 1644-1648.
- [76] *Gaussian 03*, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- [77] M.N. Berberan-Santos, J. Canceill, J.C. Brochon, L. Jullien, J.M. Lehn, J. Pouget, P. Tauc et B. Valeur. "Multichromophoric cyclodextrins .1. Synthesis of 0-naphthoyl- β -cyclodextrins and investigation of excimer formation and energy hopping", *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 6427-6436.
- [78] K.A. Connors. "Binding Constants. The Measurements of Molecular Complex Stability" John Wiley & Sons, New York, **1987**
- [79] M. Toyota, C. Komori et M. Ihara. "A concise formal total synthesis of mappicine and nothapodytine B via an intramolecular hetero Diels-Alder reaction", *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 7110-7113.

-
- [80] H. Zhang, *unpublished results*, ENS Cachan, Laboratoire PPSM, UMR 8531, **2007**.
- [81] World Health Organisation. *"Guidelines for Drinking-water Quality : incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations. – 3rd ed."*, **2006**
- [82] A.C. Ribou, J.M. Salmon, J. Vigo et C. Goyet. *"Measurements of calcium with a fluorescent probe Rhod-5N: Influence of high ionic strength and pH"*, Talanta, **2007**, 71, 437-442.
- [83] A. Tessier, R. Meallet-Renault, P. Denjean, D. Miller et R.B. Pansu. *"Conformational dynamics of calcium green 1 by fluorescence correlation spectroscopy"*, Phys. Chem. Chem. Phys., **1999**, 1, 5767-5769.

Chapitre 4 : Calixarène hydrosoluble fluorescent pour la détection du césium

I. INTRODUCTION	- 154 -
I.1. Ligands sélectifs du césium	- 154 -
I.1.1. Les podands.....	- 154 -
I.1.2. Les ligands macrocycliques	- 154 -
I.2. Fluoroionophores sélectifs du césium en milieu organique.....	- 158 -
I.2.1. Fluoroionophores de type benzocouronne	- 158 -
I.2.2. Fluoroionophores de type calixarène	- 159 -
I.3. Calixarènes hydrosolubles sélectifs du césium : voies de synthèse et propriétés	- 162 -
I.3.1. Généralités sur les calixarènes hydrosolubles	- 162 -
I.3.2. Ionophores carboxylés ou hydroxylés	- 163 -
I.3.3. Ionophores sulfonés	- 164 -
I.4. Vers la conception d'un nouveau senseur fluorescent hydrosoluble.....	- 165 -
II. SYNTHÈSE DE LA SONDE CALIX-COUSULF.....	- 166 -
II.1. Analyse rétrosynthétique.....	- 166 -
II.2. Synthèse du fluoroionophore Calix-COUSULF.....	- 166 -
III. PROPRIÉTÉS COMPLEXANTES ET PHOTOPHYSIQUES	- 169 -
III.1. Etude préliminaire du ligand Calix-COUSULF en milieu aqueux.....	- 169 -
III.1.1. Etude dans l'eau : influence du sodium et du pH	- 169 -
III.1.2. Choix du milieu et étude du ligand.....	- 170 -
III.2. Complexation du césium en milieu MES-NaOH à pH = 7	- 171 -
III.2.1. Etudes spectroscopiques.....	- 171 -
III.2.2. Etude par RMN ¹ H	- 176 -
III.3. Modèle proposé pour la complexation du césium	- 177 -
III.3.1. Interprétation des résultats expérimentaux	- 177 -
III.3.2. Etude par modélisation moléculaire	- 179 -
III.4. Sensibilité et sélectivité pour la détection du césium en milieu MES-NaOH à pH = 7.....	- 184 -
III.4.1. Sensibilité et limite de détection.....	- 184 -
III.4.2. Sélectivité	- 186 -
IV. EXEMPLE D'APPLICATION DE LA SONDE CALIX-COUSULF EN MILIEU AQUEUX	- 188 -
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	- 190 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 191 -

Chapitre 4 : Calixarène hydrosoluble fluorescent pour la détection du césium

Comme il l'a été mentionné dans le chapitre 1, le césium, et notamment son isotope radioactif, le césium 137, est un élément produit en grande quantité dans les réacteurs nucléaires. Il est donc présent dans les déchets nucléaires mais peut également être libéré par accident dans l'environnement (accidents de Tchernobyl et Goiânia).

De nombreuses études portent actuellement sur le développement et la synthèse de nouveaux ligands sélectifs du césium, susceptibles d'extraire sélectivement le césium contenu dans des déchets nucléaires généralement riches en sodium et en potassium.¹ Par ailleurs, dans le cadre du programme Toxicologie Nucléaire Environnementale, plusieurs équipes étudient le transport du césium du sol vers certaines plantes. De nombreuses méthodes ont été décrites pour la détermination quantitative du césium comme la spectroscopie d'absorption atomique², l'analyse radiologique^{3,4} ou l'utilisation d'électrodes sélectives.^{5,6,7} Même si les limites de détection atteintes avec certaines électrodes sont très basses (jusqu'à 8 nM), la spectroscopie de fluorescence possède certains atouts (outre la sélectivité, la sensibilité, le faible coût et la rapidité des mesures sur de petits volumes communes aux deux techniques) tels que l'absence de calibration préalable, et d'intéressantes possibilités d'imagerie sous microscope. Or, il n'existe à l'heure actuelle pas de méthode bénéficiant de ces multiples avantages pour la mesure *in situ* de faibles concentrations en césium en milieu aqueux, *a fortiori* en présence d'un excès de potassium ou de sodium.

Par conséquent, il est nécessaire de développer de nouveaux senseurs fluorescents pour de telles applications et notre démarche d'ingénierie supramoléculaire s'inscrit dans cette optique. En se basant sur les nombreuses études précédemment réalisées portant sur les calix[4]arènes bis-couronnes(6) en tant que ligand sélectif du césium,²⁰⁻²⁵ ce travail a pour but la synthèse et l'étude d'un nouveau ligand fluorescent hydrosoluble sélectif du césium.

La première partie de ce chapitre sera consacrée à un rappel des récentes avancées concernant la synthèse de complexants sélectifs du césium, en mettant l'accent d'une part sur les fluoroionophores sélectifs, et d'autre part sur les méthodes permettant de rendre un calixarène hydrosoluble. La conception et la synthèse de la nouvelle sonde hydrosoluble seront ensuite décrites, puis les propriétés photophysiques et complexantes du ligand en présence de césium seront rapportées. Enfin, la perspective d'utilisation de la nouvelle sonde dans le cadre d'une collaboration avec le Pr. El Hage Chahine (ITODYS, Université Paris 7 Denis Diderot) sera évoquée.

I. Introduction

I.1. Ligands sélectifs du césium

Expérimentalement, le cation Cs^+ se comporte comme un cation dur légèrement plus mou que les autres cations alcalins Li^+ , Na^+ , et K^+ . Ainsi, la plupart des ligands sélectifs du césium possèdent dans leur structure plusieurs atomes d'oxygène potentiellement en interaction avec le cation. Plusieurs types de complexants existent : des chélates (dont il n'existe cependant que peu d'exemples dans la littérature) et très majoritairement, des calixarènes substitués par des macrocycles oxygénés de type éther couronne.

I.1.1. Les podands

Les rares exemples de ligands non macrocycliques utilisés pour l'extraction sélective de traces de césium radioactif en présence d'un large excès de sodium possèdent comme groupes complexants des fonctions amides, reliées entre elles par un pont polyéthylène glycol (*cf.* Figure 4-1).^{8,9}

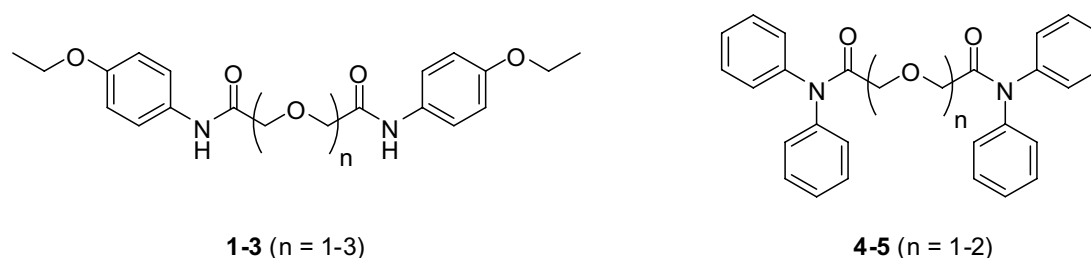


Figure 4-1. Exemples de podands utilisés pour l'extraction du césium.

Ces composés forment avec le césium des pseudomacrocycles dans lesquels les atomes d'oxygène du ligand interagissent avec le cation. Dissous dans le nitrobenzène à une concentration de 10^{-4} M, le plus efficace de ces extractants (**3**) est capable d'extraire 80 % du césium d'un milieu aqueux contenant 0,04 M d'acide picrique et 0,05 M de NaCl. Néanmoins, ces composés demeurent peu étudiés au profit de ligands macrocycliques faisant intervenir des éthers couronnes.

I.1.2. Les ligands macrocycliques

Les éthers couronnes

Les éthers couronnes 18-couronne(**6**) ou 21-couronne(**7**) comportant respectivement 6 et 7 atomes d'oxygène sont connus pour complexer sélectivement le césium, de même que des analogues plus rigides possédant des groupements aryles à la place des ponts éthylènes (**8a**).¹⁰ Fonctionnalisés par des groupements lipophiles augmentant leur solubilité en milieu organique, ils ont pu être utilisés comme extractants efficaces en milieu acide (**8b**).¹¹

En effet, grâce à la présence de nombreux atomes d'oxygènes complexants, ils répondent parfaitement au critère nécessaire de dureté et sont susceptibles de former des complexes de métaux alcalins particulièrement stables (*cf.* Tableau 4-1). De plus, même si le macrocycle possède un cœur dont la taille peut varier (estimée entre 2,6 et 3,2 Å pour **6** ; entre 3,4 et 4,3 Å pour **7**), le diamètre de la cavité demeure particulièrement adapté à la complexation du césium (diamètre ionique de

(K_2CO_3 ou Cs_2CO_3). L'effet template du césium ou du potassium permet l'obtention de la conformation 1,3-alternée avec d'excellents rendements (*cf.* Figure 4-3).

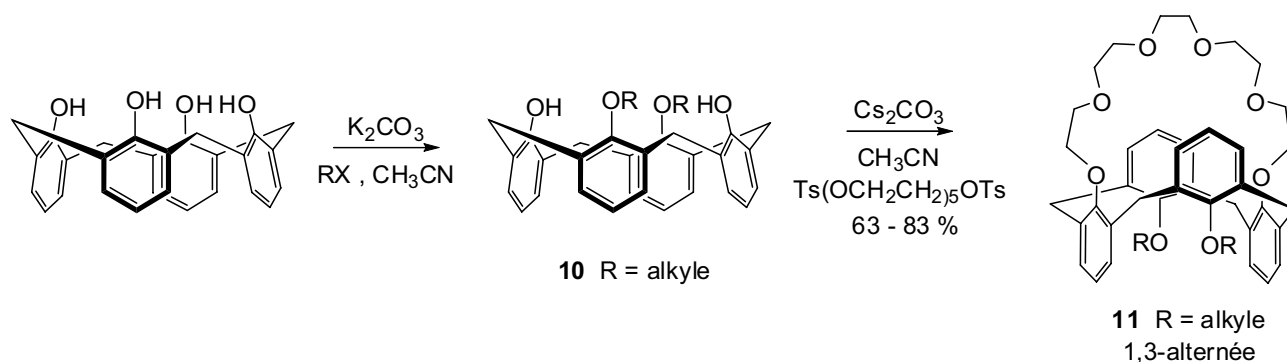


Figure 4-3. Synthèse des calix[4]arènes couronnes(6) en conformation 1,3-alternée.

La taille du macrocycle, intermédiaire entre la 18-couronne(6) et la 21-couronne(7) est parfaitement adaptée à celle du cation hôte lorsqu'il s'agit du césium, avec lequel il se forme un complexe de stoechiométrie 1:1. Les cations plus petits tels le sodium ou le lithium ne sont pas complexés efficacement, les groupes phényles du squelette calixarène empêchant stériquement le repli de la chaîne polyéthylèneglycol autour du cation. Celui-ci est d'autant moins favorisé que les ponts éthylène du macrocycle de type polyéther sont remplacés par des groupements de type catéchol plus rigides. La sélectivité pour le césium par rapport au sodium augmente alors de manière notable, le potassium restant le principal ion interférent.^{16,17}

Par ailleurs, il existe dans cette conformation des interactions π entre le cation et les deux cycles benzéniques du calixarène qui stabilisent le complexe ainsi formé et accroissent la sélectivité pour le césium au détriment du sodium.¹⁸ Ces interactions ont été mises en évidence par différentes méthodes : à l'état solide par diffraction des rayons X avec des distances interatomiques Cs-C entre le cation et les deux cycles aromatiques relativement courtes (de l'ordre de 3,6 Å) ; en solution par spectroscopie de fluorescence¹⁹ et par spectroscopie RMN 1H . Ces interactions sont notamment à l'origine d'un déblindage des protons aromatiques en *meta* des groupements phényles du squelette calixarène (de l'ordre de 0,15 ppm).¹⁴

Les calixarènes bis-couronnes

Parallèlement aux calixarènes couronnes précédemment mentionnés, d'autres ligands macropolycycliques incluant cette fois deux couronnes oxygénées comportant chacune six oxygènes et greffées sur un squelette de type calix[4]arène en conformation 1,3-alternée ont été synthétisés et étudiés. Les raisons pour lesquelles ils sont particulièrement sélectifs du césium sont identiques à celles mentionnées dans le paragraphe précédent (taille du macrocycle, interactions π stabilisantes). Ils sont obtenus avec de bons rendements en une seule étape par alkylation du calix[4]arène par un dérivé ditosylé (ou analogue) en présence de K_2CO_3 ou de Cs_2CO_3 . La conformation 1,3-alternée est obtenue très majoritairement par effet template, avec des rendements satisfaisants sans pour autant travailler en milieu fortement dilué (*cf.* Figure 4-4).

Ces calix[4]arènes bis-couronnes(6) font preuve d'une remarquable sélectivité pour le césium par rapport au sodium et dans une moindre mesure vis-à-vis du potassium. Ils ont par conséquent été largement utilisés comme extractants pour les déchets nucléaires. Via la méthode

d'extraction dite SLM (Supported Liquid Membrane), ils permettent le passage d'une grande quantité de césium d'une phase aqueuse acide riche en sodium vers une phase organique où le césium est complexé au calixarène bis-couronne.²⁰ L'influence de la couronne oxygénée sur la sélectivité est particulièrement forte et a fait l'objet de nombreuses études.^{21,22,23} Ainsi, l'incorporation d'un ou deux groupements aryles à la place des ponts éthylènes du macrocycle (composés **13** et **14**) augmente la sélectivité pour le césium par rapport au sodium et au lithium par rigidification de la couronne complexante et par augmentation de la basicité des atomes d'oxygène dans les groupements aryles.

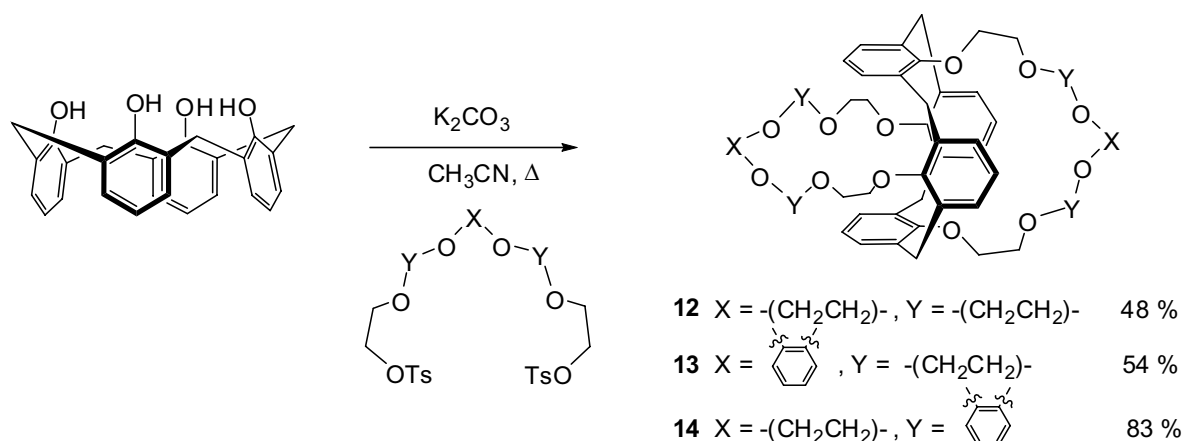


Figure 4-4. Synthèse des calix[4]arènes bis-couronnes(6).

Pour ces composés qui possèdent deux couronnes distinctes et donc autant de sites de complexation possibles, la question de la stoechiométrie des complexes formés avec le césium se pose. Bien que la formation d'un complexe unique de stoechiométrie 1:1 dans les conditions utilisées pour certaines expériences d'extraction liquide-liquide suffise à rendre compte des propriétés d'extraction observées,²¹ l'existence d'un second complexe de stoechiométrie 2:1, c'est-à-dire deux cations césium pour un ligand, a également été mise en évidence par cristallographie des rayons X²⁴ et confirmée en solution par absorption UV-visible²³ et RMN ¹H.²⁵ Le Tableau 4-2 récapitule les valeurs des constantes de formation du complexe ML avec différents métaux alcalins dans l'acétonitrile. Pour le composé **12**, des constantes du même ordre de grandeur ont été trouvées en milieu organo-aqueux, dans un mélange acétonitrile/eau 90:10.²⁵

	12		13		14	
	$\log \beta_{11}$	$\beta_{11}^{\text{Cs}^+} / \beta_{11}^{\text{M}^+}$	$\log \beta_{11}$	$\beta_{11}^{\text{Cs}^+} / \beta_{11}^{\text{M}^+}$	$\log \beta_{11}$	$\beta_{11}^{\text{Cs}^+} / \beta_{11}^{\text{M}^+}$
Li ⁺	2,3 ± 0,2	398	1,5 ± 0,2	2510	2,18 ± 0,03	13200
Na ⁺	1,97 ± 0,08	851	1,5 ± 0,2	2510	≤ 1	≥ 10 ⁵
K ⁺	4,12 ± 0,08	6,0	4,32 ± 0,05	3,8	5,22 ± 0,05	12,0
Cs ⁺	4,9 ± 0,1	-	4,9 ± 0,2	-	6,3 ± 0,2	-

Tableau 4-2. Logarithmes des premières constantes de stabilité des complexes (β_{11}) des principaux cations alcalins avec différents calixarènes bis-couronnes dans l'acétonitrile.

La complexation du second cation est plus difficilement observable car moins favorable thermodynamiquement : les constantes de stabilité des complexes M₂L sont plus faibles que pour le

complexe ML. Ainsi, la constante K_{21} de formation du complexe M_2L entre le césium et le composé **14** (cf. eq. 4-2) n'est que de $6,3 \times 10^3$, soit quasiment de trois ordres de grandeur inférieure à β_{11} ($2,0 \times 10^6$). On parle alors d'effet anti-coopératif. Plusieurs facteurs peuvent en être à l'origine : tout d'abord, la répulsion électrostatique entre les deux cations dans chacune des couronnes oxygénées qui défavorise la formation du complexe M_2L . La présence d'un cation dans une des boucles de complexation peut également induire un changement conformationnel dans la deuxième boucle complexante et entraîner une diminution de l'affinité de ce second site pour le cation.

I.2. Fluoroionophores sélectifs du césium en milieu organique

I.2.1. Fluoroionophores de type benzocouronne

L'un des rares exemples de senseurs fluorescents sélectifs de césium ne comportant pas de calixarène a été décrit en 2000 par Xia *et al.*²⁶ L'entité de reconnaissance du cation césium est un éther couronne(6) tandis que le fluorophore est dérivé distyrylbenzénique dicyané (composé **16**).

Le rendement quantique de fluorescence de **16** dans les solvants polaires tels que l'acétonitrile ou l'acétone en absence de cation est très faible ($\Phi_F \sim 0,001$).²⁷ Lors de l'ajout de césium, peu d'effets sont observés en absorption. En revanche, en excitant à 350 nm, une importante exaltation de fluorescence se produit (d'un facteur 20 environ) accompagnée d'un déplacement bathochrome de 44 nm (de 482 à 526 nm). Ces phénomènes sont attribués à la formation d'un complexe de type sandwich avec le césium, dans lequel chaque couronne du fluorophore est en interaction avec un cation (Figure 4-5). La constante de stabilité, exprimée en $\log \beta$ pour la formation d'un complexe de stoechiométrie 1:1 est de 4,3 dans l'acétone. Quant à la sélectivité vis-à-vis du potassium et du sodium, elle provient essentiellement du fait que ces cations alcalins ne conduisent pas à une conformation de type sandwich nécessaire à l'augmentation du rendement quantique de fluorescence, et n'induisent par conséquent que très peu d'effets sur les spectres de fluorescence. En revanche, des expériences de compétition mettent en évidence des interférences importantes lors de la complexation du césium en présence de potassium ou de sodium.

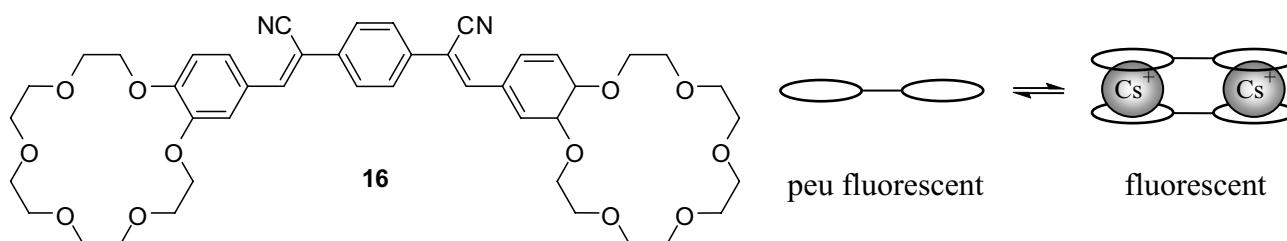


Figure 4-5. Mode de complexation du césium pour le composé mol

Par conséquent, ce type de composé possède une bonne sélectivité pour le césium du point de vue des effets photophysiques associés à la complexation. Néanmoins, la sélectivité chimique du site de reconnaissance vis-à-vis du sodium et du potassium demeure insuffisante. Des fluoroionophores plus sélectifs sont donc nécessaires et ceux à base de calixarènes semblent être les plus à même de répondre à ces exigences.

I.2.2. Fluoroionophores de type calixarène

Les calix[4]arènes couronnes(6) et les calix[4]arènes bis-couronnes(6) en conformation 1,3-alternée étant d'excellents complexants du césium en terme de sélectivité et de sensibilité, la plupart des fluoroionophores décrits dans la littérature pour la détection sélective du césium en solvant organique (de type PET ou PCT) sont construits à partir de cette plateforme supramoléculaire.

Fluoroionophores de type PET

Dabestani *et al.* ont synthétisé plusieurs fluoroionophores calixarène-couronne(6) ou calixarène bis-couronne(6) de type PET possédant un motif cyanoanthracène^{28,29} ou simplement anthracénique³⁰ comme fluorophore. Il est relié de manière covalente mais non conjuguée par un groupement catéchol incorporé dans la couronne complexante (*cf.* Figure 4-6).

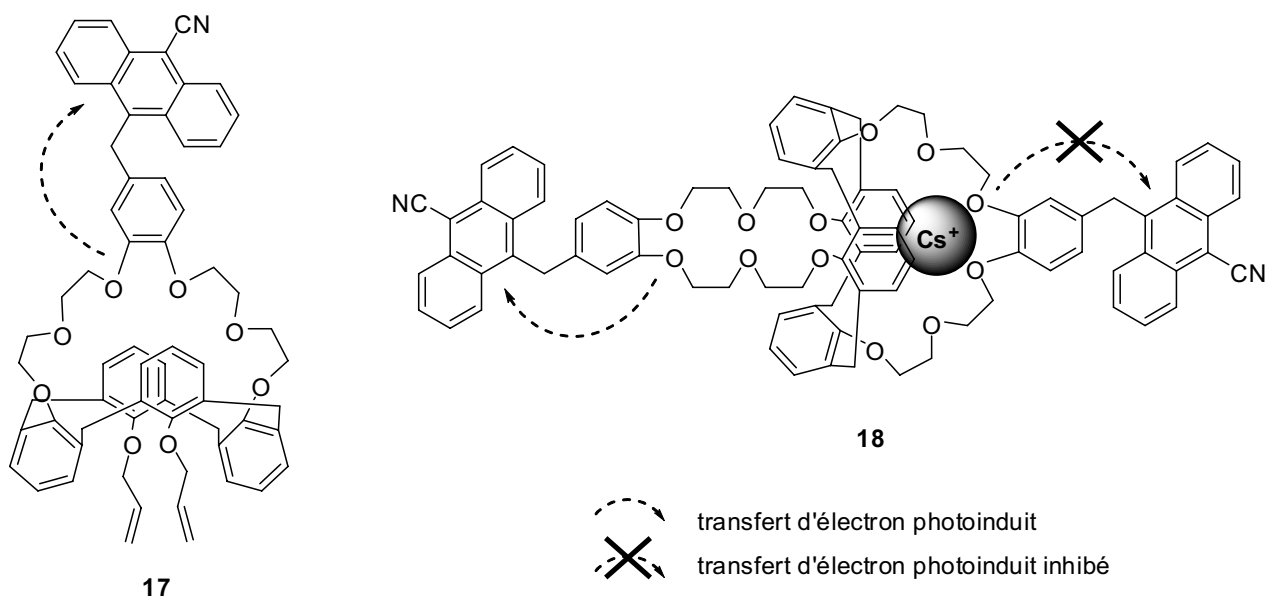


Figure 4-6. Exemples de fluoroionophores de type PET sélectifs du césium.

Dans ces fluoroionophores de type PET, la complexation du césium se traduit par une augmentation du rendement quantique de fluorescence, résultant de l'inhibition du transfert d'électron réductif des oxygènes donneurs du groupement catéchol vers le motif cyanoanthracène. La complexation d'un métal alcalin par interaction avec les oxygènes de la couronne augmente le potentiel d'oxydation du catéchol de la couronne, rendant alors impossible le transfert d'électron vers le fluorophore excité.

Dans un milieu $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1, l'exaltation de fluorescence avec le césium atteint un facteur 8,2 pour **17**, et 11,7 pour le calixarène bis-couronne **18**. L'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence avec l'ajout de césium laisse supposer la formation d'un complexe de stoechiométrie 1:1 pour **17** ($\log K_{11} = 7,08$) ; tandis que le composé **18** forme dans un premier temps un complexe ML ($\log K_{11} = 6,9$) puis un second complexe M_2L ($\log K_{21} = 4,0$). L'hypothèse de l'existence du complexe M_2L a également été confirmée par RMN ^1H . La sélectivité de ces composés pour le césium est relativement bonne comme l'indique les valeurs des constantes de stabilité mesurées avec différents métaux alcalins (Tableau 4-3).

L'effet *anti-coopératif* est particulièrement visible pour le composé **18** : alors que la première constante d'association est similaire à celle de **17**, la constante de formation du complexe M_2L est beaucoup plus faible. De plus, l'exaltation de fluorescence associée à la complexation du second cation est plus importante que celle observée lors de la formation du complexe ML , et ceci est d'autant plus vrai que le cation alcalin est volumineux. En effet, les répulsions électrostatiques entre les 2 cations au sein de chaque boucle impliquent que ces derniers sont davantage en interaction avec les oxygènes des groupements catéchols et inhibent plus efficacement le transfert d'électron photoinduit.

	17		18		
	$\log K_{11}$	Φ_F	$\log K_{11}$	$\log K_{21}$	Φ_F
ligand	-	0,0085	-	-	0,0082
Na^+	2,6	0,031	3,1	1,6	0,016
K^+	5,5	0,037	5,7	2,7	0,049
Cs^+	7,08	0,070	6,9	4,0	0,096

Tableau 4-3. Constantes de complexation et rendements quantiques des composés **17** et **18** avec différents cations alcalins dans un milieu $CH_2Cl_2/MeOH$ 1:1.

En raison de constantes de complexation très élevées, il est donc possible d'envisager l'utilisation de ce type de composés pour la détection de traces de césium en milieu organique (concentrations inférieures au μM). Cependant, les fluorophores de type cyanoanthracène ne sont pas très stables d'un point de vue photochimique et de nombreuses conditions expérimentales peuvent influencer le transfert d'électron photoinduit (polarité, force ionique, etc.). Des fluoroionophores sélectif du césium de type PCT ont donc été conçus.

Fluoroionophores de type PCT

Récemment au laboratoire ont été développés deux nouveaux senseurs fluorescents sélectifs du césium à transfert de charge photoinduit : Calix-COU1 et Calix-COU2.³¹ Les fluorophores utilisés sont des 6,7-dialkoxycoumarines, très stables du point de vue photochimique et possédant un rendement quantique de fluorescence élevé. Ici, elles sont incorporées au sein de la boucle complexante de calix[4]arènes bis-couronnes(6) en conformation 1,3-alternée suivant une voie de synthèse qui sera décrite dans la paragraphe II de ce chapitre.

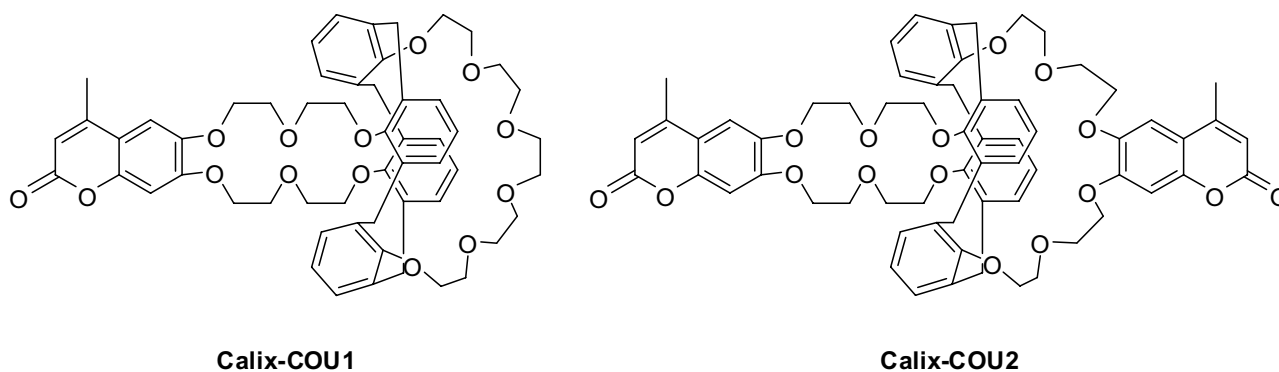


Figure 4-7. Formule des composés Calix-COU1 et Calix-COU2

Les propriétés photophysiques et complexantes des composés Calix-COU1 et Calix-COU2 ont été étudiées dans différents solvants organiques (éthanol et acétonitrile). Le rendement quantique de fluorescence respectif de ces composés dans l'éthanol est de 0,28 et 0,29.

Pour les complexes de métaux alcalins, peu d'effets en absorption sont observés. En revanche, le rendement quantique de fluorescence des complexes formés est beaucoup plus faible que celui du ligand libre, et les spectres d'émission subissent un léger déplacement hypsochrome. Cet effet est d'autant plus important que la densité de charge du cation complexé est grande. En effet, lors de la complexation, le cation entre en interaction avec les oxygènes du cycle benzénique de la coumarine. Or, dans ce type de fluorophore, la fluorescence observée est la résultante du transfert de charge se produisant entre un groupe donneur (en l'occurrence les oxygènes benzéniques de la coumarine) et un groupe accepteur (la lactone). Le cation, ici en interaction avec les atomes donneurs, tend alors à diminuer ce transfert, ce qui se traduit par un déplacement vers le bleu en émission et une inhibition de la fluorescence (*cf.* Figure 4-8).

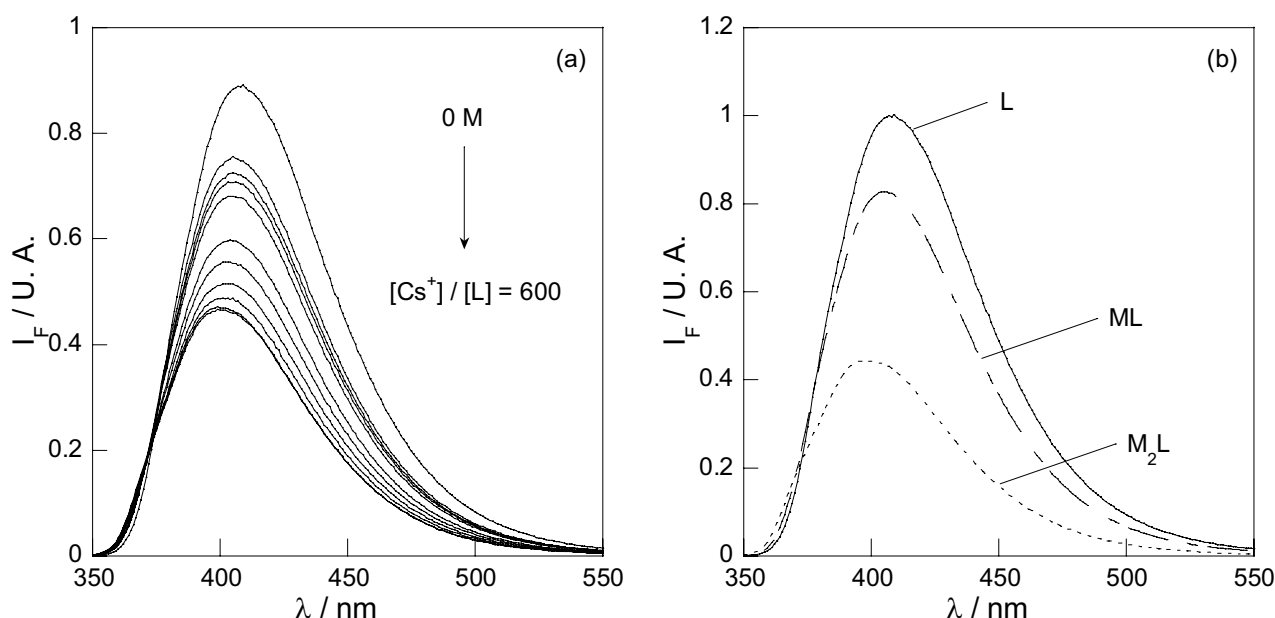
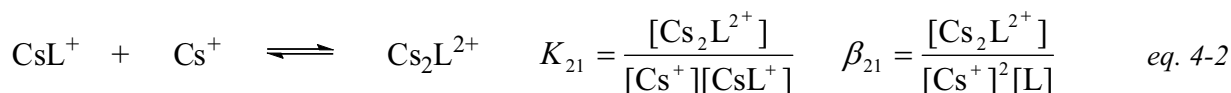
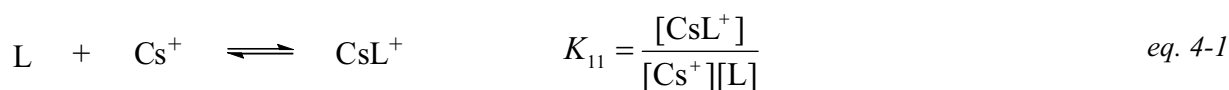


Figure 4-8. (a) Evolution des spectres de fluorescence de Calix-COU2 dans l'éthanol ($[L] = 19 \mu\text{M}$) avec l'ajout d'acétate de césium ($\lambda_{\text{exc}} = 310 \text{ nm}$); (b) spectres des espèces L, ML et M₂L reconstruits par le logiciel SPECFIT™.

L'analyse des spectres d'absorption et de fluorescence dans l'éthanol avec ces 2 ligands fluorescents a mis en évidence la formation de deux complexes successifs de stoechiométrie 1:1 et 2:1. Les valeurs des constantes de complexation, définies pour les équilibres ci-dessous, sont consignées dans le Tableau 4-4.



	Calix-COU1 ($\Phi = 0,28$)				Calix-COU2 ($\Phi = 0,29$)			
	log K_{11}	log K_{21}	Φ_{ML}	Φ_{M2L}	log K_{11}	log K_{21}	Φ_{ML}	Φ_{M2L}
Na ⁺	2,57 ± 0,05	-	0,26	-	2,48 ± 0,06	-	0,26	-
K ⁺	5,03 ± 0,09	2,47 ± 0,09	0,25	0,06	4,81 ± 0,07	2,46 ± 0,06	0,26	0,05
Cs ⁺	6,9 ± 0,15	3,91 ± 0,15	0,24	0,12	6,68 ± 0,09	3,81 ± 0,1	0,24	0,12

Tableau 4-4. Constantes de stabilité et rendements quantiques de fluorescence (erreur 5-10 %) des complexes de Calix-COU1 et Calix-COU2 avec différents métaux alcalins dans l'éthanol.

La sélectivité Cs⁺/Na⁺ est particulièrement élevée tandis que le potassium reste l'interfèrent principal. Certes, les constantes de formation du complexe de potassium demeurent inférieures à celles mesurées pour le césium, mais les effets photophysiques associés sont plus importants dans la mesure où la densité de charge du potassium est de 0,75 q Å⁻¹ contre 0,60 q Å⁻¹ pour le césium.

Enfin, en ce qui concerne l'effet anti-coopératif, celui-ci se traduit par une constante de formation du complexe M₂L, K_{21} , de trois ordres de grandeur plus faible que K_{11} pour le césium. De plus, les effets photophysiques associés à la complexation du second cation sont beaucoup plus significatifs que ceux observés lors de la formation du complexe ML. Compte tenu de la répulsion électrostatique entre les deux cations complexés dans chaque couronne, ils interagissent davantage avec les oxygènes donneurs de la coumarine. Cela explique que le rendement quantique de fluorescence du complexe M₂L soit beaucoup plus faible que celui du complexe ML.

Au vu des résultats obtenus sur ces composés (constantes de stabilité élevée et sélectivité satisfaisante pour le césium), leur utilisation comme senseurs fluorescents semble envisageable. Néanmoins, leur application reste cantonnée aux milieux organiques, compte tenu de l'insolubilité de ces composés calixarènes en phase aqueuse. Il est par conséquent judicieux de synthétiser des analogues hydrosolubles.

I.3. Calixarènes hydrosolubles sélectifs du césium : voies de synthèse et propriétés

I.3.1. Généralités sur les calixarènes hydrosolubles

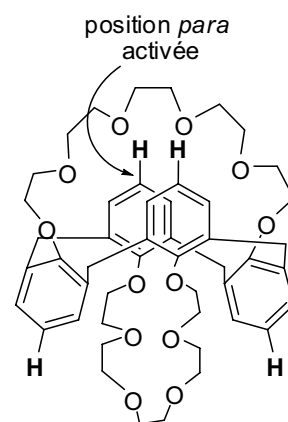
Avec le développement de la chimie verte et en raison de problématiques environnementales de plus en plus présentes, les calixarènes hydrosolubles sont devenus l'objet de nombreuses recherches en chimie supramoléculaire. Depuis les premiers exemples rapportés par Ungaro³² et Shinkai,³³ une très large variété de nouveaux composés ont été obtenus afin d'en évaluer les propriétés complexantes.³⁴

Les calixarènes hydrosolubles sont synthétisés par fonctionnalisation du coeur calixarène ou bien par modification des chaînes latérales avec différents groupements hydrophiles neutres (sucres,³⁵ cyclodextrines,^{36,37} chaînes polyéthylène glycol),³⁸ cationiques ou anioniques tels que des ammoniums NR₃⁺,³⁹ des carboxylates CO₂⁻,⁴⁰ des sulfonates SO₃⁻,⁴¹ et des phosphonates PO₃²⁻.^{42,43,44} Leur propension à former en milieu aqueux des complexes avec des cations métalliques a fait l'objet de nombreuses études.

Lemaire *et al.* ont récemment développé un procédé d'extraction du césium pour les déchets nucléaires basé sur la nanofiltration. Contrairement aux procédés d'extraction usuels de type SLM,

cette technique nécessite une complexation préalable du césium en milieu aqueux afin d'améliorer la séparation ionique.^{45,46} Ces auteurs ont alors adapté de nouvelles méthodologies de synthèse pour les calix[4]arènes bis-couronne(6) en conformation 1,3-alternée afin de les rendre hydrosolubles, et ils ont évalué leurs propriétés complexantes pour le césium en milieu aqueux.

Les groupements hydrophiles permettant de rendre ces calix[4]arènes bis-couronnes(6) hydrosolubles sont nombreux et sont susceptibles d'être introduits directement sur le calixarène ou bien sur la couronne.⁴⁷ Nous ne nous intéresserons par la suite qu'aux groupements carboxylates, hydroxyles, et sulfonates greffés directement sur le squelette calixarène. La synthèse de tels composés met à profit la réactivité en *para* des oxygènes des cycles benzéniques du squelette calixarène. La position *para* est en effet fortement activée du fait de l'effet mésomère donneur de l'oxygène. Cette forte réactivité permet alors un parfait contrôle de la régiosélectivité.



I.3.2. Ionophores carboxylés ou hydroxylés

Les acides benzoïques et les phénols sont facilement ionisables en milieu basique du fait de leur faible pK_a (respectivement autour de 4,2 et 10,0).⁴⁸ Par conséquent, la fonctionnalisation de calix[4]arènes bis-couronnes(6) par un ou plusieurs de ces groupements permet de rendre soluble ces composés en milieu basique (pH = 11).

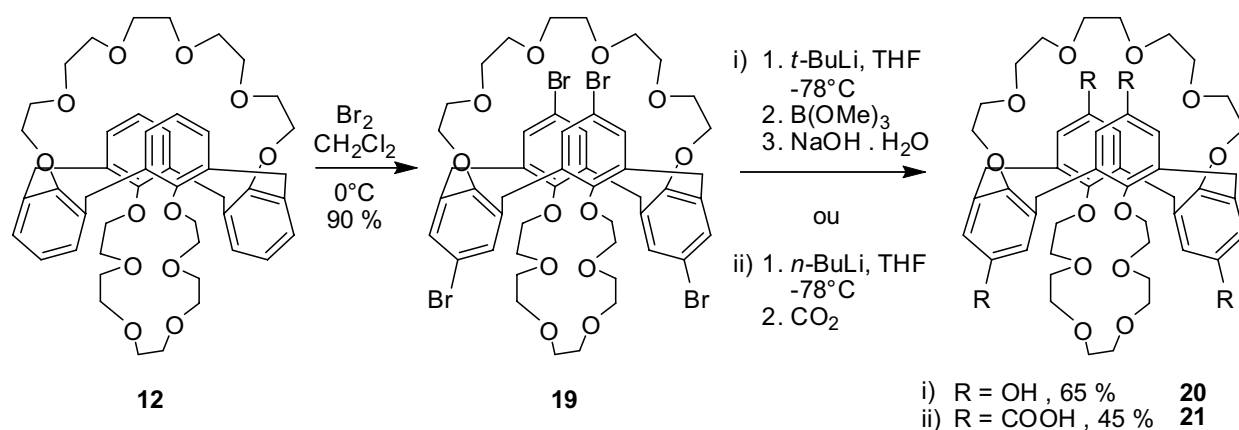


Figure 4-9. Synthèse de calix[4]arènes bis-couronnes hydroxylés et carboxylés.

Une des voies de synthèse décrite⁴⁹ consiste en la bromation sélective en *para* des oxygènes du calix[4]arène bis-couronne en présence de dibrome dans le dichlorométhane à 0°C. Le composé tétrabromé **19** est un intermédiaire clé dans l'obtention de composés hydroxylés ou carboxylés, via des réactions d'échange lithium-brome à -78°C dans le THF entre le dérivé bromé et une base lithiée. Le piégeage de l'espèce lithiée par B(OMe)₃, suivi d'une oxydation en milieu basique et d'une hydrolyse acide⁵⁰ conduisent à l'obtention du dérivé tétrahydroxylé **20**. Le dérivé carboxylé **21** est synthétisé par piégeage de l'intermédiaire lithié avec du CO₂ sec (*cf.* Figure 4-9).⁵¹

En milieu aqueux basique (pH = 11 imposé par de la soude 0,01 M), il a été montré par spectroscopie d'absorption UV-visible que **20** et **21** forment un complexe de stoechiométrie 1:1. Les constantes de stabilité des complexes, exprimées en log K_{11} , sont respectivement de 5,63 et 4,78

avec le césium. La sélectivité n'est cependant pas excellente, le rapport des constantes de stabilité des complexes de césium et de potassium n'étant que de 10 environ.

Par conséquent, ces composés sont certes de bons complexants, mais relativement peu sélectifs. Par ailleurs, l'incorporation de groupements carboxylates ou hydroxyles ionisables en milieu aqueux implique de travailler à un pH fixé, de préférence basique pour avoir une solubilité suffisante. Un fort effet du pH sur les propriétés complexantes est également à craindre. A l'inverse, les groupements sulfonates ne présentent pas de tels inconvénients.

I.3.3. Ionophores sulfonés

En milieu aqueux, les groupements acides sulfoniques se déprotonent très facilement. En effet, le pK_a du couple de l'acide benzènesulfonique ($C_6H_5SO_3H/C_6H_5SO_3^-$) est de 0,7.⁴⁸ La protonation des fonctions sulfonates n'a donc lieu qu'à des pH extrêmement acides. Aussi, ces groupements sont largement utilisés pour leurs propriétés hydrophiles, notamment dans la synthèse de tensioactifs. Ils sont donc parfaitement adaptés à la synthèse de composés complexants du césium, hydrosolubles et peu sensibles au pH.

Plusieurs méthodes permettent la fonctionnalisation de la position *para* par des groupements sulfonates : la sulfonation directe, l'*ipso*-sulfonation d'un *tert*-butylcalixarène, et la chlorosulfonation.⁵² Ainsi, une méthode classique consiste à faire réagir à température ambiante le calixarène bis-couronne **12** en milieu acide sulfurique concentré 96 %.^{53,54} Néanmoins, ces conditions expérimentales sont particulièrement dures. Lemaire *et al.* ont pu réaliser cette réaction dans des conditions plus douces en deux étapes avec des rendements satisfaisants.⁵⁵ Le composé tétrasulfoné **23** est obtenu avec un rendement global de 51 % via l'intermédiaire chlorosulfoné **22** (*cf.* Figure 4-10).

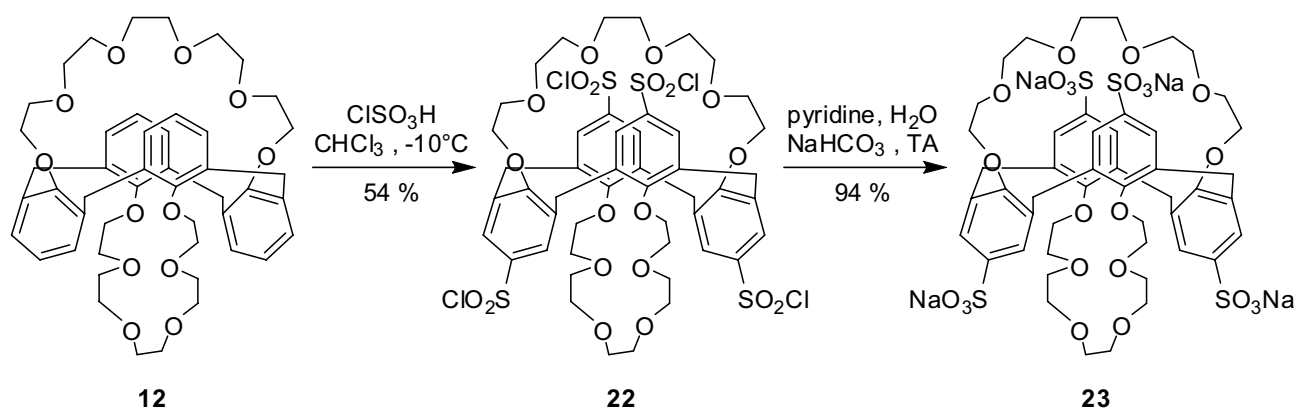
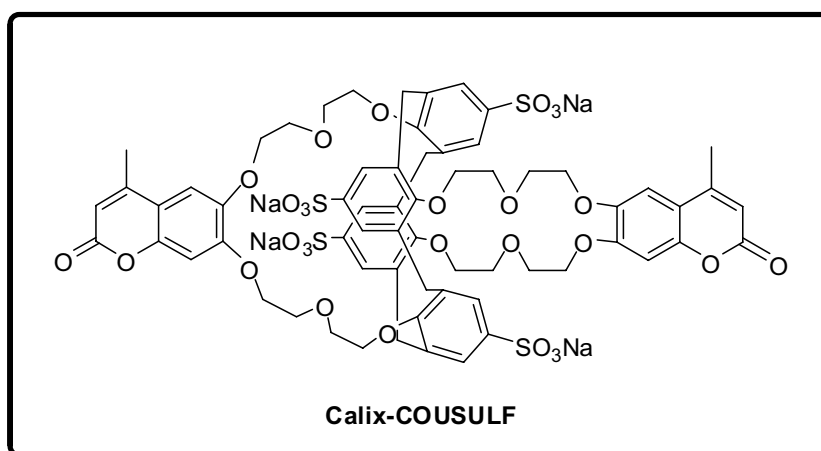


Figure 4-10. Synthèse de calix[4]arènes bis-couronnes sulfonés.

Le composé **23** complexe le césium en milieu aqueux à $pH = 11$ avec une constante de $3,2 \times 10^4$. Cette valeur est légèrement plus faible que celle mesurée pour les composés hydroxylés ou carboxylés. Pourtant, l'insensibilité de ces composés en fonction du pH en fait de très bons candidats pour développer de nouveaux senseurs fluorescents hydrosolubles sélectifs du césium.

I.4. Vers la conception d'un nouveau senseur fluorescent hydrosoluble

Les calix[4]arènes bis-couronnes(6) en conformation 1,3-alternée constituent l'une des architectures supramoléculaires les plus adaptées à la complexation du césium. D'autre part, le fluoroionophore Calix-COU2 développé au sein de l'équipe a montré d'intéressantes propriétés complexantes et photophysiques en milieu organique en présence de césium. Enfin, certaines méthodologies de synthèse permettent de fonctionnaliser les calixarènes par des groupements sulfonates hydrosolubles, non sensibles au pH, et ce dans des conditions réactionnelles douces. La synthèse et l'étude des propriétés photophysiques et complexantes d'un tout nouveau calix[4]arène bis-couronne(6), avec deux coumarines fluorescentes incluses dans chacune des couronnes et quatre groupements sulfonates (Calix-COUSULF) ont donc été entreprises.



II. Synthèse de la sonde Calix-COUSULF

II.1. Analyse rétrosynthétique

La voie rétrosynthétique envisagée (*cf.* Figure 4-11) pour l'obtention du calixarène Calix-COUSULF consiste à fonctionnaliser le calixarène par les groupements sulfonates lors de l'ultime étape de synthèse. En effet, la présence de groupements hydrosolubles dès le début de la synthèse risque, d'une part de compliquer les étapes de purification des produits intermédiaires, et d'autre part, de poser des problèmes de réactivité dus à la faible solubilité des sulfonates en milieu organique. Quant au calixarène bis-couronne en conformation 1,3-alternée, sa formation peut s'effectuer par alkylation du calix[4]arène avec un dérivé coumarinique substitué par deux bons groupes partants, lui-même étant synthétisé à partir de la 6,7-dihydroxy-4-méthylcoumarine commerciale.

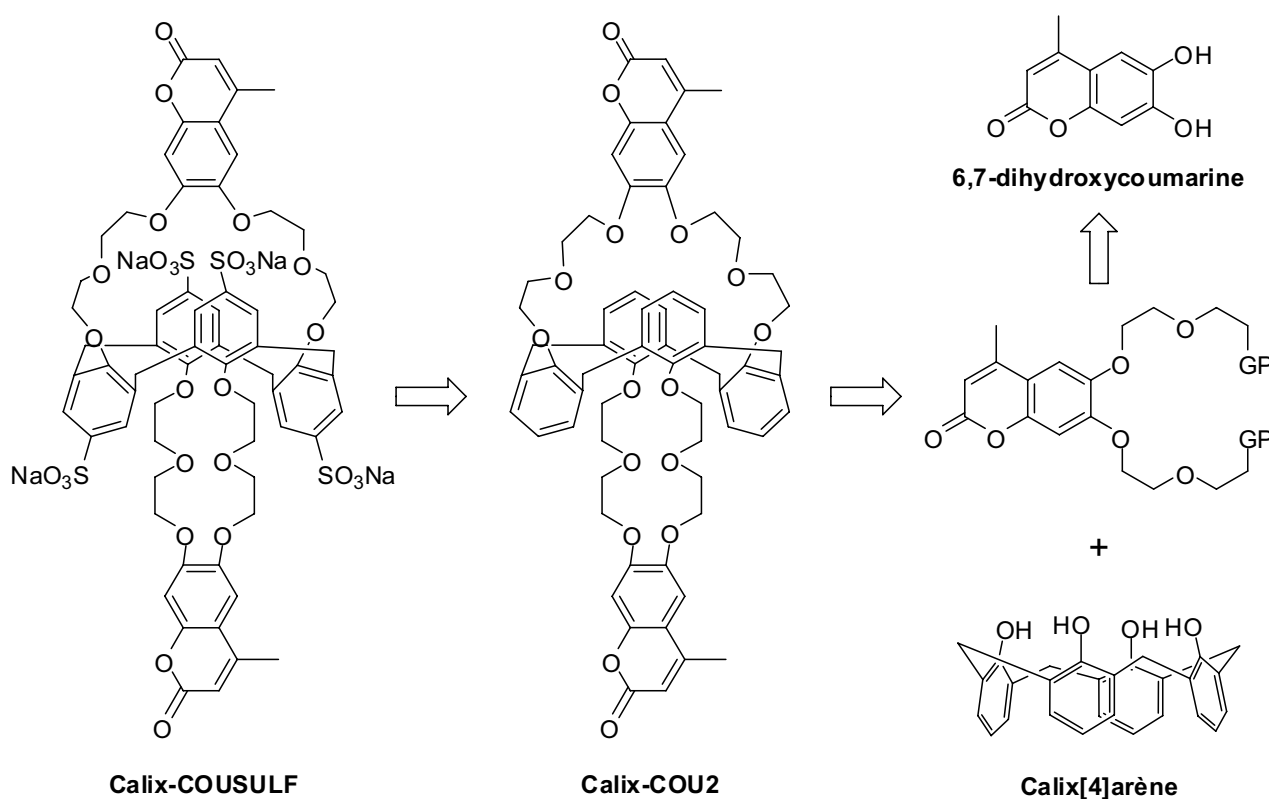


Figure 4-11. Analyse rétrosynthétique pour l'obtention du composé Calix-COUSULF.

II.2. Synthèse du fluoroionophore Calix-COUSULF

La synthèse de ce nouveau fluoroionophore sulfoné (*cf.* Figure 4-12) reprend les étapes de synthèse du composé Calix-COU2 précédemment décrites.³¹ Dans un premier temps, la 6,7-dihydroxy-4-méthylcoumarine **24** est alkylée par substitution nucléophile sur le 2-(2-chloro)éthoxyéthanol dans l'acétonitrile au reflux en présence de carbonate de potassium avec un rendement de 37 %. La réaction du diol **25** avec le chlorure de tosyloxy dans le dichlorométhane en présence d'une amine tertiaire (triéthylamine) permet l'obtention de deux bons groupes partants avec un rendement satisfaisant de 74 %. Le greffage de ce composé ditosylé **26** sur le calix[4]arène conduit, par effet template du potassium au reflux de l'acétonitrile en présence de K_2CO_3 , à la formation du

calix[4]arène bis-couronne Calix-COU2 avec un rendement de 43 %. La conformation 1,3-alternée est confirmée par l'équivalence magnétique constatée en RMN ^1H pour les protons des ponts méthylènes CH_2 du squelette calixarène (un seul signal singulet intégrant pour 8 protons à 3,78 ppm dans CDCl_3).

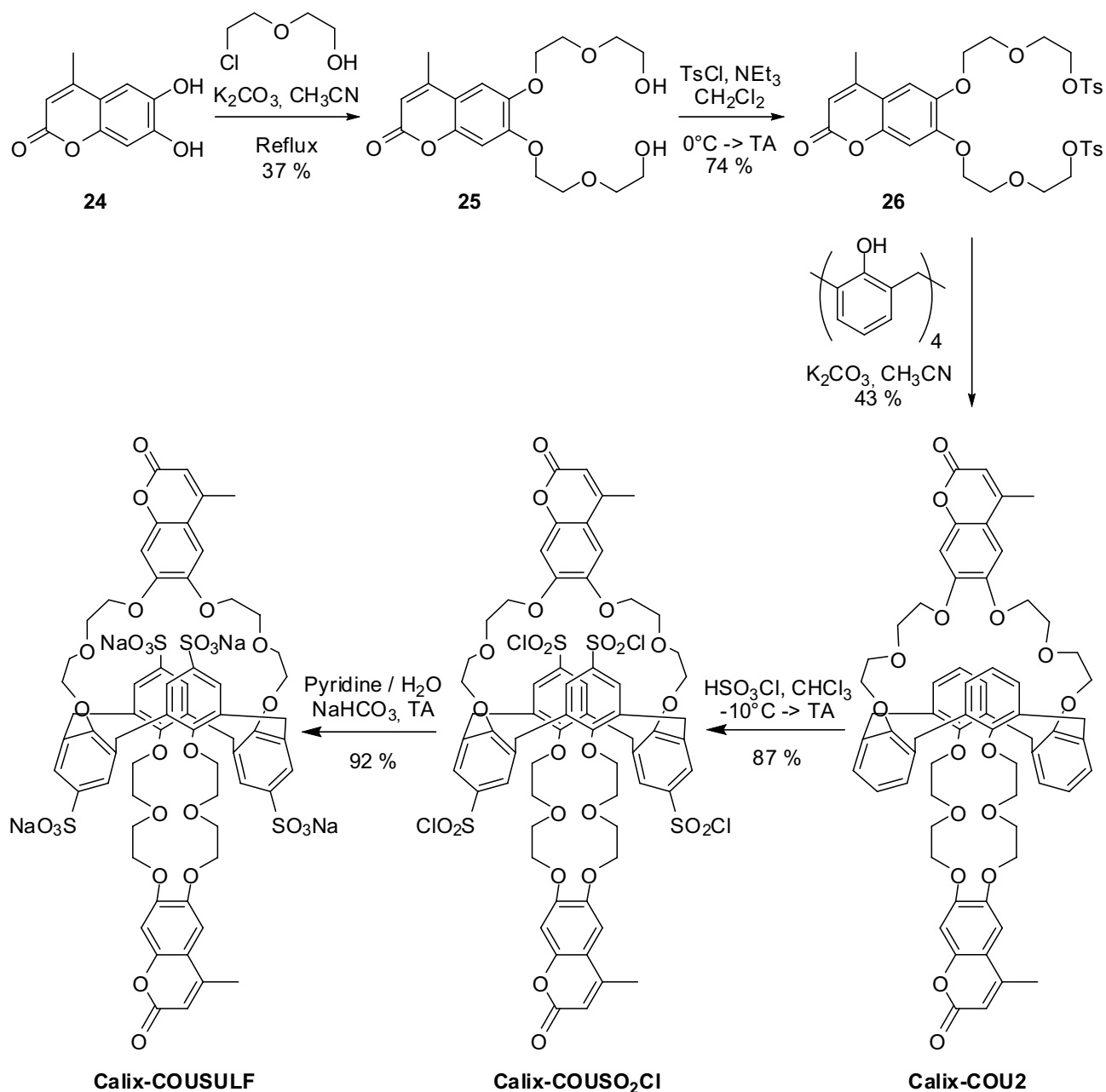


Figure 4-12. Synthèse du composé Calix-COUSULF.

La sulfonation du calixarène bis-couronne Calix-COU2 s'effectue en deux étapes, conformément aux conditions opératoires mises au point par Lemaire *et al.*,⁵⁵ reprises récemment par Vicens *et al.* pour la sulfonation de calix[4]arènes 1,2;3,4-bis-couronne en conformation cône.⁵⁶ Ainsi, l'intermédiaire Calix-COUSO₂Cl est obtenu avec un excellent rendement de 87 % par chlorosulfonylation dans le chloroforme à -10°C. L'hydrolyse de ce composé en milieu aqueux en présence de pyridine conduit, après neutralisation avec NaHCO₃ à la formation du tétrasulfonate de sodium Calix-COUSULF. Ce dernier est obtenu de manière quasi-quantitative après purification par

précipitation dans l'acétone. L'utilisation de conditions douces pour la sulfonation du calixarène permet l'obtention du produit désiré sans que la sulfonation de la coumarine n'ait lieu.

A l'instar du calixarène bis-couronne Calix-COU2, les protons des ponts méthylènes du calixarènes sont magnétiquement équivalents puisqu'un signal singulet intégrant pour 8 protons est observé à 4,07 ppm par RMN ^1H dans D_2O . Cependant, il est intéressant de noter que la coumarine introduite dans la couronne n'est pas symétrique. L'analyse des spectres RMN ^1H montre d'ailleurs dans la zone entre 3,75 et 3,96 ppm des massifs intégrant pour 4 protons, ce qui est justifié par le fait que les protons des groupements CH_2 des ponts éthylène glycol ne sont pas forcément tous équivalents, selon qu'ils se trouvent sur les ponts éthylène glycol en position 6 ou en position 7 de la coumarine.

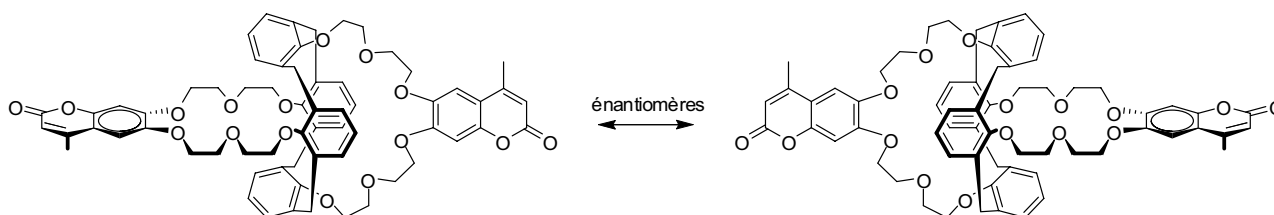


Figure 4-13. Formes énantiomères obtenues lors de la synthèse de Calix-COU2.

Dernièrement, l'introduction de la coumarine dissymétrique implique que deux atropoisomères sont obtenus lors de la formation de la bis-couronne, vraisemblablement en mélange racémique (*cf.* Figure 4-13). Même si l'affinité de chaque énantiomère pour une espèce chirale risque d'être différente, les propriétés complexantes et photophysiques des deux énantiomères vis-à-vis d'un cation (achiral) demeurent identiques.

III. Propriétés complexantes et photophysiques

III.1. Etude préliminaire du ligand Calix-COUSULF en milieu aqueux

III.1.1. Etude dans l'eau : influence du sodium et du pH

Propriétés photophysiques dans l'eau millipore

Le composé Calix-COUSULF est très soluble en milieu totalement aqueux aux concentrations nécessaires pour la spectroscopie de fluorescence (10^{-6} à 10^{-5} mol L⁻¹). Son coefficient d'absorption molaire dans l'eau est de 19800 mol⁻¹ L cm⁻¹ et le maximum d'absorption se situe à 334 nm. Le spectre de fluorescence obtenu en excitant à 337 nm fait apparaître une large bande à transfert de charge dont le maximum se trouve à 423 nm. Le rendement quantique de fluorescence dans l'eau est relativement élevé et atteint 0,39. Ces valeurs sont comparables à celles rapportées pour Calix-COU2 dans l'éthanol (22200 mol L⁻¹ cm⁻¹ à 335 nm). Seul le rendement quantique est légèrement supérieur (0,39 contre 0,29). Le déclin de fluorescence du composé enregistré au maximum de la bande d'émission est monoexponentiel et la durée de vie mesurée est de $3,63 \pm 0,02$ ns ($\chi^2 = 1,27$).

Propriétés complexantes avec le sodium et rôle du pH

Lors de sa synthèse, Calix-COUSULF est obtenu sous la forme d'un tétrasulfonate de sodium à la suite d'une neutralisation par l'hydrogénocarbonate de sodium. Dans l'eau pure, il n'est donc pas exclu que le ligand soit complexé par les ions sodium qu'il apporte lui-même dans le milieu. Afin d'évaluer les propriétés complexantes de Calix-COUSULF avec le sodium, des expériences ont été réalisées en milieu tamponné à pH = 7, en utilisant un tampon dépourvu de cations métalliques lutidine-HClO₄ 50 mM. Il a été montré qu'aucun effet photophysique significatif n'est observé pour des concentrations en sodium inférieures à 25 mM. Cette concentration doit atteindre 50 mM pour qu'une exaltation de fluorescence supérieure à 10 % soit observée.

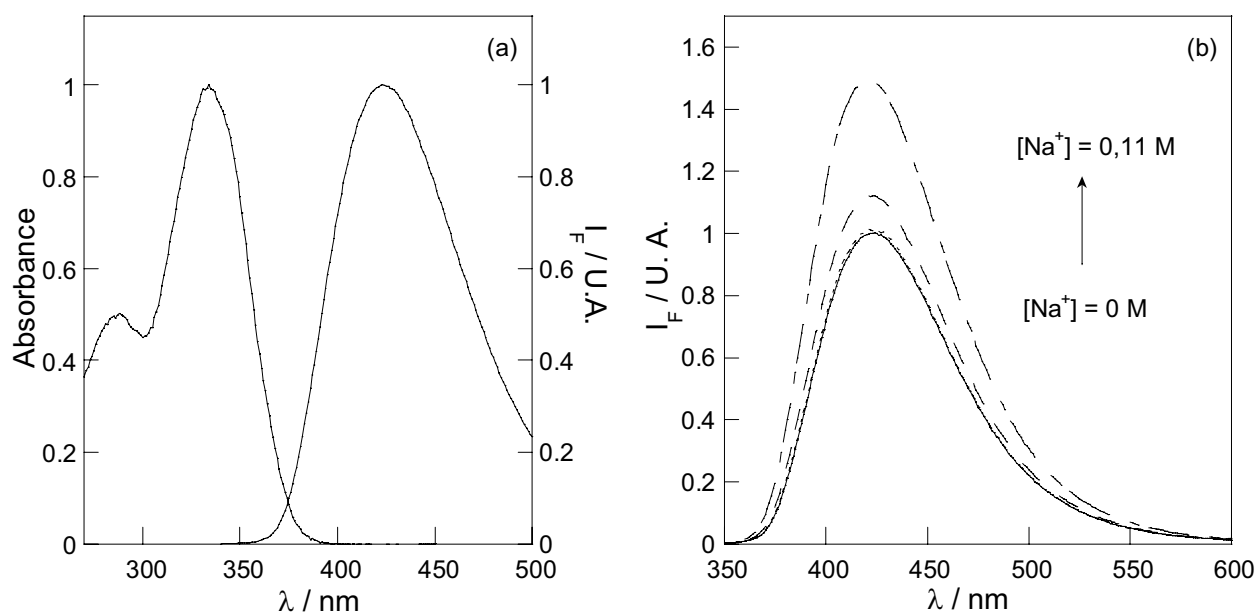


Figure 4-14. (a) Spectres d'absorption et de fluorescence normés de Calix-COUSULF dans l'eau ($[L] = 3,9 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc} = 337$ nm) ; (b) Spectres de fluorescence de Calix-COUSULF dans un tampon lutidine 50 mM équilibré à pH = 7 par HClO₄ en présence de NaClO₄ ($[L] = 5,5 \mu\text{M}$, $\lambda_{exc} = 337$ nm).

L'effet du pH sur les propriétés photophysiques a également été évalué pour une gamme de pH comprise entre 6 et 9, par ajout de soude dans un milieu contenant le ligand Calix-COUSULF dans de l'eau millipore. Aucune modification spectrale n'est à noter, ni en absorption, ni en émission.

III.1.2. Choix du milieu et étude du ligand

L'absence d'effets du pH et de concentrations en ions sodium égales à 25 mM sur les propriétés photophysiques de Calix-COUSULF, nous a permis d'envisager l'étude de ce ligand dans un milieu compatible avec des études en biologie cellulaire (en terme de type de tampon et de pH). Notre choix s'est porté sur un milieu totalement aqueux, dont le pH est fixé à 7 par un tampon de type MES à 50 mM,^a équilibré au pH souhaité par ajout de 25 mM de NaOH. Sauf mention contraire, toutes les expériences décrites ci-après seront réalisées dans ce milieu.

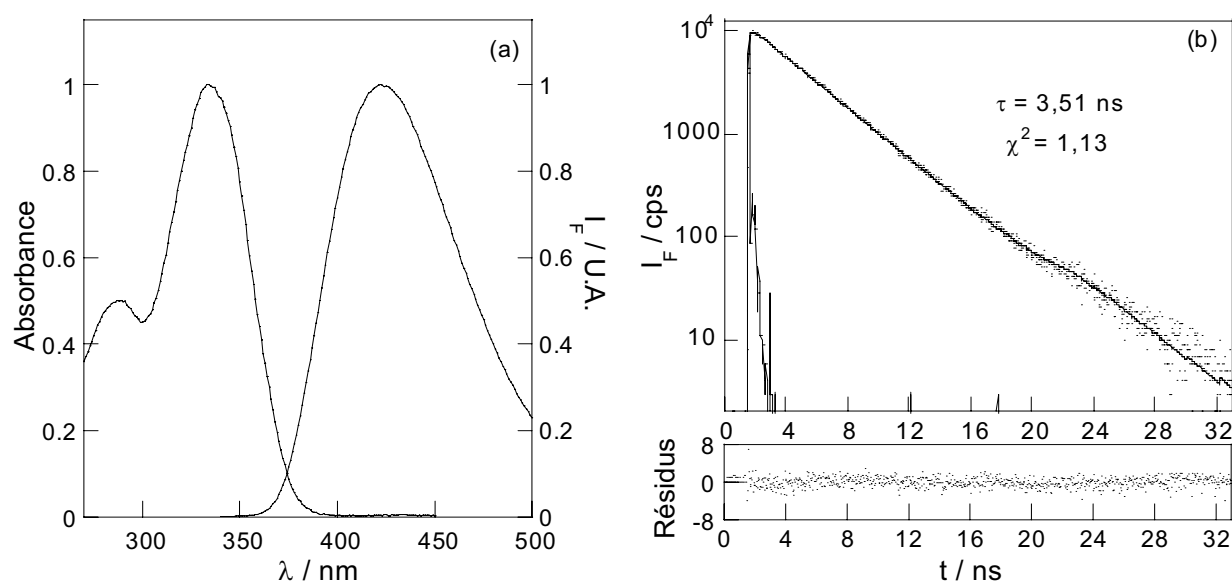


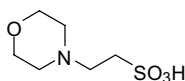
Figure 4-15. (a) spectres d'absorption et de fluorescence normés de Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH ($[L] = 5,2 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 337 \text{ nm}$) ; (b) déclin de fluorescence de Calix-COUSULF dans MES-NaOH ($\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 420 \text{ nm}$, 39 ps canal⁻¹).

Milieu	Eau millipore	Tampon MES-NaOH
$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$ (nm) *	334	334
ε (mol ⁻¹ L cm ⁻¹) **	19 800	20 200
$\lambda_{\text{max}}^{\text{ém}}$ (nm) *	423	423
Φ_{F} **	0,39	0,40
τ (ns)	$3,63 \pm 0,02$	$3,51 \pm 0,04$
k_{r} (s ⁻¹)	$1,07 \pm 0,11 \times 10^8$	$1,14 \pm 0,13 \times 10^8$
k_{nr} (s ⁻¹)	$1,67 \pm 0,11 \times 10^8$	$1,71 \pm 0,2 \times 10^8$

* déterminé à $\pm 1 \text{ nm}$, ** déterminé à $\pm 10 \%$

Tableau 4-5. Récapitulatif des principales constantes photophysiques pour Calix-COUSULF dans différents milieux.

^a MES = acide 2-morpholinoethanesulfonique



Dans le tampon MES-NaOH 50 mM à pH = 7, les propriétés photophysiques de Calix-COUSULF sont très comparables à celles enregistrées dans l'eau pure. En effet, le coefficient d'absorption molaire au maximum de la bande d'absorption à 334 nm est de $20200 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Le rendement quantique de fluorescence vaut 0,4 et le maximum de fluorescence est atteint pour $\lambda_{\text{em}} = 423 \text{ nm}$. Le déclin de fluorescence est également monoexponentiel ; la durée de vie correspondante est de $3,51 \pm 0,04 \text{ ns}$ ($\chi^2 = 1,13$). Les principales constantes photophysiques du ligand dans l'eau et dans le tampon MES-NaOH sont récapitulées dans le Tableau 4-5. Les valeurs des constantes de vitesse radiatives et non radiatives sont calculées à partir des valeurs du rendement quantique de fluorescence Φ_F et de la durée de vie de l'état excité τ (*cf.* Chapitre 1).

Le composé Calix-COUSULF présente des propriétés très intéressantes dans le tampon MES-NaOH à pH = 7 pour une application en tant que fluoroionophore de type PCT. En effet, la sensibilité de détection par fluorescence est d'autant plus grande que l'efficacité d'absorption et le nombre de photons émis par photon absorbé sont grands. Grâce à un produit $\varepsilon \times \Phi_F$ élevé, le signal de fluorescence mesuré pour Calix-COUSULF est particulièrement intense, suggérant ainsi la possibilité de travailler à faible concentration en sonde pour la détection de très faibles quantités de métal. D'autre part, le déplacement de Stokes est de 88 nm ce qui laisse supposer un transfert de charge efficace lors du passage à l'état excité. La présence d'un cation à proximité des oxygènes donneurs de la coumarine est donc fortement susceptible d'induire des modifications majeures des propriétés photophysiques des fluorophores coumarines.

III.2. Complexation du césium en milieu MES-NaOH à pH = 7

Les propriétés complexantes de Calix-COUSULF pour le césium ont été l'objet d'études approfondies par absorption UV-visible, fluorescence stationnaire et résolue en temps et RMN ^1H . Elles mettent en évidence une très bonne affinité pour le césium en milieu aqueux et soulignent le rôle majeur des groupements sulfonates dans la complexation. Un modèle permettant d'expliquer les effets observés sera proposé.

III.2.1. Etudes spectroscopiques

Dans ce paragraphe seront décrits les effets photophysiques induits par le césium dans un milieu tampon MES-NaOH 50 mM à pH = 7. Les principaux paramètres thermodynamiques (constantes de formation) et photophysiques des complexes formés par Calix-COUSULF avec le césium seront déterminés.

Etude par spectroscopie d'absorption

Les spectres d'absorption de Calix-COUSULF dans le milieu tampon MES-NaOH sont enregistrés pour différentes concentrations en césium Cs^+ par ajouts croissants d'une solution concentrée d'acétate de césium $\text{Cs}(\text{OAc})$. La concentration en ligand est maintenue constante tout au long du dosage ($[\text{L}] = 3,3 \times 10^{-5} \text{ M}$). Les cinétiques de complexation sont suffisamment rapides à 20°C pour se dérouler dans le temps du mélange de la solution.

La complexation du césium par Calix-COUSULF induit un déplacement bathochrome des spectres d'absorption de 10 nm, ainsi qu'une légère augmentation du coefficient molaire d'absorption (*cf.* Figure 4-16). La présence d'un point isosbestique à 337 nm est également à signaler. La plupart des spectres de fluorescence présentés par la suite seront enregistrés après

excitation à cette longueur d'onde, aucune correction due à une variation d'absorbance n'étant nécessaire.

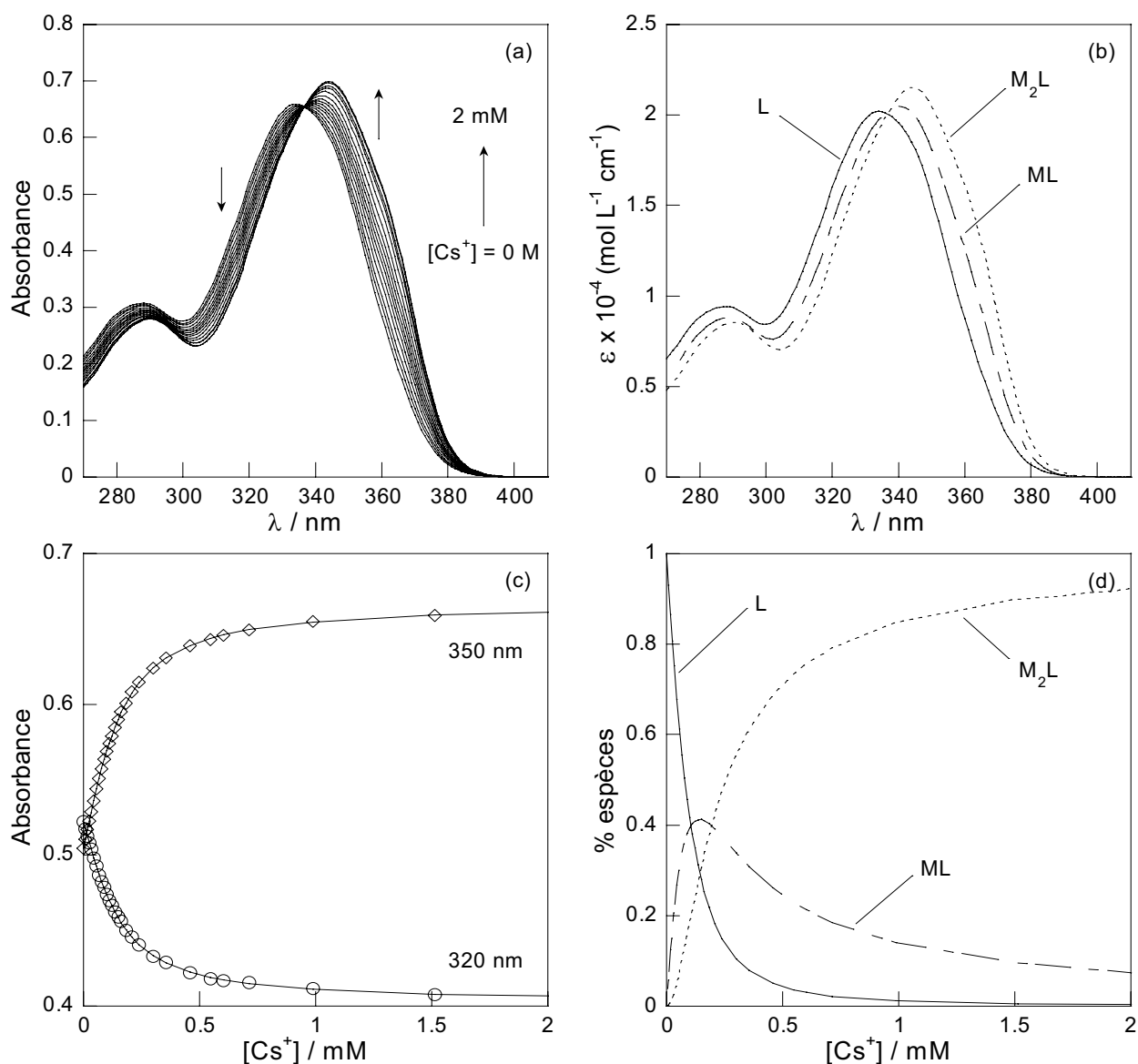


Figure 4-16. (a) Evolution des spectres d'absorption de Calix-COUSULF avec l'ajout de CsOAc dans le tampon MES-NaOH, $[L] = 33 \mu\text{M}$; (b) spectres d'absorption du ligand L et des complexes de césium ML et M_2L reconstruits par le logiciel SPECFIT™; (c) ajustement numérique à 320 nm et 350 nm; (d) diagramme de spéciation de Calix-COUSULF avec l'ajout de césium.

L'ajustement numérique avec le logiciel SPECFIT™ est optimal lorsque le modèle fait intervenir trois espèces qui absorbent la lumière : le ligand, et deux complexes de stoechiométrie respective 1:1 et 2:1 (métal:ligand). Ces stoechiométries se justifient par les résultats obtenus précédemment avec le calixarène bis-couronne Calix-COU2 et seront confirmées par les résultats obtenus par fluorescence stationnaire (paragraphe suivant).

Les valeurs des constantes de formation de ces complexes, correspondant aux équilibres définis précédemment (eq. 4-1 et eq. 4-2), ont pu être déterminées ainsi que les spectres respectifs de chaque espèce (*cf.* Figure 4-16).

$\log K_{11}$	$\log K_{21}$	$\log \beta_{21}$	K_{21}/K_{11}
$4,10 \pm 0,04$	$3,82 \pm 0,05$	$7,92 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,29$

Tableau 4-6. Constantes de formation déterminées par absorption pour les complexes ML et M₂L entre Calix-COUSULF et le césium dans le tampon MES-NaOH à pH = 7.

Les valeurs des constantes de stabilité des complexes formés (Tableau 4-6) sont du même ordre de grandeur que celle de la littérature pour le calixarène sulfoné **23** à pH = 11. Elles sont logiquement très inférieures à celles des composés Calix-COU1 et Calix-COU2 dans l'éthanol, l'eau étant un solvant particulièrement dissociant et peu favorable à des constantes de complexation élevées. Le diagramme de spéciation de Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH montre qu'il n'existe pas de concentration en césium pour laquelle le complexe de stoechiométrie 1:1 est très majoritaire.

Le rapport des deux constantes K_{21} et K_{11} est de $0,5 \pm 0,29$. Lorsqu'un ligand possède deux sites de complexation de même affinité pour un cation et indépendants, ce rapport vaut en théorie 0,25.⁵⁷ Aux erreurs expérimentales près, les deux couronnes semblent donc quasiment équivalentes du point de vue de la complexation : l'insertion du second cation se fait aussi « facilement » que celle du premier. Le comportement de Calix-COUSULF vis-à-vis d'un second cation Cs⁺ est très différent de celui observé pour l'analogue non-sulfoné Calix-COU2 où l'effet anti-coopératif était particulièrement important (le rapport de K_{21} et K_{11} est seulement de $1,3 \times 10^{-3}$). Ceci s'explique par la présence des quatre groupements sulfonates qui écrantent la charge positive de chaque cation Cs⁺. La répulsion entre ces deux cations s'avère par conséquent quasiment nulle. Le fait que le spectre d'absorption du complexe ML soit quasiment égal à la demi-somme des spectres du ligand libre et du complexe M₂L, est également la preuve de l'équivalence des deux sites de complexation : les effets photophysiques en absorption observés lors de la complexation du premier et du second cation sont identiques.

Etude par spectroscopie de fluorescence stationnaire

Une étude similaire à celle réalisée en absorption a été entreprise. Suivant une méthodologie identique, mais à des concentrations en ligand plus faibles de manière à ne pas excéder 0,1 en absorbance au point d'excitation ($[L] = 5,2 \times 10^{-6}$ M), des ajouts successifs d'acétate de césium sont réalisés. Les spectres de fluorescence stationnaire obtenus par excitation au point isosbestique à 337 nm sont présentés sur la Figure 4-17 ci-dessous. Aucune correction de l'absorbance n'est nécessaire.

La complexation de Calix-COUSULF par le césium provoque une exaltation de fluorescence de 19 %, ainsi qu'un léger déplacement hypsochrome des spectres d'émission (4 nm). L'analyse globale du faisceau de spectres par le logiciel SPECFIT™ avec un modèle à trois espèces (L, ML et M₂L) conduit à un très bon ajustement numérique. Les spectres de chacune de ces espèces sont représentés sur la Figure 4-17 (b). Les constantes de stabilité calculées sont regroupées dans le Tableau 4-7.

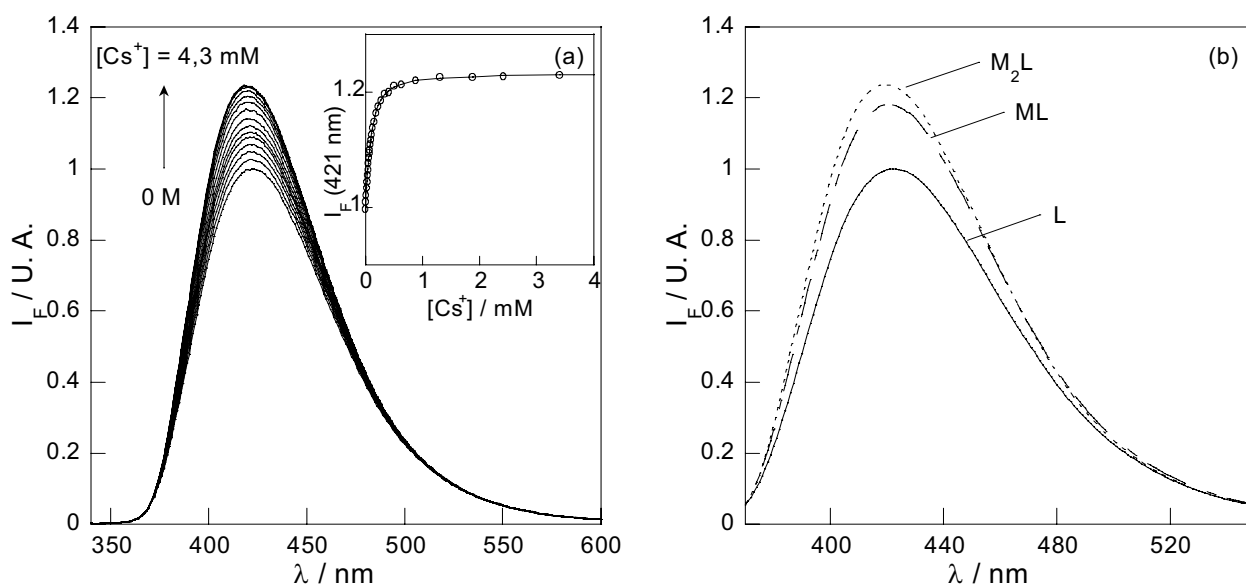


Figure 4-17. (a) Evolution des spectres d'émission de Calix-COUSULF avec l'ajout de CsOAc dans le tampon MES-NaOH 50 mM ($[L] = 5,2 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 337 \text{ nm}$) – Encadré : ajustement numérique à 421 nm ; (b) spectres d'émission du ligand L et des complexes de césium ML et M_2L reconstruits par le logiciel SPECFIT™.

Ces valeurs sont identiques à celles trouvées en absorption, à l'erreur expérimentale près. Cela ne signifie pas nécessairement que les constantes de stabilité à l'état excité sont les mêmes qu'à l'état fondamental, mais seulement que l'équilibre de complexation à l'état excité n'est pas atteint pendant la durée de vie de celui-ci (3,5 ns). Par ailleurs, là où les mesures en absorption reflétaient l'équivalence des deux sites de complexation à l'état fondamental, il en est tout autre à l'état excité : les effets photophysiques associés à la complexation du second cation ne sont pas identiques à ceux observés lors de la complexation du premier. Ces aspects seront discutés ultérieurement dans le cadre du modèle proposé dans le paragraphe III.3.

$\log K_{11}$	$\log K_{21}$	$\log \beta_{21}$	K_{21}/K_{11}
$4,03 \pm 0,02$	$3,79 \pm 0,05$	$7,82 \pm 0,05$	$0,57 \pm 0,21$

Tableau 4-7. Constantes de formation déterminées par fluorescence stationnaire pour les complexes ML et M_2L entre Calix-COUSULF et le césium dans le tampon MES-NaOH 50 mM à pH = 7.

Etude par spectroscopie de fluorescence résolue en temps

Les mesures de déclin de fluorescence sont réalisées pour les complexes de césium en excitant à 330 nm. Compte tenu des constantes de stabilité déterminées dans le tampon MES-NaOH 50 mM à pH = 7, le complexe ML est majoritaire lorsque la concentration totale en césium atteint $1,3 \times 10^{-4}$ M ($[L] = 5,2 \mu\text{M}$), sans toutefois que sa concentration n'excède 50 % de la concentration totale en ligand (50 % de ML, 25 % de L et de M_2L). Des mesures de durée de vie ont été entreprises dans ce domaine de concentration (Figure 4-18 (a)). De plus, en large excès de césium (10^{-2} M) par rapport au ligand ($[L] = 5,2 \mu\text{M}$), le complexe de stoechiométrie 2:1 est largement majoritaire. Le déclin à 420 nm a donc également été enregistré dans ces conditions.

L'analyse du déclin en présence d'un très large excès de césium avec le logiciel GLOBALS permet un ajustement numérique satisfaisant avec une unique exponentielle ($\tau = 3,73 \text{ ns}$, $\chi^2 = 1,14$). Cette durée de vie est légèrement supérieure à celle du ligand seul (3,51 ns). Si la durée de vie

courte peut être attribuée à celle d'un fluorophore libre, la plus longue correspond à celle d'un fluorophore complexé sous la forme M_2L . Pour une concentration en césium intermédiaire où le complexe ML est majoritaire, un ajustement numérique avec une seule exponentielle convient parfaitement ($\tau = 3,75$ ns, $\chi^2 = 1,21$). Cela implique qu'une analyse globale en fonction de la concentration en césium n'est pas réalisable. Les deux durées de vie de 3,51 et 3,73 ns étant trop proches l'une de l'autre, la modélisation des déclinés par une somme discrète d'exponentielles (par exemple avec deux durées de vie : celle de la coumarine libre et celle de la coumarine complexée) conduirait à des résultats non significatifs. Ce genre d'étude avait pu être réalisé pour le composé non sulfoné Calix-COU2, où le passage du cation dans la cavité hydrophobe du calixarène avait ainsi pu être mis en évidence dans le complexe de stoechiométrie 1:1.⁵⁸

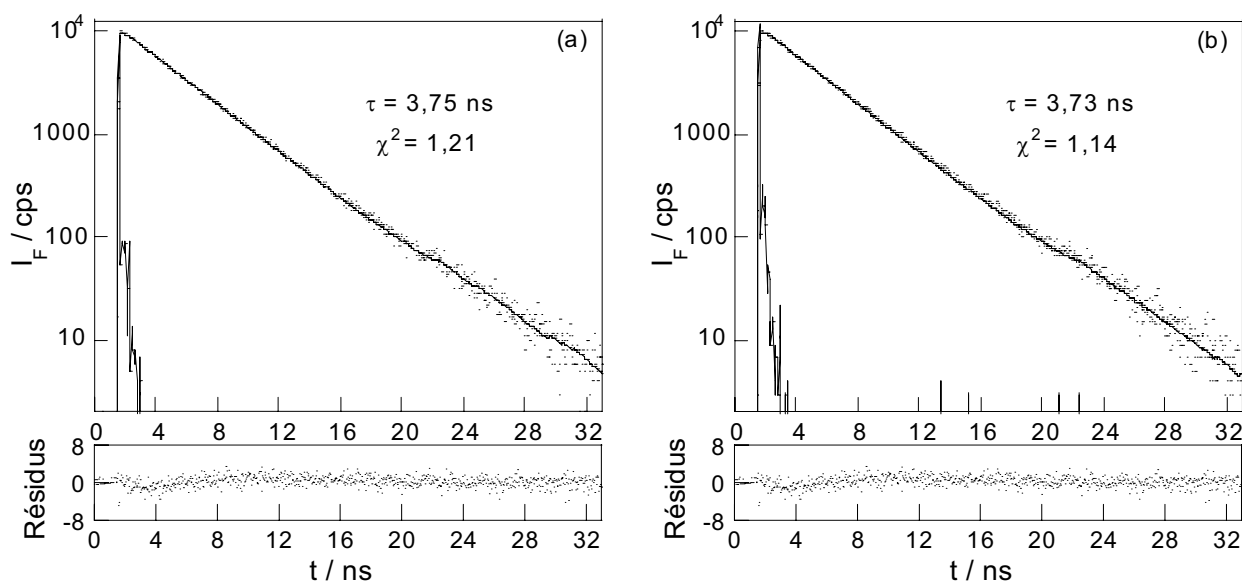


Figure 4-18. Déclinés de fluorescence de Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH 50 mM à pH = 7 en présence de (a) $1,3 \times 10^{-3}$ M et (b) 2×10^{-2} M d'acétate de césium ; ($\lambda_{exc} = 330$ nm, $\lambda_{ém} = 420$ nm, 49 et 39 ps canal⁻¹ respectivement).

Espèce	L	M_2L
λ_{max}^{abs} (nm) [*]	334	344
ϵ (mol ⁻¹ L cm ⁻¹) ^{**}	10 100	10 760
$\lambda_{max}^{ém}$ (nm) [*]	423	419
Φ_F ^{**}	0,40	0,47
τ (ns)	$3,51 \pm 0,04$	$3,73 \pm 0,04$
k_r (s ⁻¹)	$1,14 \pm 0,13 \times 10^8$	$1,23 \pm 0,14 \times 10^8$
k_{nr} (s ⁻¹)	$1,71 \pm 0,2 \times 10^8$	$1,44 \pm 0,17 \times 10^8$

^{*} déterminé à ± 1 nm, ^{**} déterminé à ± 10 %

Tableau 4-8. Récapitulatif des principales constantes photophysiques des complexes de Calix-COUSULF avec le césium dans le tampon MES-NaOH 50 mM à pH = 7.

Concernant l'augmentation de la durée de vie de l'état excité entre un fluorophore libre et un fluorophore complexé dans M_2L , elle est, en proportion, inférieure à celle constatée pour le rendement quantique de fluorescence (seulement 6 % contre 19 %). Alors que la constante de

vitesse radiative k_r n'est pas affectée aux erreurs expérimentales près, la complexation induit une diminution de la constante de vitesse de désexcitation non radiative k_{nr} (cf. Tableau 4-8). La rigidification du ligand du fait de la complexation est susceptible de justifier un tel comportement.

III.2.2. Etude par RMN ^1H

Les spectres RMN ^1H (300 MHz) de Calix-COUSULF dans l'eau deutérée D_2O sont réalisés en absence de césium et en présence d'un excès d'acétate de césium (4 équivalents). La concentration en ligand est maintenue constante égale à $1,3 \times 10^{-2}$ M. Le rapport métal/ligand est déterminé avec précision en divisant la valeur de l'intégrale des protons acétates avec ceux des groupements CH_3 des coumarines du ligand Calix-COUSULF. Dans ces conditions, le complexe M_2L est l'espèce très largement majoritaire en solution. Les spectres sont présentés sur la Figure 4-19, le déplacement chimique étant exprimé en ppm par rapport au TMS.

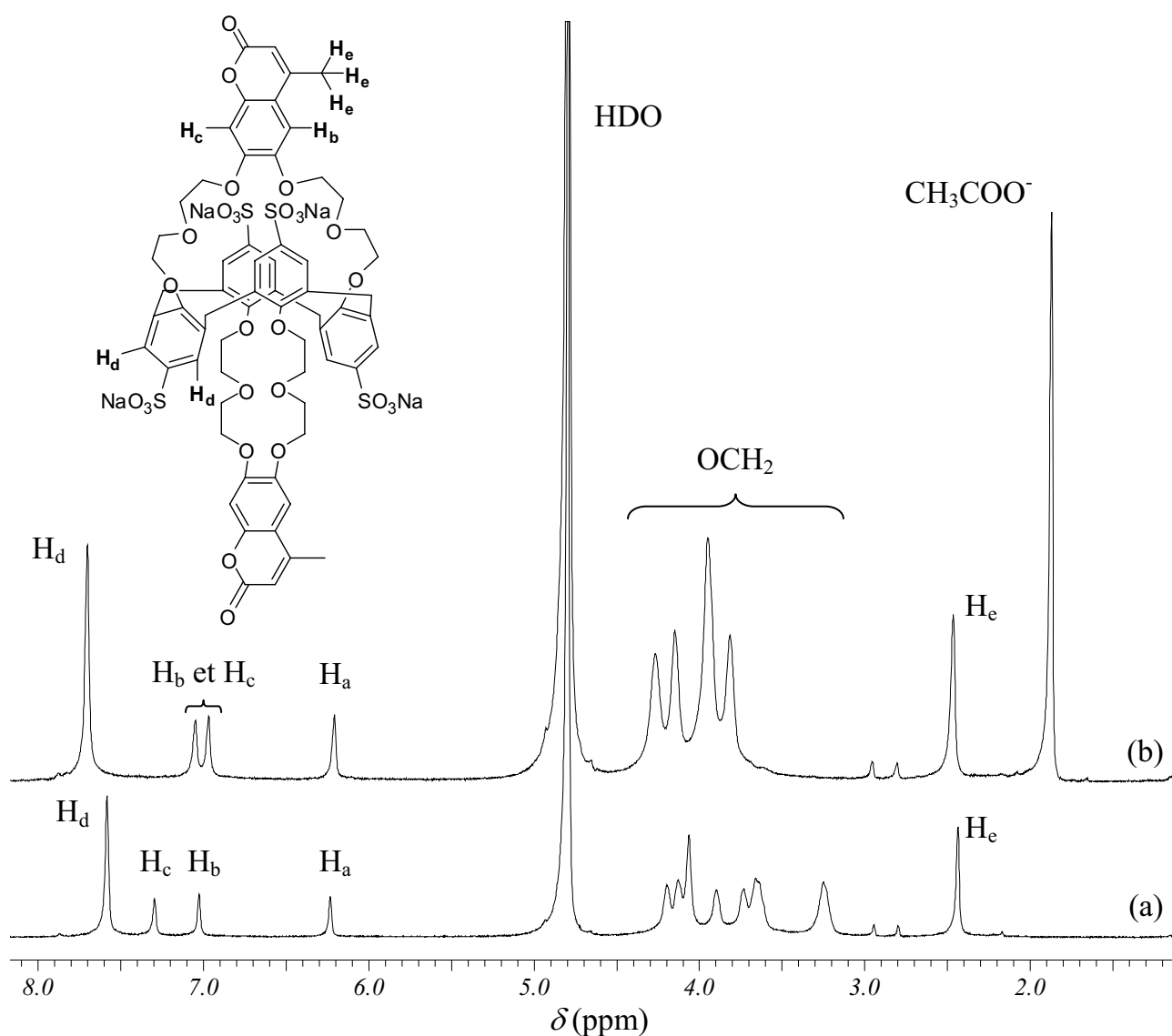


Figure 4-19. Spectres RMN ^1H (300 MHz, D_2O) du ligand Calix-COUSULF ($1,3 \times 10^{-2}$ M) en (a) absence de césium et (b) en présence d'acétate de césium ($[\text{Cs}^+] = 5,2 \times 10^{-2}$ M).

Dans la zone de déplacement chimique comprise entre 3 et 4,5 ppm apparaissent les signaux des hydrogènes des ponts éthylèneglycol OCH_2 . Le nombre important de ces groupements empêche une attribution rigoureuse de chaque massif. Lors de la complexation avec le césium, il est donc difficile de discuter des effets observés. La principale modification concerne le massif vers 3,25 ppm qui subit un déplacement important vers les forts déplacements chimiques. Les groupements méthyles de la coumarine sont en revanche peu perturbés par la présence d'un cation.

L'analyse de la zone des protons aromatiques est beaucoup plus riche en enseignements. Même si le déplacement chimique du proton vinylique de la coumarine H_a ne varie que très peu avec la complexation, des changements significatifs sont observés pour tous les autres protons aromatiques. Dans un premier temps, un déplacement considérable vers les hauts champs est observé pour l'un des protons du cycle benzénique de la coumarine (H_c). A l'inverse, les protons aromatiques du squelette calixarène H_d migrent de 0,11 ppm vers les bas champs du fait des interactions π entre le cation Cs^+ et les groupements phényles du calixarène en conformation 1,3-alternée.¹⁴

III.3. Modèle proposé pour la complexation du césium

III.3.1. Interprétation des résultats expérimentaux

Les effets photophysiques décrits dans le paragraphe III.2.1 lors de la complexation du césium sont particulièrement inattendus. En effet, le comportement du calixarène sulfoné Calix-COUSULF est foncièrement différent de celui de son analogue non sulfoné Calix-COU2. Tout d'abord, les spectres d'absorption de Calix-COUSULF sont déplacés vers le rouge avec l'ajout de césium alors que la présence d'un cation en interaction avec les oxygènes donneurs de la coumarine aurait dû induire un déplacement hypsochrome des spectres. De même, l'exaltation de fluorescence dans les complexes de césium est en opposition avec les résultats publiés sur le composé Calix-COU2, où une forte inhibition de fluorescence avait été constatée. La seule présence de groupements sulfonates en position *para* semble donc à l'origine de propriétés photophysiques pour Calix-COUSULF très différentes de celles de son analogue non sulfoné. Ce paragraphe a donc pour but de proposer un modèle susceptible d'expliquer les phénomènes observés pour le composé Calix-COUSULF par l'implication de deux groupements sulfonates dans la complexation du cation.

Le modèle proposé sur la Figure 4-20 consiste à considérer que les deux groupements sulfonates en position *para* des cycles benzéniques du calixarène sont impliqués dans la complexation d'un cation césium. Dans le cas de groupements carboxysulfonamides facilement ionisables, une telle participation a été mise en évidence par RMN ^1H dans certains calix[4]arènes bis-couronnes(6) pour la complexation du césium⁵⁹ et du thallium.⁶⁰ Du fait de l'implication de deux groupements sulfonates dans la complexation du cation césium, la présence de ce dernier au sein de la boucle complexante provoque par attraction électrostatique un rapprochement des deux groupements sulfonates chargés négativement. Si bien qu'à proximité des oxygènes en position 6 et 7 de la coumarine, une charge globale négative égale à -1 est perçue. Le caractère donneur de ces atomes est augmenté, expliquant ainsi le déplacement bathochrome des spectres d'absorption. L'exaltation de fluorescence avec l'ajout de césium peut être expliquée de la même manière. Il faut en effet souligner que la coumarine non substituée est très peu fluorescente. L'introduction de groupements alkoxy fortement mésomères donneurs en position 6 et 7 conduit à un rendement

quantique de fluorescence élevé du fait du transfert de charge intramoléculaire des oxygènes donneurs vers la lactone acceptrice.⁶¹ Ainsi, la présence d'une charge globale négative en interaction avec les oxygènes renforce le transfert de charge photoinduit et conduit à une augmentation du rendement quantique et de la durée de vie de fluorescence. Cela explique également le déplacement du signal RMN ^1H du proton benzénique de la coumarine (H_c) vers les bas champs (δ élevé).

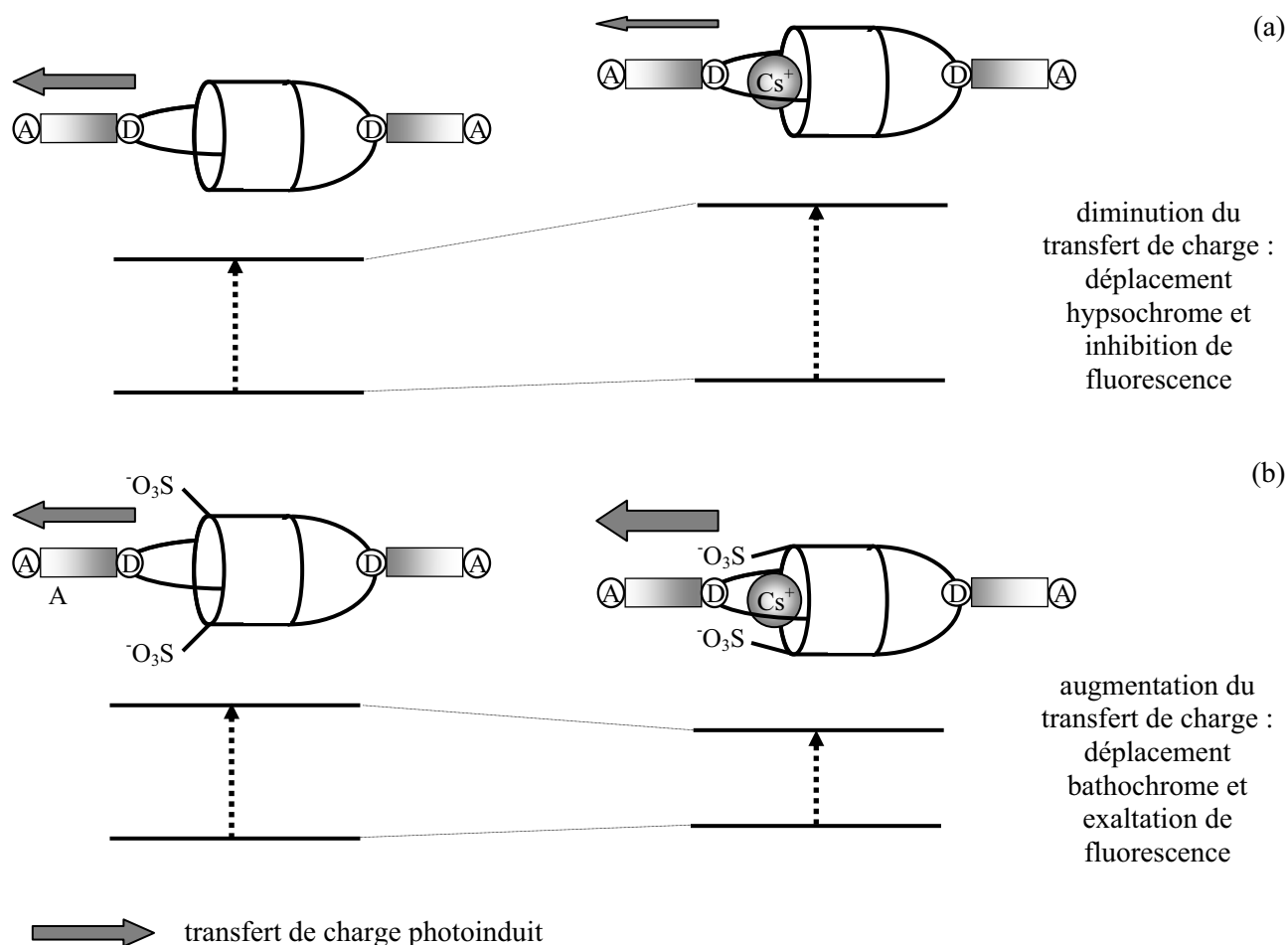


Figure 4-20. Modèle proposé pour la complexation du césium (a) avec le composé Calix-COU2 et (b) le composé Calix-COUSULF.

Si l'inhibition de fluorescence et le déplacement bathochrome des spectres d'absorption sont parfaitement expliqués par ce modèle, la justification du léger déplacement hypsochrome (4 nm) des spectres de fluorescence en présence de césium est plus complexe. En effet, lors de l'excitation, la redistribution de charges pour les atomes impliqués dans le transfert de charge photoinduit et dans la coordination du métal, est susceptible de provoquer un mouvement du cation complexé. Ce phénomène avait été observé pour le calixarène non sulfoné Calix-COU2.⁵⁸ Or, la présence des groupements sulfonates implique de prendre en compte deux phénomènes à l'état excité : d'une part, la réduction de la densité de charge sur les oxygènes en position 6 et 7 de la coumarine lors du transfert de charge photoinduit ; et d'autre part, l'augmentation de la densité électronique du fait de la présence d'une charge globale négative à proximité. A l'état excité, des effets de compensation entre ces deux phénomènes sont envisageables, provoquant ainsi une redistribution des charges finale conduisant à un état émettant davantage dans le bleu que le ligand libre. Il se peut également

que cette redistribution des charges ne soit pas exactement identique suivant qu'un seul ou bien deux cations sont complexés. A l'inverse de ce qui est observé en absorption, c'est-à-dire à l'état fondamental, l'existence d'interactions à l'état excité entre les deux cations Cs^+ du complexe M_2L est envisageable. Le fait que le spectre d'émission de ML ne soit pas égal à la demi-somme des spectres des espèces L et M_2L n'est donc pas surprenant.

Afin de valider ce modèle, il est particulièrement pertinent d'envisager la complexation de cations divalents par Calix-COUSULF. L'affinité du calixarène pour les cations divalents étant peu élevée (*cf.* paragraphe III.3.2 pour les études de sélectivité), le spectre d'émission de fluorescence du ligand dans le tampon MES-NaOH 50 mM à $\text{pH} = 7$ a été enregistré en présence d'un très large excès de perchlorate de magnésium $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ (50 mM). Alors que les spectres d'absorption ne sont pas modifiés, une légère inhibition de fluorescence est observée (*cf.* Figure 4-21). La complexation du calcium provoque des effets similaires. De plus, l'ajout de 20 μM de Cs^+ en présence de magnésium n'induit pas la même exaltation de fluorescence qu'en absence de magnésium. A 50 mM en magnésium, le ligand complexe donc en partie Mg^{2+} , bien que les modifications spectrales observées soient assez faibles. Les deux charges positives du cation sont en effet compensées par les deux charges négatives des groupements sulfonates, de sorte que la charge globale à proximité des oxygènes de la coumarine est quasiment nulle (légèrement positive si l'on se fie à la faible inhibition de fluorescence observée). La complexation des cations divalents ne modifie par conséquent que très peu l'environnement à proximité de la coumarine et peu d'effets sont observés.

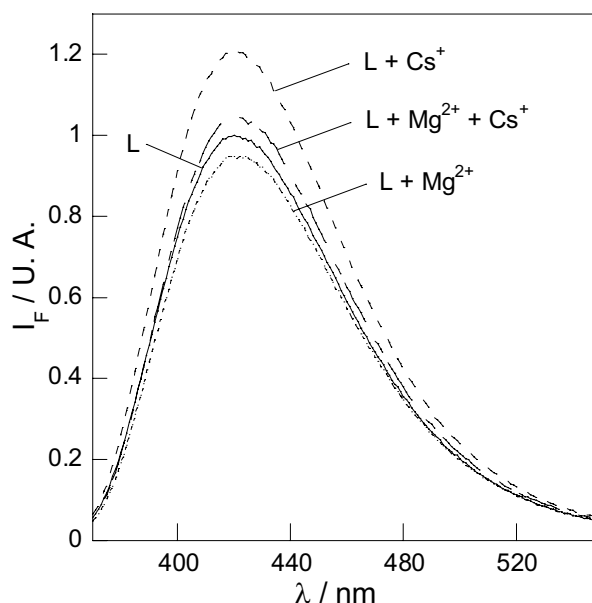
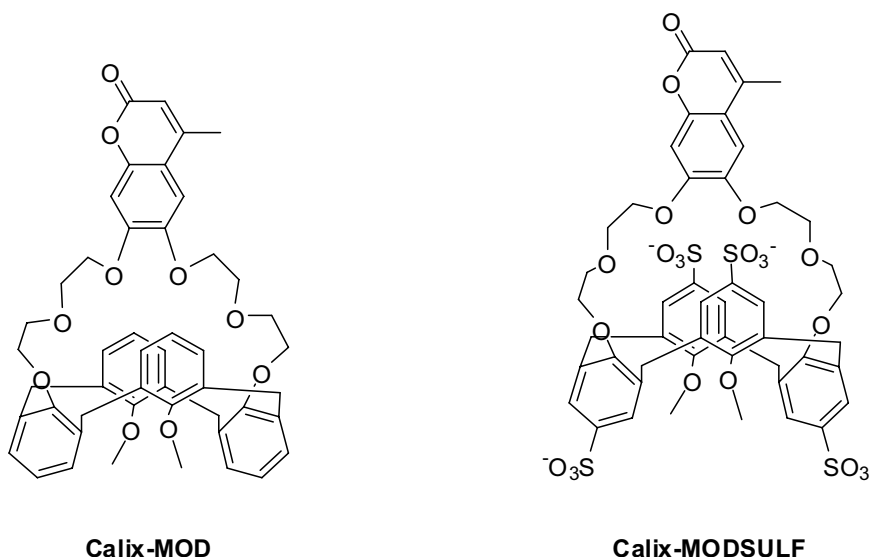


Figure 4-21. Spectres de fluorescence non corrigés de Calix-COUSULF ($[\text{L}] = 2,6 \mu\text{M}$) dans le tampon MES-NaOH 50 mM à $\text{pH} = 7$ (excitation à 365 nm) en présence de CsOAc (20 μM) et/ou de $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ (50 mM).

III.3.2. Etude par modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est un outil particulièrement bien adapté pour la prévision de structures de complexes métalliques,⁶² notamment pour les complexes de césium ou de potassium avec des

ligands de type calix[4]arène couronne(6).⁶³ Ici, la comparaison entre les ligands Calix-COU2 et Calix-COUSULF en absence et en présence de métal est particulièrement intéressante dans le but de valider le modèle proposé quant à l'implication des groupements sulfonates dans la complexation du cation Cs^+ . Bien que les méthodes de type DFT permettent d'obtenir des résultats satisfaisants avec un temps de calcul restreint, les calculs menés sur les complexes des composés Calix-COU2 et Calix-COUSULF n'ont pas convergé. Afin de diminuer le nombre d'atomes du système, nous avons donc décidé de réaliser les calculs sur deux calixarènes modèles ne comportant qu'une seule boucle complexante : Calix-MOD et Calix-MODSULF.



Etude conformationnelle des ligands Calix-MOD et Calix-MODSULF

Les calculs de modélisation moléculaire sur les composés Calix-MOD et Calix-MODSULF ont été réalisés par l'intermédiaire du logiciel Gaussian 03⁶⁴ en utilisant la méthode de la fonctionnelle de densité (DFT) avec la fonctionnelle mixte B3LYP. Compte tenu du nombre important d'atomes que comportent ces molécules, l'optimisation de la géométrie a été réalisée avec la base 6-31G en phase gaz.

Ainsi, l'introduction de groupements sulfonates en position *para* des cycles benzéniques du squelette calixarène entraîne d'importants changements conformationnels. En particulier, alors que les cycles benzéniques de part et d'autre du squelette calixarène sont quasiment parallèles dans le cas du calixarène non sulfoné (angle de 15° environ), ils forment un angle de 60° pour Calix-MODSULF (angle entre les traits pointillés sur la Figure 4-22). Ceci est dû à l'encombrement stérique des groupements sulfonates et à la répulsion électrostatique entre ces deux groupements chargés négativement.

Pour le composé Calix-MODSULF, la distance entre les deux atomes de soufre S_1 et S_2 est de 10,8 Å. L'un des paramètres importants pour ce composé est la distance entre les atomes d'oxygène des fonctions sulfonates les plus proches des atomes d'oxygène O_1 et O_2 de la coumarine. En effet, l'efficacité du transfert de charge photoinduit vers la lactone acceptrice dépend du caractère électrodonneur de ces atomes. Ainsi, l'atome d'oxygène O_{S_1} du groupement sulfonate le plus proche de l'atome d'oxygène O_1 de la coumarine se situe à une distance de 4,26 Å. Elle est du même ordre de grandeur que la distance entre l'atome d'oxygène de la seconde fonction sulfonate O_{S_2} et le second atome d'oxygène O_2 de la coumarine (4,27 Å).

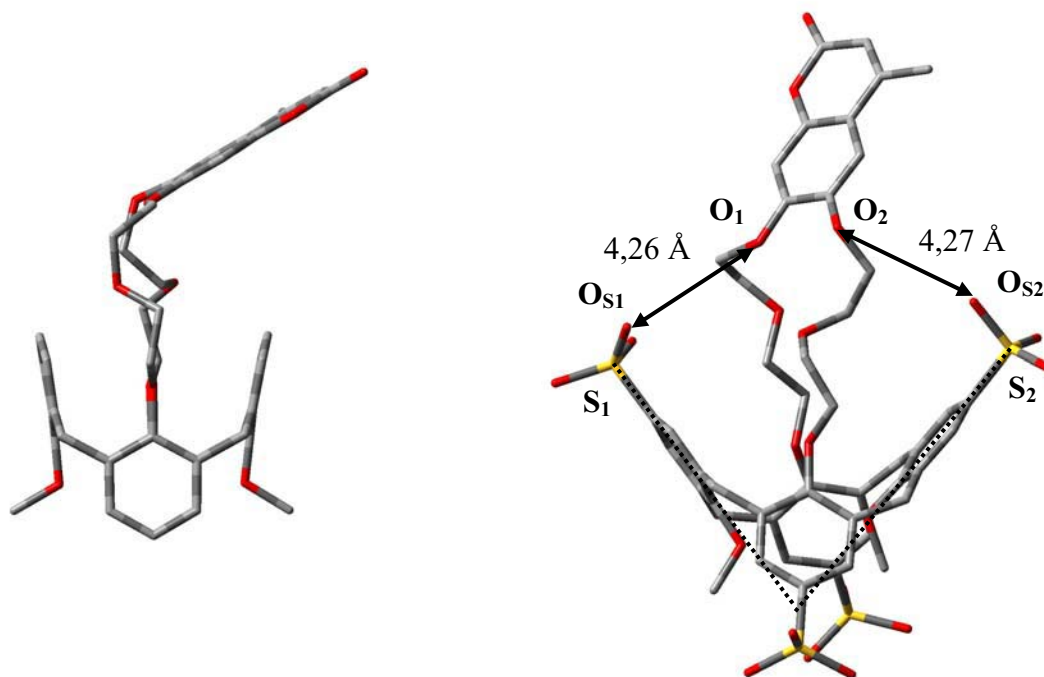


Figure 4-22. Géométries optimisées de Calix-MOD (à gauche) et Calix-MODSULF (à droite) par DFT avec la fonctionnelle B3LYP et la base 6-31G. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés.

Etude conformationnelle du complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MOD}$

Le complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MOD}$ a été modélisé en phase gaz en utilisant une méthode DFT et la fonctionnelle B3LYP. Une base 6-31G a été utilisée pour le ligand tandis qu'une base LANL2DZ a été utilisée pour le cation Cs^+ . Cette dernière est en effet plus adaptée à la modélisation de cations métalliques à numéro atomique élevé.^{65,66,67}

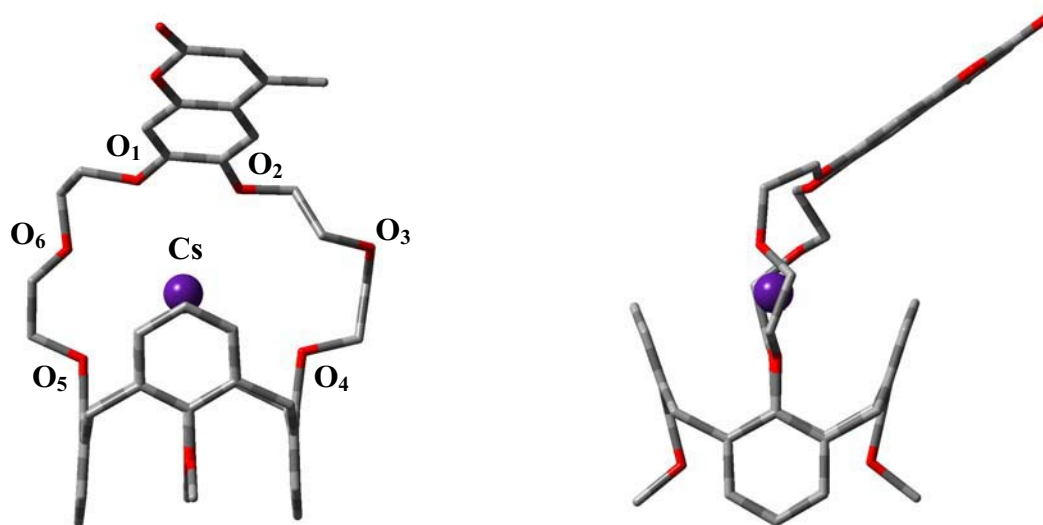


Figure 4-23. Géométrie optimisée du complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MOD}$ par DFT avec la fonctionnelle B3LYP et les bases 6-31G pour le ligand et LANL2DZ pour le césium. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés.

Comme le montre la Figure 4-23, la complexation du cation Cs^+ au sein de la boucle complexante de Calix-MOD provoque une réorganisation de la couronne oxygénée et un changement de conformation au niveau des cycles benzéniques du squelette calixarène. En effet, la présence du cation provoque l'inclinaison de ces cycles si bien qu'ils forment dans le complexe de césium un angle de 35° . En ce qui concerne les distances interatomiques, le cation Cs^+ se situe à 3,35 Å de l'atome d'oxygène O_1 et à 3,19 Å de l'atome d'oxygène O_2 de la coumarine. Les autres atomes d'oxygène (O_4 , O_5 et O_6) se trouvent à des distances comprises entre 3,08 Å et 3,41 Å. Seul l'oxygène O_3 , éloigné de 5 Å, ne semble pas participer à la complexation du cation Cs^+ . Hormis cette dernière distance interatomique élevée, les valeurs calculées (regroupées dans le Tableau 4-9) sont comparables à celles des structures cristallines décrites dans la littérature pour des composés similaires.¹⁵

Etude conformationnelle du complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$

La géométrie du complexe formé par Calix-MODSULF avec le césium a été calculée en utilisant la même méthode que précédemment : DFT avec la fonctionnelle B3LYP, base 6-31G pour le ligand et base LANL2DZ pour le césium. Le résultat de l'optimisation est présenté sur la Figure 4-24.

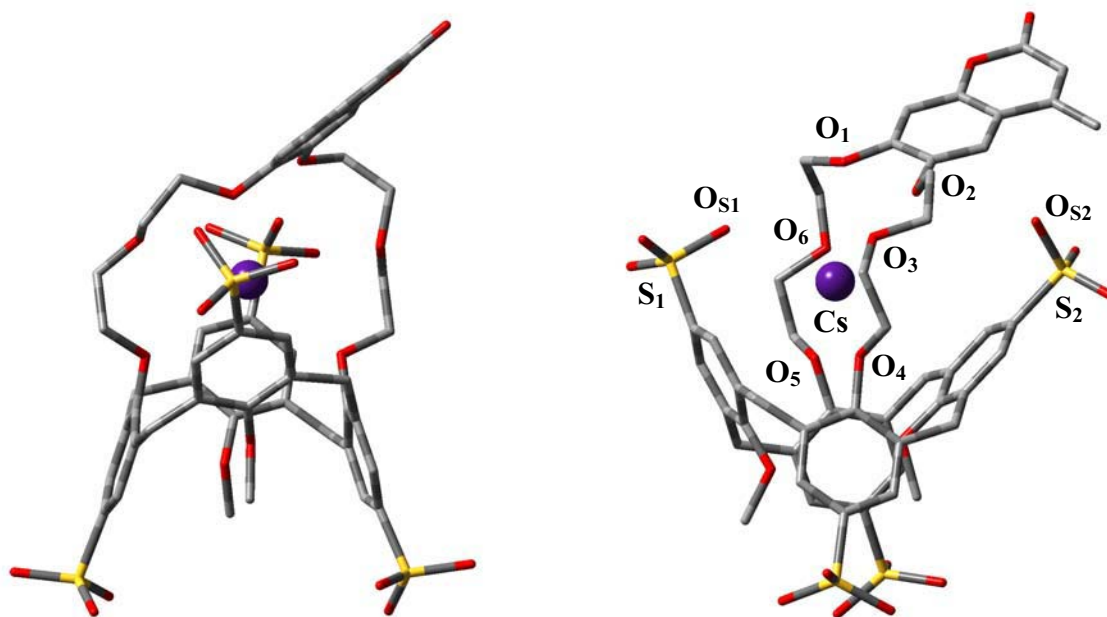


Figure 4-24. Géométrie optimisée du complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$ par DFT avec la fonctionnelle B3LYP et les bases 6-31G pour le ligand et LANL2DZ pour le césium. Les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés.

La structure optimisée montre que le cation Cs^+ est complexé par les six atomes de la couronne (O_1 à O_6) puisque l'atome d'oxygène le plus éloigné se situe à une distance de 3,49 Å du cation Cs^+ . Ces distances sont comparables à celles calculées pour le complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MOD}$, notamment celles avec les atomes d'oxygène O_1 et O_2 de la coumarine. Néanmoins, cette géométrie optimisée montre que les groupements sulfonates jouent un rôle dans la complexation du cation. Ainsi, un atome d'oxygène d'une des deux fonctions sulfonates ($\text{O}_{\text{S}1}$) participe à la complexation du

cation Cs^+ puisque la distance qui le sépare du cation complexé n'est que de 3,21 Å. A l'inverse, la seconde fonction sulfonate semble trop éloignée pour chélater efficacement le cation.

Distance / Å	$\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MOD}$	$\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_1)$	3,35	3,36
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_2)$	3,19	3,12
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_3)$	5,00	3,16
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_4)$	3,41	3,31
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_5)$	3,08	3,11
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_6)$	3,19	3,49
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_{\text{S1}})$	-	3,21
$d(\text{Cs}^+-\text{O}_{\text{S2}})$	-	5,51

Tableau 4-9. Distances interatomiques (en Å) dans les structures optimisées des complexes $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MOD}$ et $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$.

La comparaison des structures optimisées du ligand Calix-MODSULF et du complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$ est également riche d'enseignement. En particulier, la distance interatomique entre les deux atomes de soufre S_1 et S_2 est raccourcie et passe de 10,8 Å à 10,13 Å. Une rotation des groupements sulfonates permettant aux atomes d'oxygènes O_{S1} et O_{S2} de se rapprocher de l'intérieur de la couronne est également observée. Ainsi, les distances entre les atomes d'oxygène O_{S1} et O_{S2} et les atomes d'oxygène O_1 et O_2 de la coumarine sont beaucoup plus courtes pour le complexe que pour le ligand libre. En effet, elles valent respectivement 3,55 Å et 3,28 Å dans le complexe de césium contre 4,26 Å et 4,27 Å pour le ligand libre. Elles sont alors comparables aux distances entre les atomes d'oxygène O_1 ou O_2 et le cation Cs^+ . Il est à noter que la conformation où les atomes d'oxygène O_{S1} et O_{S2} des fonctions sulfonates sont très proches des atomes O_1 et O_2 est fortement stabilisée par rapport à une conformation où ils seraient plus éloignés. Les essais réalisés en éloignant ces atomes de leur position d'équilibre mènent en effet à la même conformation à l'équilibre.

Distance / Å	Calix-MODSULF	$\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$
$d(\text{S}_1-\text{S}_2)$	10,80	10,13
$d(\text{O}_{\text{S1}}-\text{O}_1)$	4,26	3,55
$d(\text{O}_{\text{S2}}-\text{O}_2)$	4,27	3,28

Tableau 4-10. Distances interatomiques caractéristiques (en Å) pour le ligand Calix-MODSULF et le complexe $\text{Cs}^+ \subset \text{Calix-MODSULF}$.

Par conséquent, les calculs réalisés montrent que la complexation du césium induit d'une part le rapprochement des groupements sulfonates (distance S_1-S_2 plus courte), et d'autre part la rotation de ceux-ci de manière à minimiser les distances $\text{O}_{\text{S1}}-\text{O}_1$ et $\text{O}_{\text{S2}}-\text{O}_2$. Celles-ci sont alors du même ordre de grandeur que les distances Cs^+-O_1 et Cs^+-O_2 . Deux atomes d'oxygène appartenant aux fonctions sulfonates chargées négativement et un cation Cs^+ se trouvent donc à des distances comparables des atomes d'oxygène O_1 et O_2 de la coumarine. Aussi, il apparaît une charge globale

négative à proximité des atomes d'oxygène donateurs de la coumarine. Ces calculs réalisés sur le composé modèle Calix-MODSULF sont donc en accord avec les résultats expérimentaux et le modèle proposé pour la complexation du césium par le composé Calix-COUSULF.

III.4. Sensibilité et sélectivité pour la détection du césium en milieu MES-NaOH à pH = 7

Les propriétés complexantes de Calix-COUSULF avec le césium ont été largement investiguées. Dans l'optique d'une application de ce composé comme senseur fluorescent de césium en milieu aqueux à pH = 7, la sensibilité et la sélectivité de la méthode ont été étudiées.

III.4.1. Sensibilité et limite de détection

Les conditions opératoires pour la détection du césium dans le tampon MES-NaOH par fluorimétrie stationnaire ont été optimisées. Il a été montré précédemment que la complexation du césium induit une exaltation de fluorescence relativement modeste, mais également une importante augmentation de la valeur de l'absorbance à 365 nm. En excitant à cette longueur d'onde, les deux phénomènes se conjuguent et conduisent à une exaltation de fluorescence d'un facteur 2,7. De plus, le rendement quantique de Calix-COUSULF est élevé. Il est alors possible de travailler à faible concentration en ligand (2,6 μM), permettant ainsi la détection de traces. Les spectres de fluorescence non corrigés de l'absorbance à 365 nm sont présentés sur la Figure 4-25, ainsi que la courbe de calibration obtenue par mesure de l'intensité de fluorescence à 420 nm.

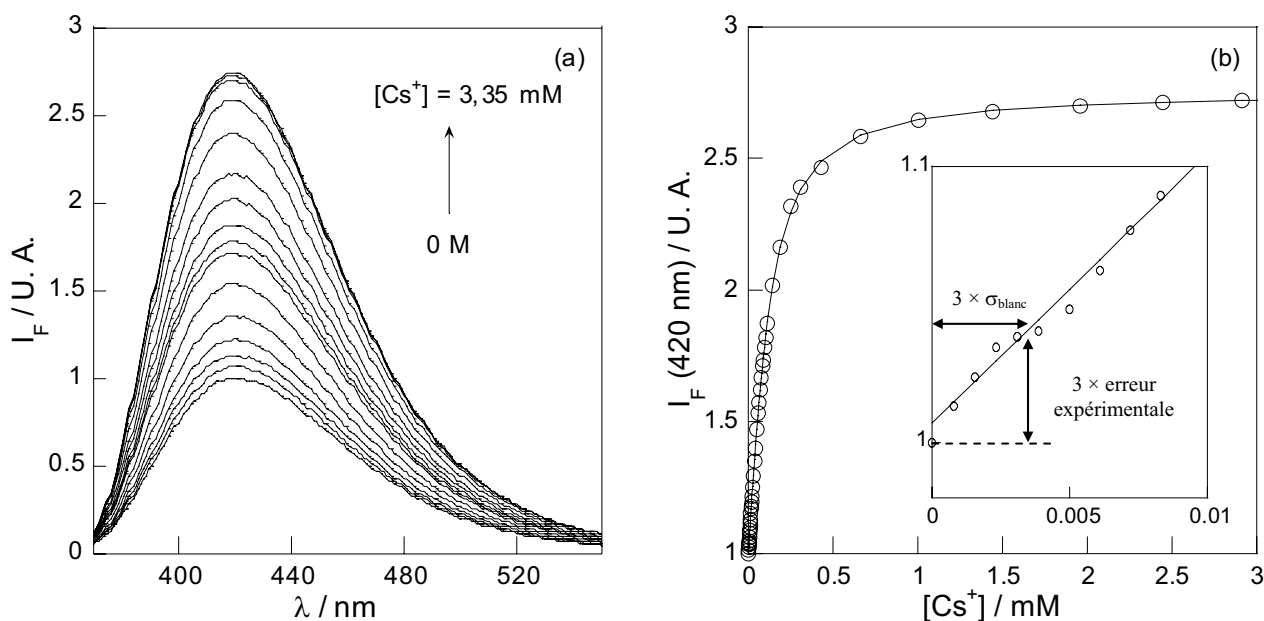


Figure 4-25. (a) Evolution des spectres de fluorescence non corrigés de l'absorbance de Calix-COUSULF ($[L] = 2,6 \mu\text{M}$) dans le tampon MES-NaOH avec l'ajout d'acétate de césium ; excitation à 365 nm ; (b) Intensité de fluorescence à 420 nm en fonction de la concentration totale en césium.

Dans ces conditions, l'intensité de fluorescence à 420 nm ne varie plus lorsque la concentration totale en césium atteint 2 mM, et la sonde possède une réponse linéaire pour un domaine de concentration compris entre 0 et 0,1 mM. La courbe de calibration permet la mesure d'une limite de détection et d'une limite de quantification pour la détection du césium. Ces valeurs

sont calculées comme étant respectivement 3 et 5 fois la valeur de l'écart type mesuré pour la variable considérée, en l'occurrence l'intensité de fluorescence à 420 nm. Afin de prendre en compte à la fois l'erreur de mesure liée à l'instrumentation et l'erreur liée à l'opérateur, l'intensité de fluorescence émise à 420 nm est mesurée pour 10 solutions de ligand ($[L] = 2,6 \mu\text{M}$) préparées selon le même protocole. Cette méthode permet de calculer l'erreur expérimentale sur la mesure de l'intensité de fluorescence, qui est ensuite retranscrite en terme d'écart type de concentration σ_{blanc} avec la courbe de calibration. Avec cette méthode, une limite de détection de $3,7 \mu\text{M}$ est atteinte, la principale source d'erreur provenant du fait que les spectres de fluorescence ne sont pas corrigés de l'absorbance et par conséquent, dépendent fortement de la concentration totale en ligand.

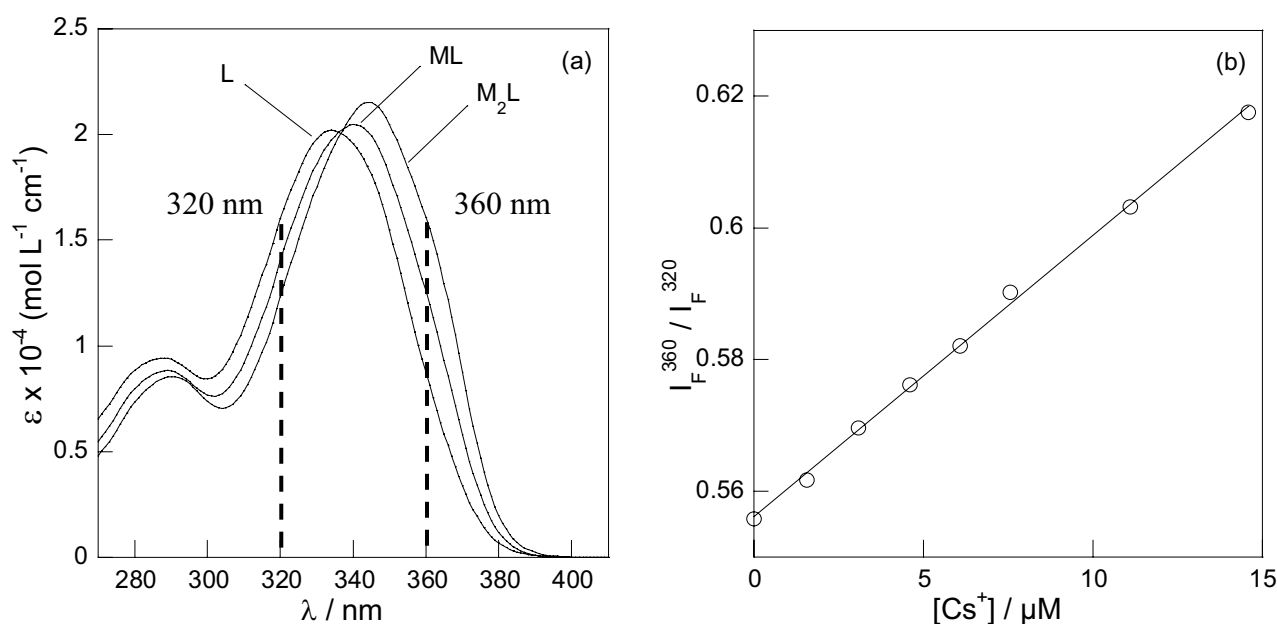


Figure 4-26. (a) Spectres d'absorption des complexes formés par Calix-COUSULF avec le césium et (b) rapport des intensités de fluorescence mesurées à 420 nm pour $\lambda_{\text{exc}} = 360$ et 320 nm en fonction de la concentration en césium.

Une mesure ratiométrique permet de s'affranchir d'une telle erreur, mais elle n'est pas possible en émission pour le composé Calix-COUSULF, les déplacements spectraux n'étant pas assez importants. A l'inverse, les spectres d'absorption subissent un déplacement spectral non négligeable avec la complexation. Ainsi, la mesure du rapport de l'intensité de fluorescence à 420 nm pour deux longueurs d'excitation différentes (360 et 320 nm) permet de diminuer l'erreur de mesure, et de diminuer significativement la limite de détection jusqu'à $0,3 \mu\text{M}$. Une telle valeur est du même ordre de grandeur que celle observée pour d'autres fluoroionophores en milieu organique,²⁹ mais demeure remarquable pour des mesures effectuées en milieu totalement aqueux.⁶⁸ Le Tableau 4-11 regroupe les valeurs des différents paramètres analytiques suivant la méthode utilisée.

Paramètre mesuré	$I_F(420 \text{ nm}) / \text{U.A.}$	I_F^{360} / I_F^{320}
Ecart type de la mesure (σ_{blanc})	$1,2 \times 10^{-6} \text{ M}$	$1,0 \times 10^{-7} \text{ M}$
Limite de détection ($3 \times \sigma_{\text{blanc}}$)	$3,7 \times 10^{-6} \text{ M}$	$3 \times 10^{-7} \text{ M}$
Limite de quantification ($5 \times \sigma_{\text{blanc}}$)	$6,1 \times 10^{-6} \text{ M}$	$5 \times 10^{-7} \text{ M}$
Limite de linéarité	$1 \times 10^{-2} \text{ M}$	-

Tableau 4-11. Sensibilité de la limite de détection du césium par Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH par 2 méthodes différentes.

III.4.2. Sélectivité

Des études de sélectivité pour le composé Calix-COUSULF avec le césium ont été réalisées dans le tampon MES-NaOH. Elles consistent à mesurer l'intensité de fluorescence à 420 nm en absence de cation, en présence de césium et / ou d'un cation compétitif. Les cations compétitifs testés sont les ions alcalins (Li^+ , K^+) et les cations alcalino-terreux (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+}). En ce qui concerne le sodium, le milieu tampon en contient d'ores et déjà 25 mM, concentration pour laquelle il ne montre aucune interférence. Le diagramme de sélectivité ci-dessous (Figure 4-27) présente les résultats obtenus pour la détection de 55 μM de césium en présence des différents cations compétitifs.

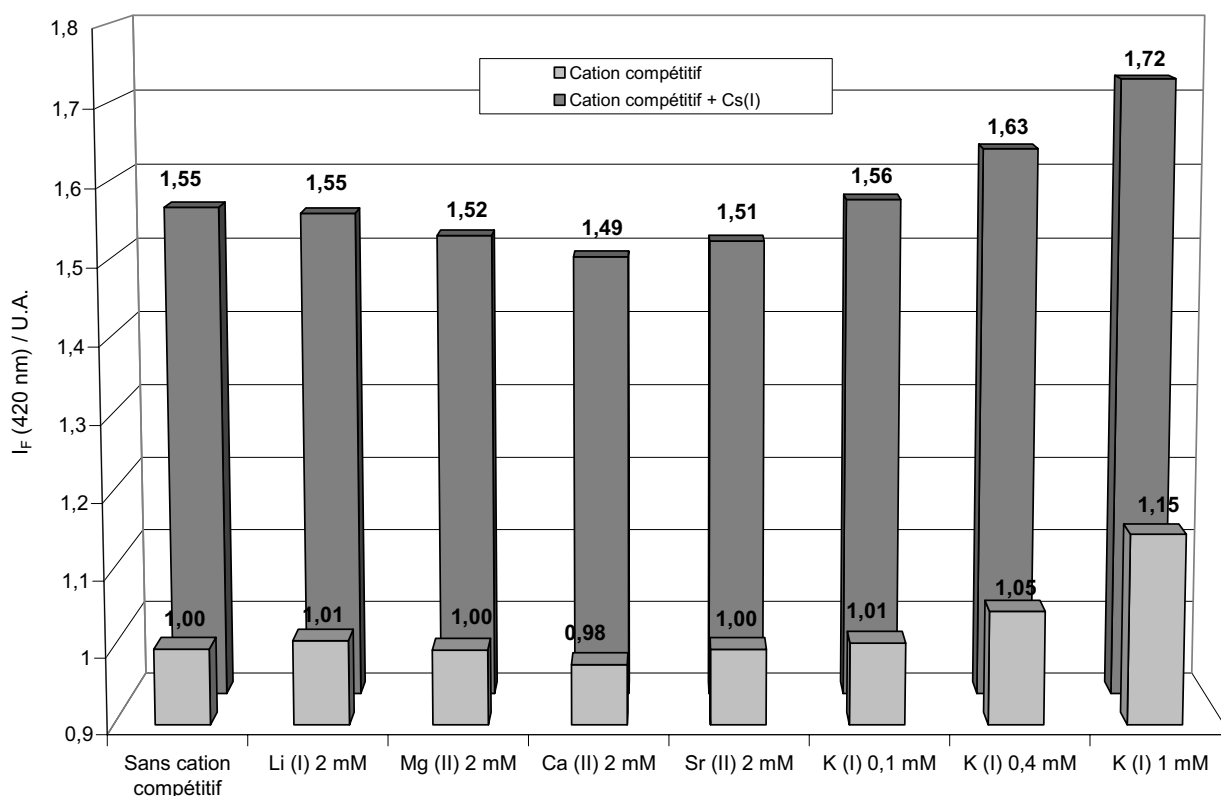


Figure 4-27. Intensité de fluorescence à 420 nm du composé Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH pH = 7, en présence de césium (55 μM) et de différents cations interférents.

Li^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} ne montrent aucune interférence significative à des concentrations de 2 mM. Ainsi, en présence de ces cations, l'intensité de fluorescence à 420 nm demeure inchangée et l'ajout de 55 μM de Cs^+ provoque la même exaltation de fluorescence qu'en l'absence de cation

compétitif. La sélectivité observée n'est donc pas une sélectivité photophysique (pas d'effet photophysique bien que la complexation ait lieu), mais bel et bien une sélectivité due à une différence importante d'affinité du site de complexation. Pour ces quatre cations, les constantes de complexation n'ont d'ailleurs pas pu être mesurées car trop faibles.

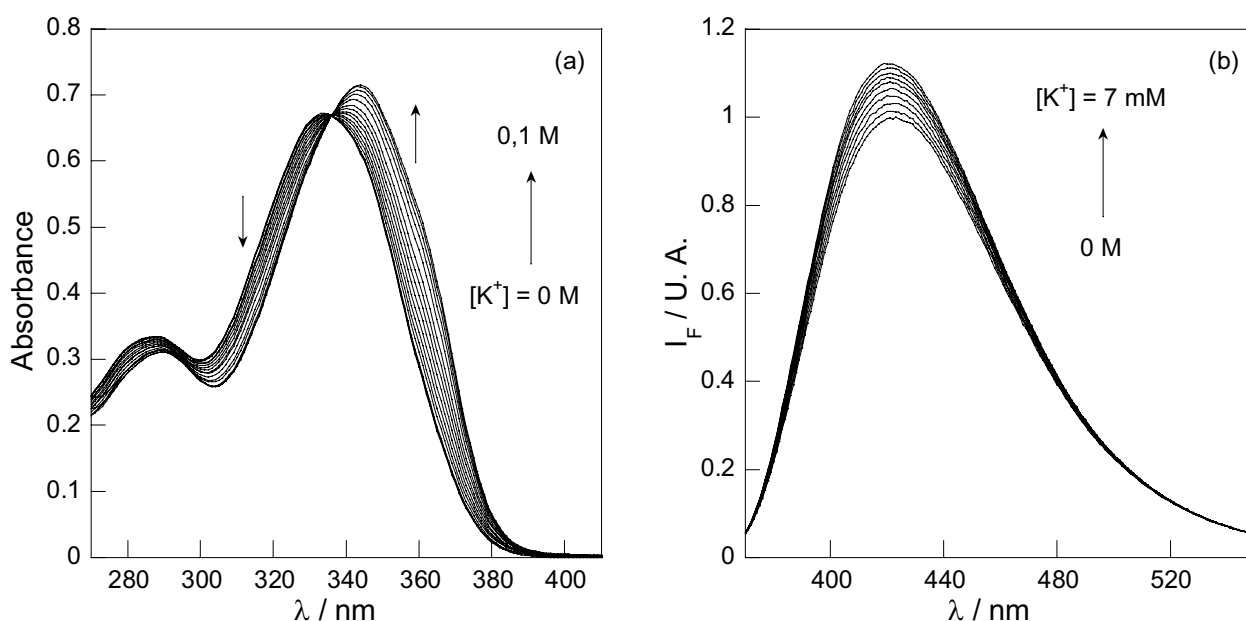
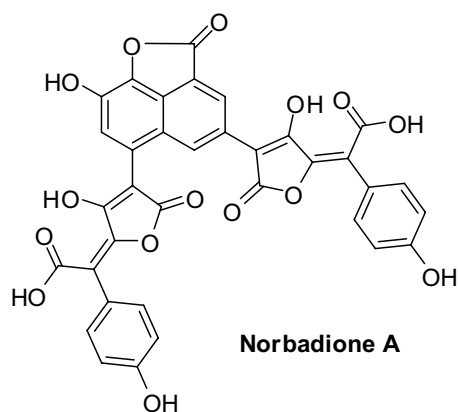


Figure 4-28. (a) Evolution des spectres d'absorption de Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH avec l'ajout de thiocyanate de potassium ; (b) Evolution des spectres de fluorescence de Calix-COUSULF dans le tampon MES-NaOH avec l'ajout de thiocyanate de potassium, excitation au point isosbétique à 337 nm.

Le potassium est le principal ion interférent. Les effets photophysiques observés sont comparables à ceux provoqués par le césium : déplacement bathochrome des spectres d'absorption et exaltation de fluorescence (*cf.* Figure 4-28). La constante de complexation avec le potassium a pu être mesurée par ajouts successifs de thiocyanate de potassium. En émission, seuls les spectres à faible concentration en potassium sont pris en compte car les anions thiocyanates inhibent la fluorescence à forte concentration (à partir de 7 mM environ). L'hypothèse de formation d'un unique complexe 1:1 suffit à évaluer de manière satisfaisante la valeur de la constante de formation du premier complexe de potassium K_{11} par ajustement numérique des spectres d'émission et d'absorption avec le logiciel SPECFIT™. La valeur trouvée ($\log K_{11} = 1,71 \pm 0,05$) prouve la très bonne sélectivité de Calix-COUSULF pour le césium vis-à-vis du potassium, puisque le rapport des constantes de stabilité est supérieur à 200.

IV. Exemple d'application de la sonde Calix-COUSULF en milieu aqueux

L'une des applications potentielles de la sonde Calix-COUSULF fait actuellement l'objet d'une collaboration avec l'équipe du Dr. El-Hage Chahine de l'ITODYS (Université Paris 7 Denis Diderot). En effet, suite à l'accident nucléaire de Tchernobyl, d'importantes teneurs en césium 137 ont été mesurées dans certains champignons.⁶⁹ Cette capacité à transférer les métaux lourds du sol pour les accumuler au niveau d'organismes vivants ouvre des perspectives intéressantes en terme de dépollution ou de décontamination. Au niveau moléculaire, un dérivé de l'acide pulvinique semble particulièrement impliqué dans la séquestration du métal au sein du champignon : la norbadione A.^{70,71}



L'équipe du Dr. El Hage Chahine cherche donc à caractériser les propriétés physico-chimiques de la norbadione A vis-à-vis du césium dans des mélanges eau/éthanol (constantes cinétiques et thermodynamiques). La complexation du césium a été étudiée par absorption UV-visible, mais les changements du spectre d'absorption de la norbadione A avec l'ajout de césium sont très faibles. L'usage d'une technique plus sensible à l'environnement chimique de la molécule telle que la fluorescence paraît appropriée, mais le rendement quantique de fluorescence de la norbadione A en milieu

aqueux est très faible. L'idée est d'étudier la cinétique d'échange du césium entre la norbadione A et le composé Calix-COUSULF. Ce dernier possède en effet l'avantage d'être plus affiné que la norbadione A pour le césium, est très fluorescent et les propriétés photophysiques du complexe diffèrent suffisamment de celles du ligand libre. L'étude de ces cinétiques d'échange par fluorescence stopped-flow doit permettre la détermination des constantes de vitesse pour la réaction de décomplexation de la norbadione A en présence de la sonde Calix-COUSULF. Les constantes thermodynamiques seront déduites de ces expériences.

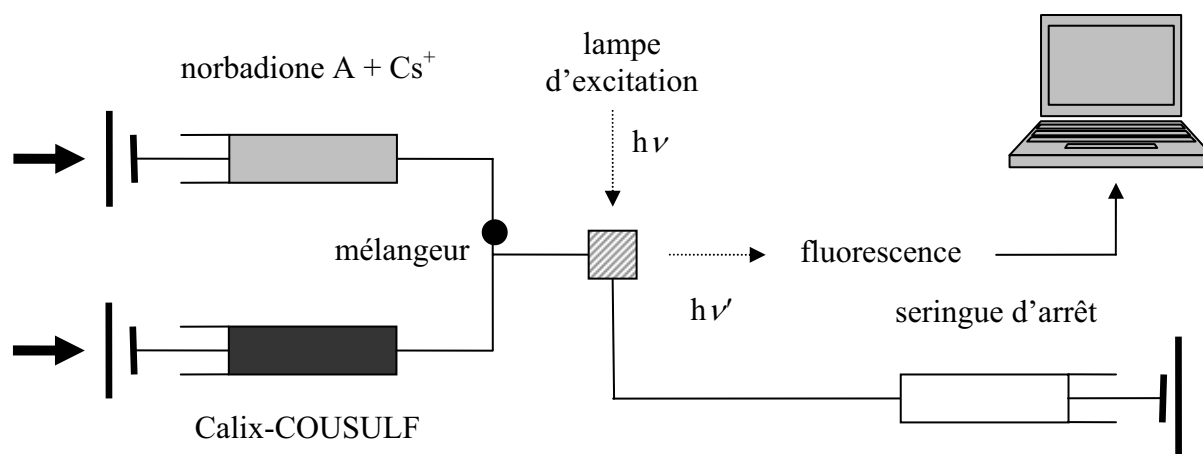


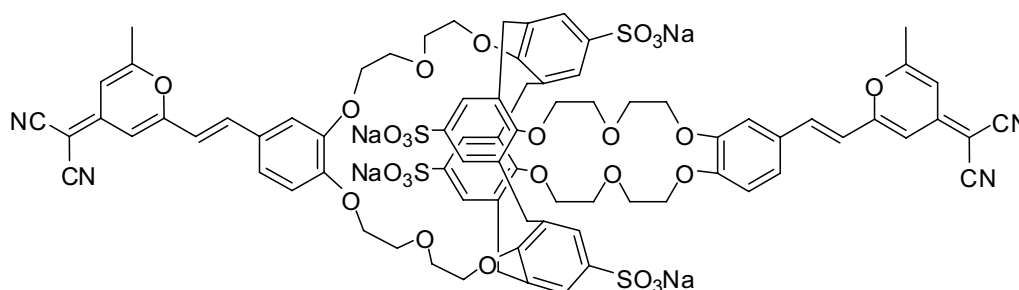
Figure 4-29. Principe des mesures de fluorescence stopped-flow.

Les résultats préliminaires ont mis en évidence une cinétique de complexation relativement lente pour Calix-COUSULF, comparativement à de nombreux composés avec le césium (de l'ordre de la milliseconde contre quelques microsecondes habituellement). La suite des études est en cours au laboratoire ITODYS.

V. Conclusion et perspectives

La sonde Calix-COUSULF synthétisée et étudiée dans ce chapitre présente de multiples avantages comme fluoroionophore sélectif du césium. Tout d'abord, elle est relativement facile à obtenir et les rendements des dernières étapes de synthèse sont quasi-quantitatifs. De plus, son excellente solubilité en milieu aqueux, l'absence d'effet du pH, son rendement quantique de fluorescence élevé et sa stabilité photochimique sont de réels atouts. La sensibilité de la méthode de détection est excellente (limite de détection inférieure au μM), notamment grâce à la possibilité de doser la quantité de césium du milieu par une mesure ratiométrique en excitation. Enfin, la sélectivité est remarquable vis-à-vis de tous les cations alcalins et alcalino-terreux, y compris le potassium même si la détection de césium dans un milieu très riche en potassium demeure problématique. Une collaboration avec l'équipe du Professeur El Hage Chahine a d'ailleurs été entreprise afin d'étudier par fluorescence stopped-flow les cinétiques d'échange du césium avec la norbadione A, un composé naturel responsable de la séquestration du césium dans les champignons. Les premiers résultats sont encourageants et les études se poursuivent.

Finalement, la principale perspective d'amélioration pour une utilisation en milieu biologique concerne la longueur d'onde d'excitation du fluorophore. En effet, la présence de protéines nécessite bien souvent d'exciter à des longueurs d'onde supérieures à 400 nm. Afin de répondre à ces exigences, le greffage de fluorophores de type PCT excitables à plus haute longueur d'onde (de type DCM par exemple) sur un squelette calix[4]arène bis-couronne sulfoné en conformation 1,3-alternée peut être envisagé.



Calix-DCMSULF

Références bibliographiques

- [1] R.M. Izatt, J.S. Bradshaw, R.L. Bruening, B.J. Tarbet et M.L. Bruening. "Solid-Phase Extraction of Ions Using Molecular Recognition Technology", *Pure & Appl. Chem.*, **1995**, 67, 1069-1074.
- [2] H. Vanhoe, C. Vandecasteele, J. Versieck et R. Dams. "Determination of iron, cobalt, copper, zinc, rubidium, molybdenum, and cesium in human serum by inductively coupled plasma mass spectrometry", *Anal. Chem.*, **1989**, 61, 1851-1857.
- [3] K.H. Theimer et V. Krivan. "Determination of uranium, thorium, and 18 other elements in high-purity molybdenum by radiochemical neutron activation analysis", *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 2722-2727.
- [4] D. Vanrenterghem, R. Cornelis et R. Vanholder. "Radiochemical Determination of 12 Trace-Elements in Human Blood-Serum", *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 257, 1-5.
- [5] M.B. Saleh, S.S.M. Hassan, A.A.A. Gaber et N.A.A. Kream. "PVC membrane cesium ion-selective sensor based on cephalixin antibiotic", *Anal. Lett.*, **2003**, 36, 2367-2377.
- [6] H.A.M. Arida, R.F. Aglan et S.A. El-Reefy. "A new cesium ion selective graphite rod electrode based on Cs-molybdophosphate", *Anal. Lett.*, **2004**, 37, 21-33.
- [7] A. Radu, S. Peper, C. Gonczy, W. Runde et D. Diamond. "Trace-level determination of Cs+ using membrane-based ion-selective electrodes", *Electroanalysis*, **2006**, 18, 1379-1388.
- [8] Y. Wen, J. Song, W. Liu et Z. Qin. "Decontamination of radioactive cesium in natural NaCl by amide-type open-chain crown ethers (II)", *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **2002**, 253, 167-170.
- [9] Y.H. Wen, S. Lahiri, Z. Qin, X.L. Wu et W.S. Liu. "Decontamination of radioactive cesium from natural NaCl by amide-type open-chain crown ethers", *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **2002**, 253, 263-265.
- [10] H.K. Frensdorff. "Stability constants of cyclic polyether complexes with univalent cations", *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 600-606.
- [11] W.J. McDowell, G.N. Case, J.A. McDonough et R.A. Bartsch. "Selective extraction of cesium from acidic nitrate solutions with didodecyl-naphthalenesulfonic acid synergized with bis(tert-butylbenzo)-21-crown-7", *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 3013-3017.
- [12] A. Casnati, R. Ungaro, Z. Asfari et J. Vicens. "Crown ethers derived from calix[4]arenes" dans "Calixarenes 2001", Z. Asfari, V. Böhmer, J. Harrowfield et J. Vicens (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **2001**, pp. 365-384.
- [13] C. Alfieri, E. Dradi, A. Pochini, R. Ungaro et G.D. Andreetti. "Synthesis, and X-Ray Crystal and Molecular-Structure of a Novel Macrobicyclic Ligand - Crowned Para-Tert-Butyl-Calix 4 Arene", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1983**, 1075-1077
- [14] R. Ungaro, A. Casnati, F. Ugozzoli, A. Pochini, J.F. Dozol, C. Hill et H. Rouquette. "1,3-Dialkoxycalix 4 Arenecrowns-6 in 1,3-Alternate Conformation - Cesium-Selective Ligands That Exploit Cation-Arene Interactions", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 1506-1509.
- [15] A. Casnati, A. Pochini, R. Ungaro, F. Ugozzoli, F. Arnaud, S. Fanni, M.-J. Schwing, R.J.M. Egberink, F. de Jong et D.N. Reinhoudt. "Synthesis, Complexation, and Membrane Transport Studies of 1,3-Alternate Calix[4]arene-crown-6 Conformers: A New Class of Cesium Selective Ionophores", *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 2767-2777.

- [16] J.S. Kim, J.H. Pang, I.Y. Yu, W.K. Lee, I.H. Suh, J.K. Kim, M.H. Cho, E.T. Kim et D.Y. Ra. "Calix[4]arene dibenzocrown ethers as caesium selective extractants", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **1999**, 837-846.
- [17] V. Lamare, J.F. Dozol, F. Uguzzoli, A. Casnati et R. Ungaro. "X-ray crystal structures and molecular modelling studies of calix[4]dibenzocrowns-6 and their alkali metal cation complexes", Eur. J. Org. Chem., **1998**, 1559-1568.
- [18] A. Ikeda et S. Shinkai. "On the Origin of High Ionophoricity of 1,3-Alternate Calix[4]arenes : π -donor Participation in Complexation of Cations and Evidence for Metal-Tunneling through the Calix[4]arene Cavity", J. Am. Chem. Soc., **1994**, 116, 3102-3110.
- [19] L. Prodi, F. Bolletta, M. Montalti, N. Zaccheroni, A. Casnati, F. Sansone et R. Ungaro. "Photophysics of 1,3-alternate calix 4 arene-crowns and of their metal ion complexes: evidence for cation- π interactions in solution", New J. Chem., **2000**, 24, 155-158.
- [20] Z. Asfari, C. Bressot, J. Vicens, C. Hill, J.F. Dozol, H. Rouquette, S. Eymard, V. Lamare et B. Tournois. "Doubly crowned calix[4]arenes in the 1,3-alternate conformation as cesium-selective carriers in supported liquid membranes", Anal. Chem., **1995**, 67, 3133-3139.
- [21] F. ArnaudNeu, Z. Asfari, B. Souley et J. Vicens. "Binding properties of calix[4]-bis-crowns towards alkali cations", New J. Chem., **1996**, 20, 453-463.
- [22] J.S. Kim, I.H. Suh, J.K. Kim et M.H. Cho. "Selective sensing of caesium ions by novel calix[4]arene bis(dibenzocrown) ethers in an aqueous environment", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, **1998**, 2307-2311.
- [23] V. Lamare, J.F. Dozol, S. Fuangswasdi, F. Arnaud-Neu, P. Thuery, M. Nierlich, Z. Asfari et J. Vicens. "A new calix[4]arene-bis(crown ether) derivative displaying an improved caesium over sodium selectivity: molecular dynamics and experimental investigation of alkali-metal ion complexation", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **1999**, 271-284.
- [24] Z. Asfari, C. Naumann, J. Vicens, M. Nierlich, P. Thuery, C. Bressot, V. Lamare et J.F. Dozol. "1,3-calix[4]-bis-crown-6. Cesium complexation studies by Cs-133- and H-1-NMR spectroscopy. Evidence for mononuclear and binuclear complexes from X-ray diffraction. Modeling of the metal complexation", New J. Chem., **1996**, 20, 1183-1194.
- [25] K. Zare, P.K. Parsa, F. Gharib, M. Reza-Yaftian, F. Arnaud, Z. Asfari, J. Vicens et M. Leroy. "Alkali cation complexation by 1,3-alternate calix[4]-biscrown-6 in acetonitrile/water mixture solvent", Main Group Metal Chemistry, **2001**, 24, 733-736.
- [26] W.S. Xia, R.H. Schmehl et C.J. Li. "A novel caesium selective fluorescent chemosensor", Chem. Commun., **2000**, 695-696.
- [27] W.S. Xia, R.H. Schmehl et C.J. Li. "A Highly Selective Fluorescent Chemosensor for K⁺ from a Bis-15-Crown-5 Derivative", J. Am. Chem. Soc., **1999**, 121, 5599-5600.
- [28] H.F. Ji, G.M. Brown et R. Dabestani. "Calix 4 arene-based Cs⁺ selective optical sensor", Chem. Commun., **1999**, 609-610.
- [29] H.F. Ji, R. Dabestani, G.M. Brown et R.L. Hettich. "Synthesis and sensing behavior of cyanoanthracene modified 1,3-alternate calix[4]benzocrown-6: a new class of Cs⁺ selective optical sensors", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **2001**, 585-591.
- [30] H.F. Ji, R. Dabestani et G.M. Brown. "A Supramolecular Fluorescent Probe, Activated by Protons To Detect Cesium and Potassium Ions, Mimics the Function of a Logic Gate", J. Am. Chem. Soc., **2000**, 122, 9306-9307.

- [31] I. Leray, Z. Asfari, J. Vicens et B. Valeur. "Synthesis and binding properties of calix 4 biscrown-based fluorescent molecular sensors for caesium or potassium ions", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2002**, 1429-1434.
- [32] A. Arduini, A. Pochini, S. Reverberi et R. Ungaro. "Para-tert-butyl-calix[4]arene tetracarboxylic acid - a water-soluble calixarene in a cone structure", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 981-982.
- [33] S. Shinkai, S. Mori, T. Tsubaki, T. Sone et O. Manabe. "New water-soluble host molecules derived from calix[6]arene", *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 5315-5318.
- [34] A. Casnati, D. Sciotto et G. Arena. "Water-soluble calixarenes" dans "Calixarenes 2001", Z. Asfari, V. Böhmer, J. Harrowfield et J. Vicens (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **2001**, pp. 440-456.
- [35] A. Marra, M.C. Scherrmann, A. Dondoni, A. Casnati, P. Minari et R. Ungaro. "Sugar calixarenes - preparation of calix[4]arenes substituted at the lower and upper rims with o-glycosyl groups", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1995**, 33, 2479-2481.
- [36] F. D'Alessandro, F.G. Gulino, G. Impellizzeri, G. Pappalardo, E. Rizzarelli, D. Sciotto et G. Vecchio. "A new water soluble host compound possessing two different hydrophobic recognition cavities: Calix[4]arene derivative conjugated with monofunctionalized β -cyclodextrin", *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 629-632.
- [37] E. Vandienst, B.H.M. Snellink, I. Vonpiekartz, J.F.J. Engbersen et D.N. Reinhoudt. "Novel water-soluble cyclodextrin-calix[4]arene host molecules with strongly enhanced binding-properties", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1995**, 1151-1152.
- [38] J.Y. Shen, H.F. Koch et D.M. Roundhill. "Synthesis and characterization of calix[4]arene functionalized poly(ethylene glycol) derivatives", *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.*, **2000**, 38, 57-67.
- [39] T. Arimura, T. Nagasaki, S. Shinkai et T. Matsuda. "Host guest properties of new water-soluble calixarenes derived from para-(chloromethyl)calixarenes", *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 3766-3768.
- [40] C.D. Gutsche et I. Alam. "Calixarenes .23. the complexation and catalytic properties of water-soluble calixarenes", *Tetrahedron*, **1988**, 44, 4689-4694.
- [41] S. Shinkai, S. Mori, H. Koreishi, T. Tsubaki et O. Manabe. "Hexasulfonated calix[6]arene derivatives - a new class of catalysts, surfactants, and host molecules", *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 2409-2416.
- [42] M. Almi, A. Arduini, A. Casnati, A. Pochini et R. Ungaro. "Chloromethylation of calixarenes and synthesis of new water-soluble macrocyclic hosts", *Tetrahedron*, **1989**, 45, 2177-2182.
- [43] P. Shahgaldian, A.W. Coleman et V.I. Kalchenko. "Synthesis and properties of novel amphiphilic calix-[4]-arene derivatives", *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 577-579.
- [44] M.A. Tairov, M.O. Vysotsky, O.I. Kalchenko, V.V. Pirozhenko et V.I. Kalchenko. "Symmetrical and inherently chiral water-soluble calix[4]arenes bearing dihydroxyphosphoryl groups", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 1405-1411.
- [45] E. Gaubert, H. Barnier, L. Nicod, A. FavreReguillon, J. Foos, A. Guy, C. Bardot et M. Lemaire. "Selective cesium removal from a sodium nitrate aqueous medium by nanofiltration-complexation", *Sep. Sci. Technol.*, **1997**, 32, 2309-2320.
- [46] F. Chitry, S. Pellet-Rostaing, L. Nicod, J.L. Gass, J. Foos, A. Guy et M. Lemaire. "New Cesium-Selective Hydrophilic Ligands: UV Measures of Their Interactions toward Cs and

- Cs/Na Separation by Nanofiltration Complexation*", J. Phys. Chem. A, **2000**, 104, 4121-4128.
- [47] S. Pellet-Rostaing, F. Chitry, J.A. Spitz, A. Sorin, A. Favre-Reguillon et M. Lemaire. "New water-soluble calix[4]arene-bis(benzocrown-6) for caesium-sodium separation by nanofiltration-complexation", Tetrahedron, **2003**, 59, 10313-10324.
- [48] D.R. Lide. "Handbook of chemistry and physics - 84th edition" CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington DC, **2003**
- [49] S. Pellet-Rostaing, F. Chitry, L. Nicod et M. Lemaire. "Synthesis and complexation properties of 1,3-alternate calix[4]arene-bis(crown-6) derivatives", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **2001**, 1426-1432.
- [50] H. Ihm, H. Kim et K. Paek. "Molecular engineering. Part 2. Influence of side-chain substituents in lariat-type upper-rim calix[4]crowns on their binding properties and the reversal of these", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, **1997**, 1997-2003.
- [51] M. Larsen et M. Jorgensen. "Selective halogen-lithium exchange reaction of bromine-substituted 25,26,27,28-tetrapropoxycalix[4]arene", J.Org. Chem., **1996**, 61, 6651-6655.
- [52] F. Perret, A.N. Lazar et A.W. Coleman. "Biochemistry of the para-sulfonato-calix[n]arenes", Chem. Commun., **2006**, 2425-2438.
- [53] G. Arena, A. Casnati, A. Contino, F.G. Gulino, D. Sciotto et R. Ungaro. "Entropic origin of the sulfonate groups' electrostatic assistance in the complexation of quaternary ammonium cations by water soluble calix[4]arenes", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **2000**, 419-423.
- [54] R. Fiammengo, P. Timmerman, J. Huskens, K. Versluis, A.J.R. Heck et D.N. Reinhoudt. "Non-covalent synthesis of calix[4]arene-capped porphyrins in polar solvents via ionic interactions", Tetrahedron, **2002**, 58, 757-764.
- [55] L. Nicod, S. Pellet-Rostaing, F. Chitry et M. Lemaire. "Synthesis of water soluble molecular receptor from calix[4]arene-bis-crown-6", Tetrahedron Lett., **1998**, 39, 9443-9446.
- [56] A. Mathieu, Z. Asfari et J. Vicens. "Water-soluble para-sulfonated 1,2;3,4-calix[4]arene-biscrowns in the cone conformation", Tetrahedron Lett., **2002**, 43, 1225-1229.
- [57] K.A. Connors. "Binding Constants. The Measurements of Molecular Complex Stability" John Wiley & Sons, New York, **1987**
- [58] I. Leray, Z. Asfari, J. Vicens et B. Valeur. "Photophysics of calix 4 biscrown-based ditopic receptors of caesium containing one or two dioxocoumarin fluorophores", J. Fluoresc., **2004**, 14, 451-458.
- [59] V.S. Talanov, G.G. Talanova, M.G. Gorbunova et R.A. Bartsch. "Novel caesium-selective, 1,3-alternate calix[4]arene-bis(crown-6-ethers) with proton-ionizable groups for enhanced extraction efficiency", J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **2002**, 209-215.
- [60] G.G. Talanova, E.D. Roper, N.M. Buie, M.G. Gorbunova, R.A. Bartsch et V.S. Talanov. "Novel fluorogenic calix[4] arene-bis(crown-6-ether) for selective recognition of thallium(I)", Chem. Commun., **2005**, 5673-5675.
- [61] A. Takadate, T. Masuda, C. Murata, T. Tanaka, M. Irikura et S. Goya. "Fluorescence characteristics of methoxycoumarins as novel fluorophores", Anal. Sci., **1995**, 11, 97-101.
- [62] J. Xie, M. Menand, S. Maisonneuve et R. Metivier. "Synthesis of Bispyrenyl Sugar-Aza-Crown Ethers as New Fluorescent Molecular Sensors for Cu(II)", J. Org. Chem., **2007**, 72, 5980-5985.

- [63] A. Casnati, N. Della Ca, F. Sansone, F. Uguzzoli et R. Ungaro. "Enlarging the size of calix[4]arene-crowns-6 to improve Cs⁺/K⁺ selectivity: a theoretical and experimental study", *Tetrahedron*, **2004**, 60, 7869-7876.
- [64] *Gaussian 03*, Revision C.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- [65] P.J. Hay et W.R. Wadt. "Abinitio effective core potentials for molecular calculations - Potentials for the transition-metal atoms Sc to Hg", *J. Chem. Phys.*, **1985**, 82, 270-283.
- [66] W.R. Wadt et P.J. Hay. "Abinitio effective core potentials for molecular calculations - Potentials for main group elements Na to Bi", *J. Chem. Phys.*, **1985**, 82, 284-298.
- [67] P.J. Hay et W.R. Wadt. "Abinitio effective core potentials for molecular calculations - Potentials for K to Au including the outermost core orbitals", *J. Chem. Phys.*, **1985**, 82, 299-310.
- [68] V. Souchon, I. Leray et B. Valeur. "Selective detection of cesium by a water-soluble fluorescent molecular sensor based on a calix[4]arene-bis(crown-6-ether)", *Chem. Commun.*, **2006**, 4224-4226.
- [69] S. Garaudée. "Polyphénols : propriétés de complexation et activité antioxydante", E.C.P.M., Université Louis Pasteur de Stasbourg, Laboratoire de Physico-Chimie Bioorganique, UMR 7509, **2004**.
- [70] S. Garaudée, M. Elhabiri, D. Kalny, C. Robiolle, J.M. Trendel, R. Hueber, A. Van Dorselaer, P. Albrecht et A.M. Albrecht-Gary. "Allosteric effects in norbadiene A. A clue for the accumulation process of Cs-137 in mushrooms?" *Chem. Commun.*, **2002**, 944-945.
- [71] M. Desage-El Murr, S. Nowaczyk, T. Le Gall, C. Mioskowski, B. Amekraz et C. Moulin. "Norbadiene A: Synthetic approach to the bis(pulvinic acid) moiety and cesium-complexation studies", *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 1289-1293.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail était la mise au point de nouvelles méthodes de détection par fluorescence de trois métaux lourds : le plomb, le cadmium et le césium. En particulier, l'étude des propriétés complexantes et photophysiques de fluoroionophores ont été entreprises. Au-delà des critères usuels de sensibilité et de sélectivité, les composés étudiés devaient satisfaire aux exigences liées à une utilisation dans un milieu compatible avec la biologie cellulaire (solvant, pH, longueur d'onde d'excitation, etc.). Les résultats suivants ont été obtenus :

- *détection du plomb :*

Le premier axe d'étude consistait à optimiser le fonctionnement d'un composé calix[4]arène fonctionnalisé par quatre groupements dansylamides (Calix-Dans4) afin de pouvoir l'utiliser dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Dr. E. Mintz. Il avait en effet été montré que Calix-Dans4 possède d'excellentes propriétés complexantes pour le plomb dans un milieu organo-aqueux eau/acétonitrile 40:60 v/v tamponné à pH = 5,2 par la lutidine-HClO₄. A pH = 6 (tampon MES-NaOH 50 mM) en présence de 5 mM de MgCl₂ et avec une proportion de solvant organique (DMSO) réduite à 5 %, nous avons alors montré qu'une mesure ratiométrique en émission permettait la détection de concentrations en plomb comprises entre 5 μM et 40 μM. Cependant, la présence de KCl à 0,1 M s'est avérée problématique car provoquant une photodégradation de la sonde.

Dans le but de s'affranchir de ce phénomène de photodégradation mais aussi d'une longueur d'onde relativement basse pour les milieux biologiques, plusieurs analogues du Calix-Dans4 (l'un non carbonylé, d'autres avec des fluorophores de type 1,8-naphtalimide) ont été synthétisés. Leurs propriétés photophysiques et complexantes ont alors été étudiées. Bien que l'affinité de ces composés pour le plomb ne se soit pas révélée suffisamment satisfaisante, ces études ont fourni de précieux renseignements quant à la chimie de coordination du plomb et ont permis de souligner l'importance des groupements carbonyles en α des fonctions sulfonamides complexantes. A partir de ces observations, la synthèse de nouveaux composés peut être envisagée et de nouvelles perspectives sont apparues.

- *détection du cadmium :*

Quatre axes de recherche ont été définis pour la conception de senseurs sélectifs du cadmium. Le premier s'appuyait sur les nombreuses études portant sur les pinces de type *N,N,N',N'*-tétraalkyl-3-6-dioxa-octane-dithioamide décrites comme ionophores sélectifs du cadmium. Plusieurs composés incorporant cette pince complexante associée à différents fluorophores ont été synthétisés. L'étude de leurs propriétés photophysiques a mis en évidence un transfert d'électron photoinduit des fonctions thioamides vers les fluorophores excités, responsable d'une inhibition de leur fluorescence. En ce qui concerne leurs propriétés complexantes, seul le mercure a paru être complexé, le cadmium n'induisant aucune modification spectrale ni structurale.

Afin de favoriser la complexation du cadmium au détriment du zinc (plus dur d'après la théorie HSAB), la seconde approche consistait à synthétiser de nouvelles pinces complexantes soufrées analogues à la 2-dipicolylamine. L'étude des propriétés complexantes dans un milieu

acétonitrile/eau 1:1 v/v de deux composés PYR-CN et PYRIM-CN possédant des fluorophores modèles dicyanés n'a pas permis de mettre en évidence une bonne affinité pour le cadmium. Seule la constante de formation d'un complexe ML entre PYR-CN et le mercure a pu être mesurée dans ce milieu ($\log \beta_{11} = 3,78$). Elle demeure en revanche assez faible par rapport à d'autres fluoroionophores de type PCT pour ce cation.

Parallèlement, une série de molécules incorporant un ou plusieurs motifs pyridin-2'-yl-1,2,3-triazoles greffés sur différentes architectures supramoléculaires (β -cyclodextrine, calix[4]arène) a été synthétisée. Les propriétés photophysiques et complexantes de cette nouvelle classe de fluoroionophores ont été intensivement étudiées et comparées par fluorescence stationnaire et résolue en temps. Des constantes de complexation élevées avec le cadmium ont été mesurées pour la cyclodextrine β CD-PT7 ($\log \beta_{11} = 8,8$) et pour le calixarène Calix-PT4 ($\log \beta_{11} = 6,0$) dans le méthanol. Toutefois, la sélectivité de ces composés en présence de cations interférents demeure insuffisante. La détection en milieu aqueux reste en outre problématique et la longueur d'onde d'excitation de ces chromophores ne peut excéder 290 nm. Des composés excitables à plus haute longueur d'onde ont été synthétisés mais ils se sont révélés moins affins pour le cadmium en milieu protique.

La dernière approche qui a été envisagée était l'étude d'un composé commercialisé comme sonde de calcium de faible affinité, le Rhod-5N. Soluble en milieu aqueux à pH = 7 et excitable dans le visible, ce composé associe une pince BAPTA substituée en position 5 par un groupement NO₂ et un fluorophore de type rhodamine. Nous avons alors montré que la fluorescence de ce composé était fortement exaltée d'un facteur supérieur à 20 en présence de cadmium. La constante de complexation pour le cadmium dans un tampon MOPS-KOH 10 mM à pH = 7 a été mesurée ($\log \beta_{11} = 8,85$). La limite de détection est de 3,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, c'est-à-dire du même ordre de grandeur que les recommandations de l'OMS pour les eaux de consommation. La sélectivité s'est révélée satisfaisante par rapport aux cations alcalins ou alcalino-terreux (dont le calcium) et seule la mesure du cadmium en présence de plomb est problématique.

- *détection du césium :*

De nombreux exemples d'extractants et de fluoroionophores sélectifs du césium basés sur des calix[4]arènes mono- ou bis-couronne(6) en conformation 1,3-alternée sont décrits dans la littérature. Néanmoins, il n'existe pas de version hydrosoluble de ces composés pour la détection du césium par fluorescence en milieu totalement aqueux. Afin de combler ce manque, un nouveau calix[4]arène bis-couronnes(6) substitué par deux fluorophores coumariniques à transfert de charge photoinduit et possédant quatre groupements sulfonates (Calix-COUSULF) a été synthétisé. Des constantes de stabilité élevées ont été mesurées avec le césium dans un milieu MES-NaOH 50 mM tamponné à pH = 7 et une excellente sélectivité a été obtenue par rapport au potassium, qui constitue le principal interférent du césium (rapport des constantes de stabilité supérieur à 200). De plus, une limite de détection de 0,3 μM a été atteinte par l'intermédiaire d'une mesure ratiométrique en excitation. Enfin, un modèle de complexation original dû à la présence des groupements sulfonates à proximité du site de complexation a été proposé. Il suggère que la complexation du cation entraîne la présence d'une charge globale négative à proximité du fluorophore coumarine. Cette hypothèse permettant d'expliquer les phénomènes photophysiques induits par la complexation a d'ailleurs été confortée par des calculs de modélisation moléculaire (DFT, B3LYP). Les

perspectives à l'issue de ce travail sont la synthèse et l'étude de nouveaux composés excitables à plus haute longueur d'onde (dans le visible) afin d'étendre le champ d'application d'un tel senseur fluorescent de césium. D'autre part, des expériences de compétition entre ce ligand et un ligand naturel, la Norbadione A, sont actuellement en cours. Des résultats préliminaires encourageants ont été obtenus et l'utilisation de la sonde Calix-COUSULF devrait permettre de mieux caractériser ce ligand naturel du césium, responsable de la bioaccumulation de ce métal dans certains champignons.

En conclusion, l'objectif fixé a été atteint pour l'un des trois cations cibles puisqu'un senseur fluorescent sélectif du césium en milieu aqueux au pH physiologique a été synthétisé. Concernant le plomb, les résultats obtenus permettent d'envisager la synthèse de nouveaux composés dont les propriétés devraient être particulièrement intéressantes. En revanche, la réalisation de fluoroionophores sélectifs du cadmium s'est avérée beaucoup plus complexe même si les propriétés affichées par le Rhod-5N sont intéressantes. De manière générale, l'étape de conception de nouveaux fluoroionophores gagnerait à être optimisée avec l'appui de la modélisation moléculaire. À l'instar de ce qui est déjà réalisé en chimie médicinale, la collaboration avec des chimistes théoriciens devient de plus en plus indispensable dans l'optique de concevoir de nouveaux systèmes complexants.

Partie expérimentale

I. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION	- 199 -
<i>I.1. Généralités</i>	- 199 -
<i>I.2. Modes opératoires</i>	- 200 -
I.2.1. Synthèse des produits du chapitre 2 (plomb)	- 200 -
I.2.2. Synthèse des produits du chapitre 3 (cadmium)	- 212 -
I.2.3. Synthèse des produits du chapitre 4 (césium)	- 235 -
II. MESURES SPECTROSCOPIQUES	- 240 -
<i>II.1. Instrumentation</i>	- 240 -
II.1.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible	- 240 -
II.1.2. Spectroscopie de fluorescence stationnaire	- 240 -
II.1.3. Fluorimétrie impulsionnelle par comptage de photons uniques	- 240 -
II.1.4. Absorption transitoire	- 242 -
<i>II.2. Produits et solvants</i>	- 243 -
<i>II.3. Protocoles expérimentaux</i>	- 244 -
II.3.1. Mesure du rendement quantique de fluorescence	- 244 -
II.3.2. Mesure du pH en milieu organo-aqueux	- 244 -
II.3.3. Détermination de pK_a et de constantes de stabilité	- 245 -
III. MESURES ELECTROCHIMIQUES	- 245 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 246 -

Partie expérimentale

I. Synthèse et caractérisation

I.1. Généralités

Purification des solvants et réactifs :

Les solvants anhydres sont purifiés de la façon suivante : le tétrahydrofurane et le toluène sont distillés sur sodium/benzophénone sous argon tandis que le dichlorométhane est distillé sur P₂O₅ sous argon. Le DMF anhydre est commercialisé chez Aldrich et utilisé sans purification ultérieure. La triéthylamine et l'acétonitrile sont distillés sur hydrure de calcium.¹

Chromatographies :

Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques de silice prêtes à l'emploi : gel de silice 60F₂₅₄ (SDS). Les plaques sont révélées à l'aide d'une lampe UV (254 nm et 365 nm) et éventuellement d'un révélateur au KMnO₄ (solution basique de permanganate de potassium). Les séparations par chromatographie flash sur silice sont réalisées sur gel de silice 40-63 μm (SDS), avec 30 à 40 fois le poids du produit en général.

Analyses :

RMN : les spectres de *résonance magnétique nucléaire du proton* (RMN ¹H) sont enregistrés à 300 MHz sur un appareil Brüker AM 300. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) et la multiplicité des signaux est indiquée comme suit : s = singulet, sl = singulet large, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, qt = quintuplet, sx = sextuplet, m = multiplet, dd = doublet de doublets, dt = doublet de triplets. Dans les attributions des signaux, H_{ar} correspond à un proton aromatique. Les spectres de *résonance magnétique nucléaire du carbone* (RMN ¹³C) sont enregistrés à 75 MHz sur un appareil Brüker AM 300. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Dans les attributions des signaux, C_q correspond à un carbone quaternaire, et C_{ar} à un carbone aromatique.

Analyse élémentaire : les analyses élémentaires sont réalisées au Service Central d'Analyse du Département d'Analyse Élémentaire du CNRS à l'I.C.S.N, Gif sur Yvette.

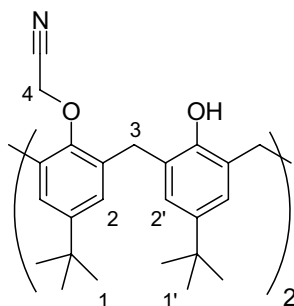
Spectroscopie de masse : les spectres de masse sont enregistrés dans le Service de Spectrométrie de Masse de l'ICMMO à Orsay.

Points de fusion : les points de fusion sont mesurés à l'aide d'un banc Kofler.

I.2. Modes opératoires

I.2.1. Synthèse des produits du chapitre 2 (plomb)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,27-di(cyanométhoxy)calix[4]arène



16

$C_{48}H_{58}N_2O_4$

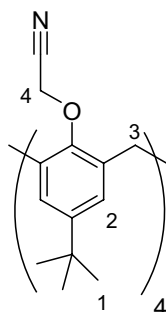
$M = 726,99 \text{ g mol}^{-1}$

Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 3,05 g (4,7 mmol) de *p-tert*-butylcalix[4]arène, 1,85 g (13,4 mmol) de carbonate de potassium, 1,4 mL (20,2 mmol) de bromoacétonitrile et 30 mL d'acétonitrile anhydre distillé sur CaH_2 . Le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 7 heures. Le mélange hétérogène est refroidi à TA, filtré sur fritté et le solide est rincé avec de l'acétonitrile. Le filtrat est évaporé sous pression réduite et le solide visqueux noir est recristallisé dans un mélange $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$. 2,55 g de produit sont obtenus sous la forme d'un solide blanc (75 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 0,88$ (s, 18H, H_1 ou $\text{H}_{1'}$) ; 1,33 (s, 18H, H_1 ou $\text{H}_{1'}$) ; 3,45 (d, $J = 13,6$ Hz, 4H, H_3) ; 4,23 (d, $J = 13,6$ Hz, 4H, H_3) ; 4,81 (s, 4H, H_4) ; 5,54 (s, 2H, OH) ; 6,73 (s, 4H, H_2) ; 7,12 (s, 4H, H_2)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,26,27,28-tétrakis(cyanométhoxy)calix[4]arène



17

$C_{52}H_{60}N_4O_4$

$M = 805,06 \text{ g mol}^{-1}$

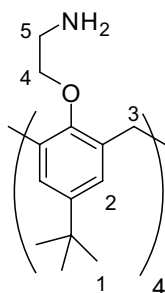
Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 2,52 g (3,7 mmol) de calixarène **16**, 125 mL de DMF anhydre et 1,4 g (35 mmol) de NaH 60 % dans l'huile. Le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à TA puis 2,4 mL (35 mmol) de bromoacétonitrile sont ajoutés. Le milieu prend une coloration noire et le mélange est chauffé à 75°C pendant 40 heures. Après refroidissement à TA, l'excès de NaH est neutralisé par ajout d'EtOH puis d'eau. Le DMF est alors évaporé sous pression réduite et le résidu noir est repris dans le chloroforme. 100 mL d'HCl 1M sont ajoutés et le mélange hétérogène est filtré sur fritté. La phase organique est récupérée, lavée avec 2 × 100 mL de HCl 1M, 3 × 100 mL d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl, 100 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le solide noir récupéré est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle 4:1) et 0,98 g d'un solide blanc sont obtenus (35 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,08 (s, 36H, H₁) ; 3,37 (d, *J* = 13,2 Hz, 4H, H₃) ; 4,35 (d, *J* = 13,2 Hz, 4H, H₃) ; 4,88 (s, 8H, H₄) ; 6,86 (s, 8H, H₂)

CCM : R_F = 0,24 (cyclohexane/acétate d'éthyle 4:1)

5,11,17,23-Tétra-*p*-*tert*-butyl-25,26,27,28-tétrakis(2-aminoéthoxy)calix[4]arène



15

C₅₂H₇₆N₄O₄

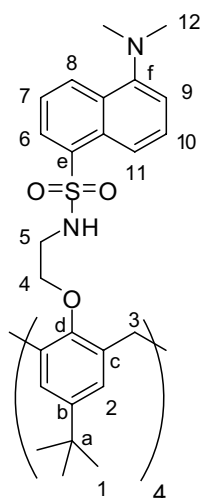
M = 821,18 g mol⁻¹

Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 0,57 g (0,71 mmol) de calixarène **17** et 50 mL de THF anhydre. 28,4 mL (28,4 mmol) de BH₃-THF 1M sont alors ajoutés au goutte à goutte à 0°C puis le milieu est chauffé à reflux pendant 8 heures. 25 mL de HCl 1M sont ajoutés lentement à 0°C et le milieu réactionnel est agité 1 heure à TA. Les solvants sont alors évaporés sous pression réduite puis le résidu est repris dans 25 mL de HCl 6M et le mélange est chauffé au reflux pendant 3 heures. La phase aqueuse est alors lavée avec Et₂O, puis est basifiée par ajout de NaOH jusqu'à pH = 9-10. La phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le solide beige obtenu est recristallisé à 0°C dans un mélange dichlorométhane/Et₂O et 0,19 g d'un solide blanc sont obtenus (33 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,08 (s, 36H, H₁) ; 3,23 (d, *J* = 12,5 Hz, 4H, H₃) ; 3,26-3,37 (m, 8H, H₅) ; 4,01-4,09 (m, 8H, H₄) ; 4,32 (d, *J* = 12,5 Hz, 4H, H₃) ; 6,87 (s, 8H, H₂)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,26,27,28-tétrakis(2-(5-diméthylamino)naphthalène-1-sulfonamidoéthoxy)calix[4]arène



Calix-DNS4

C₁₀₀H₁₂₀N₈O₁₂S₄

M = 1754,33 g mol⁻¹

Solide beige

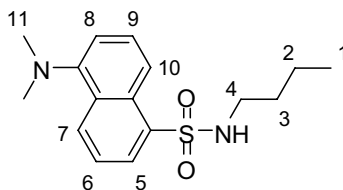
Dans un ballon sous argon sont introduits 100 mg (0,12 mmol) de calixarène **15**, 10 mL de dichlorométhane anhydre et 0,3 mL de triéthylamine. Une solution de 200 mg (0,73 mmol) de chlorure de dansyle dans 7 mL de dichlorométhane anhydre est alors ajoutée et le milieu réactionnel est agité pendant 38 heures à TA. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/AcOEt 1 % jusqu'à 7 %), conduisant à l'obtention de 148 mg de produit sous la forme d'un solide beige (69 %). Une recrystallisation dans un mélange CH₂Cl₂/MeOH permet l'obtention de 65 mg du produit désiré pour les études spectroscopiques sous la forme d'un solide beige.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,07 (s, 36H, H₁) ; 2,84 (s, 24H, H₁₂) ; 2,95 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₃) ; 3,20-3,32 (m, 8H, H₅) ; 3,95-4,05 (m, 8H, H₄) ; 4,11 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₃) ; 6,13 (sl, 4H, NH) ; 6,70 (s, 8H, H₂) ; 7,08 (d, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₉) ; 7,39 (t, *J* = 8,5 Hz, 4H, H₇) ; 7,47 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₁₀) ; 8,23 (d, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₁₁) ; 8,37 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, H₈) , 8,50 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, H₆)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 31,1 (4 C_a) ; 31,5 (12 C₁) ; 34,0 (4 C₃) ; 43,5 (4 C₅) ; 45,6 (8 C₁₂) ; 73,2 (4 C₄) ; 115,4 (4 C_{ar}) ; 119,6 (4 C_{ar}) ; 123,4 (4 C_{ar}) ; 125,6 (8 C₂) ; 128,5 (4 C_{ar}) ; 129,7 (4 C_{ar}) ; 129,9 (4 C_{ar}) ; 130,1 (4 C_{ar}) ; 130,5 (4 C_{ar}) ; 133,4 (8 C_c) ; 134,9 (4 C_e) ; 145,4 (4 C_b) ; 151,9 (4 C_d ou C_f) ; 152,3 (4 C_d ou C_f)

CCM : R_F = 0,44 (CH₂Cl₂/AcOEt 6 %)

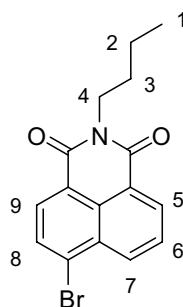
F : 151°C (décomposition)

***N*-butyl-5-(diméthylamino)naphthalène-1-sulfonamide**

Dans-Bu
C₁₆H₂₂N₂O₂S
M = 306,42 g mol⁻¹
Solide beige

Dans un ballon sous argon sont introduits 50 μ L (0,5 mmol) de *n*-butylamine, 0,2 mL de triéthylamine et 8 mL de dichlorométhane anhydre. Une solution de 150 mg (0,56 mmol) de chlorure de dansyle dans 7 mL de dichlorométhane anhydre est alors ajoutée et le milieu réactionnel est agité pendant 22 heures à TA. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/AcOEt 9:1) conduisant à l'obtention de 100 mg de produit sous la forme d'un solide beige (65 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,73 (t, J = 7,0 Hz, 3H, H₁) ; 1,17 (sx, J = 7,0 Hz, 2H, H₂) ; 1,32 (qt, J = 7,0 Hz, 2H, H₃) ; 2,80-2,92 (m, 8H, H₄ et H₁₁) ; 4,77 (t, J = 5,9 Hz, 1H, NH) ; 7,18 (d, J = 7,7 Hz, 1H, H₈) ; 7,48-7,58 (m, 2H, H₉ et H₆) ; 8,24 (d, J = 7,4 Hz, 1H, H₁₀) ; 8,31 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₇) ; 8,54 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅)

4-Bromo-*N*-butyl-1,8-naphtalimide

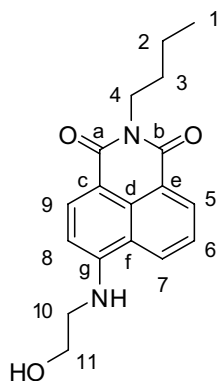
26
C₁₆H₁₄BrNO₂
M = 332,19 g mol⁻¹
Solide légèrement jaune

Dans un ballon sous argon sont introduits 2 g (7,2 mmol) d'anhydride 4-bromo-1,8-naphtalique et 100 mL d'éthanol. 0,71 mL (7,2 mmol) de butylamine sont ajoutés et le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 6 heures. L'éthanol est alors évaporé sous pression réduite et le résidu orange est filtré sur silice (CH₂Cl₂). 2,31 g d'un solide légèrement jaune sont obtenus (96 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,97 (t, J = 7,4 Hz, 3H, H₁) ; 1,17 (sx, J = 7,4 Hz, 2H, H₂) ; 1,64-1,76 (m, 2H, H₃) ; 4,16 (t, J = 7,5 Hz, 2H, H₄) ; 7,82 (dd, J = 7,4 Hz, J = 8,5 Hz, 1H, H₆) ; 8,00 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H₈) ; 8,38 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H₉) ; 8,52 (dd, J = 1,1 Hz, J = 8,5 Hz, 1H, H₅) ; 8,52 (dd, J = 1,1 Hz, J = 7,4 Hz, 1H, H₇)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 13,9$ (C_1) ; 20,5 (C_2) ; 30,3 (C_3) ; 40,5 (C_4) ; 122,4 (C_q) ; 123,3 (C_q) ; 128,2 (CH_{ar}) ; 129,1 (C_q) ; 130,2 (C_q) ; 130,7 (C_q) ; 131,2 (CH_{ar}) ; 131,3 (CH_{ar}) ; 132,1 (CH_{ar}) ; 133,3 (CH_{ar}) ; 163,7 ($\text{C}=\text{O}$) ; 163,7 ($\text{C}=\text{O}$)

4-(*N'*-(2'-hydroxyéthyl)amino)-*N*-butyl-1,8-naphtalimide



27

$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$

$M = 312,36 \text{ g mol}^{-1}$

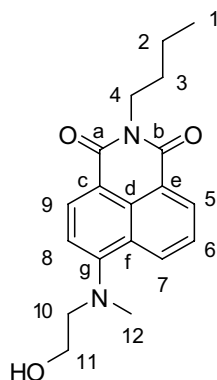
Solide jaune vif

Dans un ballon sous argon sont introduits 2 g (6 mmol) de naphthalimide **26**, 15 mL de HMPA, 0,75 mL (12,3 mmol) d'éthanolamine, 1 g (7,2 mmol) de carbonate de potassium et 3 gouttes d'Aliquat 336. Le milieu réactionnel est chauffé à 90°C pendant 20 heures. Le mélange de couleur orange/marron est refroidi à TA et une solution aqueuse saturée de NH_4Cl est ajoutée. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile orange récupérée est reprise dans l'éther diéthylique et le précipité est filtré sur fritté et rincé avec Et_2O . 1,42 g de produit sous la forme d'un solide jaune vif sont obtenus (76 %).

RMN ^1H (DMSO-d_6 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 0,92$ (t, $J = 7,3$ Hz, 3H, H_1) ; 1,33 (sx, $J = 7,3$ Hz, 2H, H_2) ; 1,59 (qt, $J = 7,3$ Hz, 2H, H_3) ; 3,47 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H, H_{10}) ; 3,72 (q, $J = 5,8$ Hz, 2H, H_{11}) ; 4,01 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H, H_4) ; 4,86 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H, OH) ; 6,82 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H_8) ; 7,68 (m, 2H, H_6 et NH) ; 8,25 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,43 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,69 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H_{ar})

RMN ^{13}C (DMSO-d_6 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 13,7$ (C_1) ; 19,8 (C_2) ; 29,8 (C_3) ; 38,9 (C_4) ; 45,5 (C_{10}) ; 58,8 (C_{11}) ; 103,8 (C_8) ; 107,7 (C_c) ; 120,1 (C_q) ; 121,9 (C_q) ; 124,2 (CH_{ar}) ; 128,5 (CH_{ar}) ; 129,4 (C_q) ; 130,6 (CH_{ar}) ; 134,1 (CH_{ar}) ; 150,8 (C_g) ; 162,9 ($\text{C}=\text{O}$) ; 163,7 ($\text{C}=\text{O}$)

CCM : $R_F = 0,43$ (AcOEt)

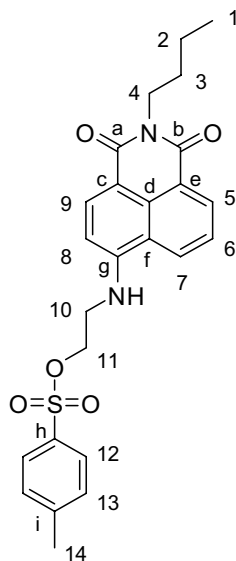
4-(*N'*-(2'-hydroxyéthyl)-*N'*-méthylamino)-*N*-butyl-1,8-naphtalimide**28****C₁₉H₂₂N₂O₃****M = 326,39 g mol⁻¹****Solide jaune vif**

Dans un ballon sous argon sont introduits 0,78 g (2,34 mmol) de naphthalimide **26**, 6 mL de HMPA, 0,39 mL (4,8 mmol) de *N*-méthyléthanolamine, 0,39 g (2,8 mmol) de carbonate de potassium et 2 gouttes d'Aliquat 336. Le milieu réactionnel est chauffé à 90°C pendant 20 heures. Le mélange de couleur orange est refroidi à TA et une solution aqueuse saturée de NH₄Cl est ajoutée. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile orange récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/AcOEt 5 % jusqu'à 20 %) et 692 mg d'un solide jaune vif sont obtenus (91 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,92 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, H₁) ; 1,35 (sx, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₂) ; 1,52-1,70 (m, 2H, H₃) ; 3,02 (s, 3H, H₁₂) ; 3,45 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H, H₁₀) ; 3,90-3,95 (m, 2H, H₄ ou H₁₁) ; 4,00-4,06 (m, 2H, H₄ ou H₁₁) ; 7,09 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H₈) ; 7,49 (dd, *J* = 7,4 Hz, *J* = 8,5 Hz, 1H, H₆) ; 8,29 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,43 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H_{ar})

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 13,3 (C₁) ; 20,3 (C₂) ; 30,1 (C₃) ; 39,9 (C₄) ; 41,4 (C₁₂) ; 58,7 (C₁₁) ; 60,3 (C₁₀) ; 115,0 (C₈) ; 115,7 (C_q) ; 122,9 (C_q) ; 125,2 (C₆) ; 125,9 (C_q) ; 129,9 (C_q) ; 130,8 (CH_{ar}) ; 130,9 (CH_{ar}) ; 132,2 (CH_{ar}) ; 156,6 (C_g) ; 163,9 (C=O) ; 164,4 (C=O)

CCM : R_F = 0,34 (CH₂Cl₂/AcOEt 9:1)

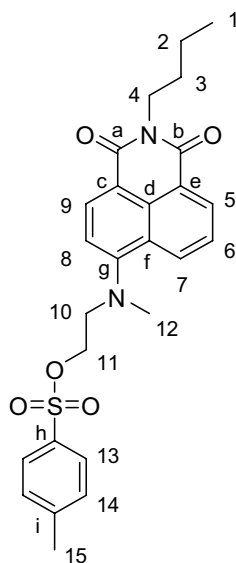
4-(*N'*-(2'-tosyléthyl)amino)-*N*-butyl-1,8-naphtalimide**29****C₂₅H₂₆N₂O₅S****M = 466,55 g mol⁻¹****Solide jaune vif**

Dans un ballon sous argon à 0°C sont introduits 500 mg (1,6 mmol) de naphthalimide **27**, 610 mg (3,2 mmol) de chlorure de tosyloxy et 20 mL de dichlorométhane anhydre. 0,9 mL (6,4 mmol) de triéthylamine sont ajoutés à 0°C au goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité pendant 19 heures à TA. Une solution aqueuse de HCl 1M est ajoutée et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile orange récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 9:1) et 640 mg d'un solide jaune vif sont obtenus (86 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, H₁) ; 1,41 (sx, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₂) ; 1,68 (qt, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₃) ; 2,29 (s, 3H, H₁₄) ; 3,69 (t, *J* = 4,9 Hz, 2H, H₁₀) ; 4,12 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₄) ; 4,39 (t, *J* = 4,9 Hz, 2H, H₁₁) ; 6,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H₈) ; 7,15 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₁₃) ; 7,56 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, H₆) ; 7,72 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₁₂) ; 8,06 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,32 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,51 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H_{ar})

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 13,9 (C₁) ; 20,5 (C₂) ; 21,6 (C₁₄) ; 30,4 (C₃) ; 40,0 (C₄) ; 42,5 (C₁₀) ; 67,5 (C₁₁) ; 104,1 (C₈) ; 111,2 (C_c) ; 120,5 (C_q) ; 123,1 (C_q) ; 125,1 (CH_{ar}) ; 126,3 (CH_{ar}) ; 127,9 (2 C₁₂) ; 129,6 (C_q) ; 130,0 (2 C₁₃) ; 131,2 (CH_{ar}) ; 132,2 (C_q) ; 134,0 (CH_{ar}) ; 145,4 (C_h) ; 148,5 (C_g) ; 164,1 (C=O) ; 164,6 (C=O)

CCM : R_F = 0,27 (CH₂Cl₂)

4-(*N'*-(2'-tosyléthyl)-*N'*-méthylamino)-*N*-butyl-1,8-naphtalimide**30****C₂₆H₂₈N₂O₅S****M = 480,58 g mol⁻¹****Solide jaune vif**

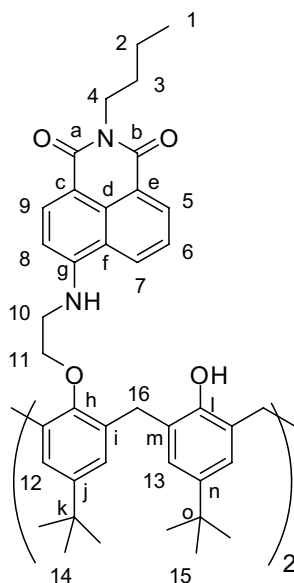
Dans un ballon sous argon à 0°C sont introduits 670 mg (2,07 mmol) de naphthalimide **28**, 790 mg (4,1 mmol) de chlorure de tosyloxy et 20 mL de dichlorométhane anhydre. 1,15 mL (8,3 mmol) de triéthylamine sont ajoutés à 0°C au goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité pendant 17 heures à TA. Une solution aqueuse de HCl 1M est ajoutée et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile orange récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 9:1) et 560 mg d'un solide jaune vif sont obtenus (56 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, H₁) ; 1,41 (sx, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₂) ; 1,68 (qt, 2H, H₃) ; 2,36 (s, 3H, H₁₅) ; 2,99 (s, 3H, H₁₂) ; 3,58 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H, H₁₀) ; 4,13 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₄) ; 4,26 (t, *J* = 5,3 Hz, 2H, H₁₁) ; 7,10 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H₈) ; 7,19 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₁₄) ; 7,61 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, H₆) ; 7,65 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₁₃) ; 8,35 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,37 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,51 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H_{ar})

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 13,9 (C₁) ; 20,4 (C₂) ; 21,6 (C₁₅) ; 30,3 (C₃) ; 40,1 (C₄) ; 42,2 (C₁₂) ; 54,9 (C₁₀) ; 66,8 (C₁₁) ; 115,9 (C₈) ; 116,8 (C_q) ; 123,2 (C_q) ; 125,7 (CH_{ar}) ; 126,2 (C_q) ; 127,8 (2 C₁₃) ; 129,8 (2 C₁₄) ; 129,9 (C_q) ; 130,4 (CH_{ar}) ; 131,1 (CH_{ar}) ; 132,7 (CH_{ar}) ; 132,7 (C_q) ; 145,1 (C_h) ; 155,3 (C_g) ; 163,9 (C=O) ; 164,4 (C=O)

CCM : R_F = 0,37 (CH₂Cl₂)

5,11,17,23-Tétra-*p*-*tert*-butyl-25,27-di(2-(4-amino-*N*-butyl-1,8-naphtalimide)éthylèneoxy) calix[4]arène



31

C₈₀H₉₂N₄O₈

M = 1237,61 g mol⁻¹

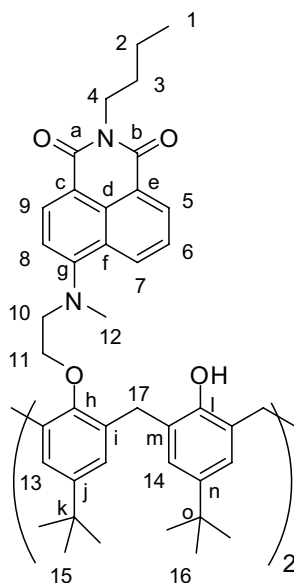
Solide jaune vif

Dans un ballon sous argon sont introduits 150 mg (0,23 mmol) de *tert*-butylcalix[4]arène, 320 mg (2,3 mmol) de carbonate de potassium et 10 mL d'acétonitrile distillé. Après agitation pendant 45 minutes à TA, une solution de 230 mg (0,49 mmol) de **29** dans 5 mL d'acétonitrile est ajoutée. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 15 heures et l'acétonitrile est évaporé sous pression réduite. Une solution aqueuse de HCl 1M est ajoutée et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le solide jaune récupéré est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 2 % jusqu'à 10 %) et 59 mg d'un solide jaune vif sont obtenus (21 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,02 (t, *J* = 7,4 Hz, 6H, H₁) ; 1,03 (s, 18H, H₁₄ ou H₁₅) ; 1,33 (s, 18H, H₁₄ ou H₁₅) ; 1,51 (sx, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₂) ; 1,81 (qt, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₃) ; 3,05-3,16 (m, 4H, H₁₀) ; 3,50 (d, *J* = 13,2 Hz, 4H, H₁₆) ; 4,16-4,26 (m, 8H, H₄ et H₁₁) ; 4,31 (d, *J* = 13,2 Hz, 4H, H₁₆) ; 5,73 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H₈) ; 6,67 (sl, 2H, OH) ; 6,94 (s, 4H, H₁₃) ; 7,18 (s, 4H, H₁₂) ; 7,31 (dd, *J* = 7,5 Hz, *J* = 8,2 Hz, 2H, H₆) ; 7,75 (s, 2H, NH) ; 7,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,50 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,55 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H, H_{ar})

CCM : R_F = 0,09 (CH₂Cl₂)

5,11,17,23-Tétra-*p*-*tert*-butyl-25,27-di(2-(4-méthylamino-*N*-butyl-1,8-naphtalimide)éthylèneoxy)calix[4]arène



32

C₈₂H₉₆N₄O₈

M = 1265,66 g mol⁻¹

Solide jaune vif

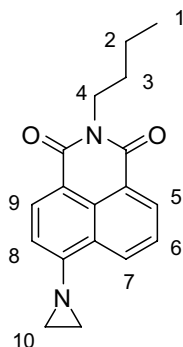
Dans un ballon sous argon sont introduits 162 mg (0,25 mmol) de *tert*-butylcalix[4]arène, 86 mg (0,63 mmol) de carbonate de potassium et 15 mL d'acétone. Après agitation pendant 30 minutes à TA, une solution de 500 mg (0,63 mmol) de **30** dans 5 mL d'acétone est ajoutée. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 4 jours et l'acétone est évaporée sous pression réduite. Une solution aqueuse de HCl 1M est ajoutée et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le solide jaune récupéré est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 2 % jusqu'à 5 %) et 270 mg d'un solide jaune vif sont obtenus (84 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,92 (s, 18H, H₁₅ ou H₁₆) ; 0,99 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H, H₁) ; 1,37 (s, 18H, H₁₅ ou H₁₆) ; 1,44 (sx, *J* = 7,2 Hz, 4H, H₂) ; 1,69 (qt, *J* = 7,2 Hz, 4H, H₃) ; 3,07 (s, 6H, H₁₂) ; 3,40 (d, *J* = 13,2 Hz, 4H, H₁₇) ; 3,48-3,60 (m, 4H, H₁₀) ; 4,02-4,20 (m, 8H, H₄ et H₁₁) ; 4,45 (d, *J* = 13,2 Hz, 4H, H₁₇) ; 6,48 (s, 2H, OH) ; 6,73 (s, 4H, H₁₄) ; 7,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H₈) ; 7,16 (s, 4H, H₁₃) ; 7,60 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, H₆) ; 8,18-8,29 (m, 4H, H_{ar}) ; 8,77 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{ar})

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 13,9 (2 C₁) ; 20,5 (2 C₂) ; 30,2 (2 C₃) ; 31,0 (6 C₁₅ ou C₁₆) ; 31,2 (4 C₁₇) ; 31,8 (6 C₁₅ ou C₁₆) ; 33,9 (2 C_k ou C_o) ; 34,0 (2 C_k ou C_o) ; 40,1 (2 C₄) ; 40,7 (2 C₁₂) ; 57,5 (2 C₁₀) ; 73,3 (2 C₁₁) ; 114,7 (C_{ar}) ; 115,9 (C_{ar}) ; 122,3 (C_{ar}) ; 125,3 (C_{ar}) ; 125,4 (C_{ar}) ; 125,7 (C_{ar}) ; 128,1 (C_{ar}) ; 129,4 (C_{ar}) ; 130,6 (C_{ar}) ; 131,7 (C_{ar}) ; 142,1 (2 C_j ou C_n) ; 147,3 (2 C_j ou C_n) ; 150,2 (2 C_h ou C_l) ; 150,5 (2 C_h ou C_l) ; 156,1 (2 C_g) ; 163,5 (2 C=O) ; 164,4 (2 C=O)

CCM : R_F = 0,36 (CH₂Cl₂)

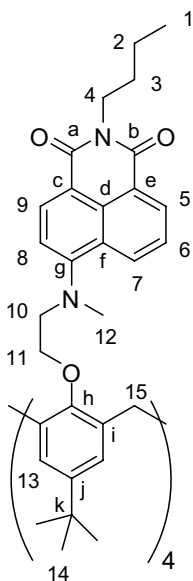
F : 143°C (décomposition)

4-Aziridin-*N*-butyl-1,8-naphtalimide**33****C₁₈H₁₈N₂O₂****M = 294,35 g mol⁻¹****Solide jaune**

Ce composé est obtenu lors de la synthèse de **31** et est purifié par chromatographie sur gel de silice. 84 mg de produit sont isolés sous la forme d'un solide jaune fluorescent.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,95 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H, H₁) ; 1,41 (sx, *J* = 7,3 Hz, 2H, H₂) ; 1,64-1,71 (m, 2H, H₃) ; 2,42 (s, 4H, H₁₀) ; 4,13 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H₄) ; 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₈) ; 7,70 (dd, *J* = 7,3 Hz, *J* = 8,4 Hz, 1H, H₆) ; 8,42 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H₉) ; 8,55 (dd, *J* = 7,3 Hz, *J* = 1,1 Hz, 1H, H_{ar}) ; 8,59 (dd, *J* = 8,4 Hz, *J* = 1,1 Hz, 1H, H_{ar})

CCM : R_F = 0,45 (CH₂Cl₂)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,26,27,28-tétrakis(2-(4-méthylamino-*N*-butyl-1,8-naphtalimide)éthylèneoxy)calix[4]arène**Calix-NAPHT4-Me****C₁₂₀H₁₃₆N₈O₁₂****M = 1882,41 g mol⁻¹****Solide jaune vif**

Dans un ballon sous argon sont introduits 58 mg (0,046 mmol) de calixarène **32**, 1 mL de DMF anhydre, 3,5 mL de THF anhydre et 10 mg (0,23 mmol) de NaH 60 % dans l'huile. Le milieu réactionnel est agité pendant 20 minutes à TA et 55 mg (0,115 mmol) de dérivé tosylé **30** sont ajoutés. Le mélange est alors chauffé au reflux pendant 14 heures. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et de l'eau Millipore est ajoutée. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile orange récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 2 % jusqu'à 10 %). Le solide jaune obtenu est alors recristallisé dans le méthanol et 37 mg de produit sont obtenus (43 %).

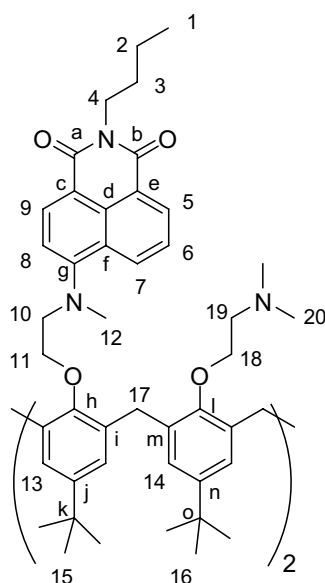
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 12H, H₁) ; 1,08 (s, 36H, H₁₄) ; 1,40 (sx, *J* = 7,4 Hz, 8H, H₂) ; 1,64 (qt, *J* = 7,4 Hz, 8H, H₃) ; 2,78 (s, 12H, H₁₂) ; 3,08 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₁₅) ; 3,51-3,63 (m, 8H, H₁₀) ; 4,08-4,20 (m, 16H, H₄ et H₁₁) ; 4,30 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₁₅) ; 6,77 (s, 8H, H₁₃) ; 6,93 (d, *J* = 8,4 Hz, 4H, H₈) ; 7,43 (t, *J* = 7,9 Hz, 4H, H₆) ; 8,02 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,31 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H, H_{ar}) ; 8,41 (d, *J* = 7,0 Hz, 4H, H_{ar})

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 13,9 (4 C₁) ; 20,5 (4 C₂) ; 30,3 (4 C₃) ; 31,4 (4 C₁₅) ; 31,5 (12 C₁₄) ; 34,0 (4 C_k) ; 40,2 (4 C₄) ; 43,6 (4 C₁₂) ; 55,5 (4 C₁₀) ; 71,2 (4 C₁₁) ; 114,1 (4 C₈) ; 116,0 (4 C_c) ; 123,3 (4 C_q) ; 125,2 (4 CH_{ar}) ; 125,5 (8 C₁₃) ; 125,7 (4 C_q) ; 130,1 (4 C_q) ; 130,4 (4 CH_{ar}) ; 131,0 (4 CH_{ar}) ; 132,1 (4 CH_{ar}) ; 133,3 (8 C_i) ; 145,6 (4 C_j) ; 152,7 (4 C_h) ; 156,0 (4 C_g) ; 163,7 (4 C=O) ; 164,2 (4 C=O)

CCM : R_F = 0,41 (CH₂Cl₂/AcOEt 5 %)

F : 176°C (décomposition)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,27-di(2-(4-méthylamino-*N*-butyl-1,8-naphtalimide)éthylèneoxy)-26,28-di(*N,N*-diméthylaminoéthoxy)calix[4]arène



Calix-NAPHT2-Me

C₉₀H₁₁₄N₆O₈

M = 1407,90 g mol⁻¹

Solide jaune vif

Dans un ballon sous argon sont introduits 100 mg (0,079 mmol) de calixarène **32**, 2 mL de DMF anhydre, 7 mL de THF anhydre et 37 mg (0,92 mmol) de NaH 60 % dans l'huile. Le milieu réactionnel est agité pendant 20 minutes à TA et 78 mg (0,55 mmol) de chlorhydrate de 2-chloroéthyl-*N,N*-diméthylamine sont ajoutés. Le mélange est alors chauffé au reflux pendant 14 heures. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et de l'eau Millipore est ajoutée. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile orange récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 2 % jusqu'à 10 %). 80 mg de produit sous la forme d'un solide jaune sont obtenus (72 %). Une recristallisation dans le MeOH à 0°C permet l'obtention de 37 mg du produit désiré pour les études spectroscopiques sous la forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,91 (s, 18H, H₁₅ ou H₁₆) ; 0,97 (t, *J* = 7,4 Hz, 6H, H₁) ; 1,22 (s, 18H, H₁₅ ou H₁₆) ; 1,44 (sx, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₂) ; 1,64 (qt, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₃) ; 2,13 (s, 12H, H₂₀) ; 2,54-2-68 (m, 4H, H₁₉) ; 3,03 (s, 6H, H₁₂) ; 3,09 (d, *J* = 12,5 Hz, 4H, H₁₇) ; 3,81 (t, *J* = 6,8 Hz, 4H, H₁₈) ; 3,81 (t, *J* = 7,0 Hz, 4H, H₁₀) ; 4,17 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₄) ; 4,35 (d, *J* = 12,5 Hz, 4H, H₁₇) ; 4,49 (t, *J* = 7,0 Hz, 4H, H₁₁) ; 6,56 (s, 4H, H₁₄) ; 6,95 (s, 4H, H₁₃) ; 7,23 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₈) ; 7,55 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H, H₆) ; 8,22 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,48 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H_{ar}) ; 8,55 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, H_{ar})

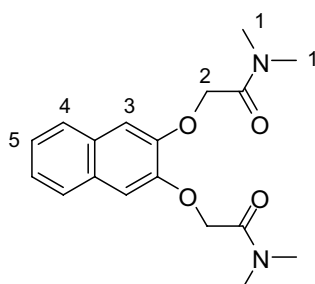
RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 14,0 (2 C₁) ; 20,5 (2 C₂) ; 30,4 (2 C₃) ; 31,3 (6 C₁₅ ou C₁₆) ; 31,5 (4 C₁₇) ; 31,7 (6 C₁₅ ou C₁₆) ; 33,8 (2 C_k ou C_o) ; 34,1 (2 C_k ou C_o) ; 40,2 (2 C₄) ; 43,8 (2 C₁₂) ; 45,9 (4 C₂₀) ; 55,7 (2 C₁₉) ; 58,9 (2 C₁₀) ; 71,0 (2 C₁₈) ; 72,7 (2 C₁₁) ; 114,5 (2 C₈) ; 115,9 (2 C_c) ; 123,4 (2 C_q) ; 125,0 (4 C₁₃ ou C₁₄) ; 125,2 (2 CH_{ar}) ; 125,7 (4 C₁₃ ou C₁₄) ; 126,1 (2 C_q) ; 130,3 (2 C_q) ; 130,9 (2 CH_{ar}) ; 131,2 (2 CH_{ar}) ; 132,4 (2 CH_{ar}) ; 132,5 (4 C_i ou C_m) ; 134,6 (4 C_i ou C_m) ; 144,9 (2 C_j ou C_n) ; 145,4 (2 C_j ou C_n) ; 152,8 (2 C_h ou C₁) ; 153,5 (2 C_h ou C₁) ; 156,7 (2 C_g) ; 164,1 (2 C=O) ; 164,6 (2 C=O)

CCM : R_F = 0,28 (CH₂Cl₂/MeOH 5 %)

F : 189°C

I.2.2. Synthèse des produits du chapitre 3 (cadmium)

2,2'-(Naphthalène-2,3-diylbis(oxy))bis(*N,N*-diméthylacétamide)



AMI-NAPH
C₁₈H₂₂N₂O₄
M = 330,38 g mol⁻¹
Solide blanc

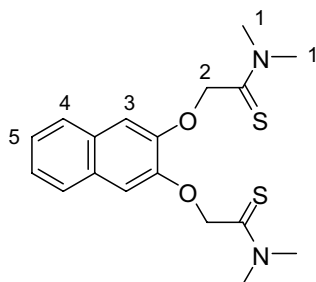
Dans un ballon sous argon sont introduits 624 mg (15,6 mmol) de NaH 60 % dans l'huile lavé avec avec 2×5 mL d'éther de pétrole, puis 35 mL de DMF anhydre et 500 mg (3,12 mmol) de 2,3-dihydroxynaphtalène sont ajoutés. Le milieu est agité à TA pendant une heure puis le chlorure de *N,N*-diméthylacétamide (1,06 mL, 10,3 mmol) est ajouté au goutte à goutte. Le milieu est alors chauffé à 60°C pendant 2h30 et prend une coloration orangée. Le DMF est évaporé sous pression réduite et le résidu est repris dans un mélange dichlorométhane/solution aqueuse saturée de NH_4Cl . La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis les phases organiques sont réunies, lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 puis $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 2 % jusqu'à 5 %), et 712 mg d'un solide blanc sont obtenus (65 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 2,88$ (s, 6H, H_1) ; 3,02 (s, 6H, H_1) ; 4,77 (s, 4H, H_2) ; 7,13 (s, 2H, H_3) ; 7,25 (dd, $J = 6,3$ Hz, $J = 3,3$ Hz, 2H, H_5) ; 7,59 (dd, $J = 6,3$ Hz, $J = 3,3$ Hz, 2H, H_4)

CCM : $R_F = 0,40$ (dichlorométhane/méthanol 95:5)

F : 159°C

2,2'-(Naphthalène-2,3-diylbis(oxy))bis(*N,N*-diméthylthioacétamide)



THIO-NAPH
 $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$
 $M = 362,51 \text{ g mol}^{-1}$
Solide blanc

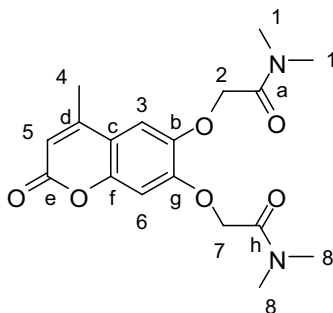
Dans un ballon sous argon sont introduits le composé amide AMI-NAPH (209 mg, 0,63 mmol) et 20 mL de toluène anhydre. Le réactif de Lawesson est ajouté (281 mg, 0,70 mmol) et le milieu est chauffé à 60°C pendant 20 minutes. Le toluène est évaporé sous pression réduite et la pâte jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2 puis $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1 % jusqu'à 2 %). 156 mg d'un solide blanc sont obtenus (68 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 3,46$ (s, 6H, H_1) ; 5,20 (s, 4H, H_2) ; 7,35 (dd, $J = 6,2$ Hz, $J = 3,3$ Hz, 2H, H_5) ; 7,39 (s, 2H, H_3) ; 7,68 (dd, $J = 6,2$ Hz, $J = 3,3$ Hz, 2H, H_4)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 42,5$ (2 C_1) ; 44,9 (2 C_1) ; 75,7 (2 C_2) ; 110,2 (2 C_3) ; 124,9 (2 C_5) ; 126,7 (2 C_4) ; 129,5 (2 C_q) ; 147,4 (2 $\text{C}_q\text{-O}$) ; 195,6 (2 $\text{C}=\text{S}$)

CCM : $R_F = 0,42$ (dichlorométhane/méthanol 98:2)

F : 145°C

2,2'-(4-Méthylcoumarine-6,7-diyl)bis(oxy)bis(*N,N*-diméthylacétamide)

AMI-COU
C₁₈H₂₂N₂O₆
M = 362,38 g mol⁻¹
Solide blanc

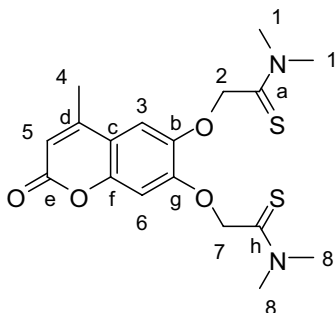
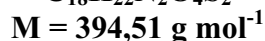
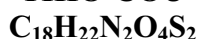
Dans un ballon sous argon sont introduits 500 mg (5,6 mmol) de 4-méthyl-6,7-dihydroxycoumarine et 20 mL de DMF anhydre. 416 mg (10,4 mmol) de NaH 60 % dans l'huile sont ajoutés et le milieu est agité à TA pendant une heure. 0,89 mL (8,6 mmol) de chlorure de *N,N*-diméthylacétamide sont ajoutés au goutte à goutte et le mélange réactionnel est chauffé à 60°C pendant une 20 heures. Le DMF est évaporé sous pression réduite et le résidu est repris dans un mélange dichlorométhane/solution aqueuse saturée de NH₄Cl. La phase aqueuse est extraite au dichlorométhane puis les phases organiques sont réunies, lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le solide beige obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 5 %) et 658 mg d'un solide blanc sont obtenus (70 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,36 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H, H₄) ; 2,96 (s, 3H, H₁ ou H₈) ; 2,99 (s, 3H, H₁ ou H₈) ; 3,08 (s, 3H, H₁ ou H₈) ; 3,09 (s, 3H, H₁ ou H₈) ; 4,83 (s, 2H, H₂ ou H₇) ; 4,85 (s, 2H, H₂ ou H₇) ; 6,14 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H, H₅) ; 6,74 (s, 1H, H₃) ; 7,26 (s, 1H, H₆)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 18,9 (C₄) ; 35,8 (2 C₁ ou C₈) ; 36,2 (C₁ ou C₈) ; 36,7 (C₁ ou C₈) ; 66,9 (C₂ ou C₇) ; 69,8 (C₂ ou C₇) ; 101,9 (C₆) ; 111,7 (C₃ ou C₅ ou C_c) ; 112,8 (C₃ ou C₅ ou C_c) ; 113,7 (C₃ ou C₅ ou C_c) ; 144,7 (C_b) ; 150,0 (C_f) ; 152,0 (C_d ou C_g) ; 152,6 (C_d ou C_g) ; 161,3 (C_e) ; 166,3 (C_a ou C_h) ; 167,9 (C_a ou C_h)

CCM : R_F = 0,43 (dichlorométhane/méthanol 95:5)

F : 198°C

2,2'-(4-Méthylcoumarine-6,7-diyl)bis(oxy)bis(N,N-diméthylthioacétamide)**THIO-COU****Solide blanc**

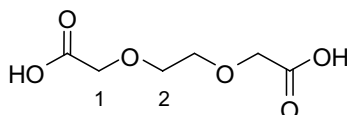
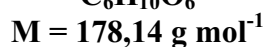
Dans un ballon sous argon sont introduits le composé amide AMI-COU (100 mg, 0,28 mmol) et 10 mL de toluène anhydre. Le réactif de Lawesson est ajouté (123 mg, 0,30 mmol) et le milieu est chauffé à 60°C jusqu'à dissolution complète des réactifs. Le toluène est alors évaporé sous pression réduite et le produit brut obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 3 % jusqu'à 10 %). Une seconde purification (dichlorométhane puis dichlorométhane /acétone 3 % jusqu'à 5 %) permet l'obtention de 79 mg d'un solide blanc (72 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,36 (s, 3H, H₄) ; 3,42 (s, 6H, H₁ ou H₈) ; 3,46 (s, 3H, H₁ ou H₈) ; 3,49 (s, 3H, H₁ ou H₈) ; 5,08 (s, 2H, H₂ ou H₇) ; 5,18 (s, 2H, H₂ ou H₇) ; 6,12 (s, 1H, H₅) ; 6,94 (s, 1H, H₃) ; 7,52 (s, 1H, H₆)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 19,1 (C₄) ; 42,0 (C₁ ou C₈) ; 42,6 (C₁ ou C₈) ; 44,8 (C₁ ou C₈) ; 44,9 (C₁ ou C₈) ; 74,7 (C₂ ou C₇) ; 76,4 (C₂ ou C₇) ; 102,8 (C₆) ; 110,5 (C₃ ou C₅) ; 112,8 (C₃ ou C₅) ; 113,7 (C_c) ; 144,1 (C_b) ; 149,5 (C_f) ; 150,7 (C_d ou C_g) ; 152,8 (C_d ou C_g) ; 161,2 (C_e) ; 194,4 (C_a ou C_h) ; 195,4 (C_a ou C_h)

CCM : R_F = 0,38 (dichlorométhane/acétone 95:5)

F : 182°C

Acide 2,2'-(éthane-1,2-diylbis(oxy))diacétique**21****Huile orange**

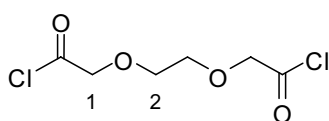
Dans un erlenmeyer sous agitation magnétique sont introduits 70 mL d'acide nitrique 70 %. La solution est chauffée à 45°C et 3,6 mL (27 mmol) de triéthylèneglycol sont ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à 65°C. La solution devient jaune et des fumées rousses apparaissent. Le

mélange réactionnel est alors amené à une température de 45°C de sorte que le dégagement de fumée soit modéré. 14,2 mL (106 mmol) de triéthylèneglycol sont ajoutés par fractions de 1 mL sur une durée de 1 heure, la température du milieu réactionnel ne dépassant pas 50°C. A la fin de l'ajout, le milieu réactionnel est chauffé 20 minutes à 45°C puis 40 minutes à 80°C. Le milieu vert foncé se décolore progressivement. L'acide nitrique est évaporé sous pression réduite conduisant à l'obtention d'un liquide jaune. 120 mL de toluène sont ajoutés et le mélange est chauffé au reflux dans un ballon surmonté d'un Dean-Stark pendant 14 heures. Le toluène est alors évaporé sous pression réduite et 24 g d'une pâte orange sont obtenus (100 %).

RMN ¹H (acétone-d₆, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 3,78 (s, 4H, H₂) ; 4,18 (s, 4H, H₁)

RMN ¹³C (acétone-d₆, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 68,9 (2 C₁) ; 71,7 (2 C₂) ; 172,0 (2 C=O)

Chlorure de l'acide 2,2'-(éthane-1,2-diylbis(oxy))diacétique



22

C₆H₈Cl₂O₄

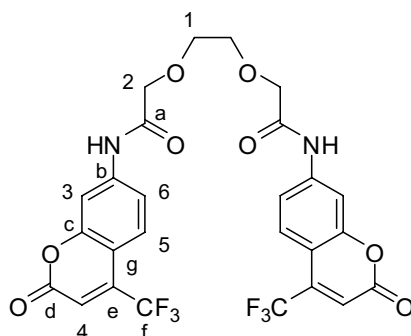
M = 215,03 g mol⁻¹

Huile jaune

Dans un ballon sous argon sont introduits 444 mg (2,49 mmol) de diacide **21**, 40 mL de toluène anhydre et 2,6 mL (29,9 mmol) de chlorure d'oxalyle. Le milieu réactionnel est chauffé à 90°C pendant 3 heures puis le toluène est évaporé sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est réengagée immédiatement dans des réactions d'acylation avec différentes amines.

RMN ¹H (acétone-d₆, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 4,72 (s, 4H, H₂) ; 3,87 (s, 4H, H₁)

2,2'-(Ethane-1,2-diylbis(oxy))bis(7-amido-4-(trifluorométhyl)-coumarine)



AMI-COU2

C₂₆H₁₈F₆N₂O₈

M = 600,42 g mol⁻¹

Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits la 7-amino-4-trifluorométhylcoumarine (262 mg, 1,09 mmol), la triéthylamine (175 μ L, 1,25 mmol) et 7 mL de THF anhydre. Une solution de chlorure d'acide **22** (0,52 mmol) dans 2,5 mL de THF anhydre est alors ajoutée au goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité pendant 40 heures à température ambiante. La réaction est arrêtée par ajout de H₂O et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 3:2 jusqu'à 1:1 et enfin AcOEt) et 92 mg d'un solide blanc sont obtenus (29 %).

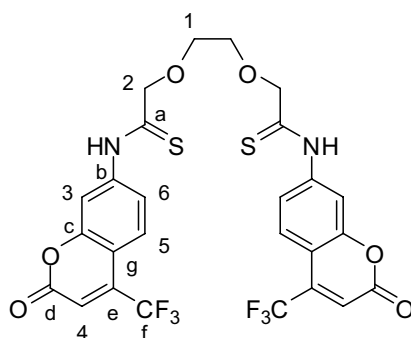
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz, δ en ppm) : 3,82 (s, 4H, H₁) ; 4,23 (s, 4H, H₂) ; 6,87 (s, 2H, H₄) ; 7,5-7,7 (m, 4H, H₅ et H₆) ; 7,87 (s, 2H, H₃) ; 10,28 (s, 2H, NH)

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 70,1 (2 C₁ ou C₂) ; 70,3 (2 C₁ ou C₂) ; 106,5 (2 C₃) ; 108,2 (2 C₄) ; 114,3 (2 C_g) ; 116,2 (2 C₆) ; 123,4 (2 C_f) ; 125,1 (2 C₅) ; 138,9 (2 C_b) ; 142,6 (2 C_e) ; 154,4 (2 C_c) ; 158,4 (2 C_d) ; 169,3 (2 C_a)

CCM : R_F = 0,27 (CH₂Cl₂/AcOEt 1:1)

F : 201°C

2,2'-(Ethane-1,2-diylbis(oxy))bis(7-thioamido-4-(trifluorométhyl)-coumarine)



THIO-COU2

C₂₆H₁₈F₆N₂O₆S₂

M = 632,55 g mol⁻¹

Solide jaune

Dans un ballon sous argon sont introduits le composé amide AMI-COU2 (88 mg, 0,15 mmol) et 5 mL de toluène anhydre. Le réactif de Lawesson est ajouté (130 mg, 0,32 mmol) et le milieu est chauffé à 90°C pendant 16 heures. Le toluène est alors évaporé sous pression réduite et le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 95:5 jusqu'à 1:1). 72 mg d'un solide jaune impur sont obtenus. Celui-ci est repris dans le dichlorométhane dans lequel il est peu soluble et filtré sur fritté. 40 mg de THIO-COU2 pur sont alors obtenus sous la forme d'un solide jaune (43 %).

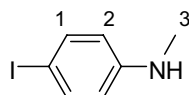
RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz, δ en ppm) : 3,87 (s, 4H, H₁) ; 4,53 (s, 4H, H₂) ; 7,03 (s, 2H, H₄) ; 7,65 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H₅) ; 7,84 (dd, J = 8,1 Hz, J = 1,8 Hz, 2H, H₆) ; 8,27 (d, J = 1,8 Hz, 2H, H₃) ; 11,50 (sl, 2H, NH)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 69,8$ (2 C_1) ; $78,1$ (2 C_2) ; $110,6$ (2 C_3) ; $110,6$ (2 C_4) ; $116,2$ (2 C_g) ; $120,1$ (2 C_6) ; $123,3$ (2 C_f) ; $124,7$ (2 C_5) ; $138,5$ (2 C_b) ; $142,4$ (2 C_e) ; $153,7$ (2 C_c) ; $158,1$ (2 C_d) ; $199,3$ (2 C_a)

CCM : $R_F = 0,82$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ 1:1)

F : 202°C

(4-Iodo-phényl)-méthylamine



24

$\text{C}_7\text{H}_8\text{IN}$

$M = 233,05 \text{ g mol}^{-1}$

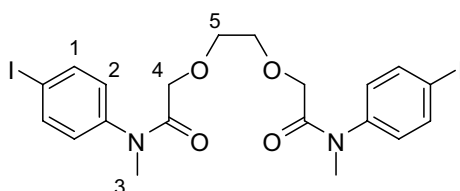
Liquide légèrement jaune

Dans un ballon sous argon sont introduits 2 g (9,13 mmol) de 4-iodoaniline, 50 mL de THF anhydre et 1,25 mL (20,1 mmol) d'iodure de méthyle. 400 mg (10 mmol) de NaH 60 % dans l'huile sont alors ajoutés et le milieu réactionnel est chauffé à 50°C pendant 16 heures. De l'eau est ajoutée et le milieu est extrait avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. La purification du brut réactionnel par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/dichlorométhane 7:3) permet d'obtenir 0,72 g (34 %) du produit monométhylé sous la forme d'un liquide légèrement jaune.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 2,81$ (s, 3H, H_3) ; $6,39$ (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H_2) ; $7,43$ (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H_1)

CCM : $R_F = 0,31$ (cyclohexane/dichlorométhane 7:3)

2,2'-(Ethane-1,2-diylbis(oxy))bis(*N*-(4-iodophényl)-*N*-méthylacétamide)



25

$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{I}_2\text{N}_2\text{O}_4$

$M = 608,21 \text{ g mol}^{-1}$

Huile jaune

Dans un ballon sous argon sont introduits l'amine secondaire **24** (1,28 g, 5,5 mmol), la triéthylamine (830 μL , 6,0 mmol) et 40 mL de THF anhydre. Une solution de chlorure d'acide **22** (2,5 mmol) dans 10 mL de THF anhydre est alors ajoutée au goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité pendant 16 heures à température ambiante. La solution se trouble et prend une coloration marron. La réaction est arrêtée par ajout de H_2O et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle.

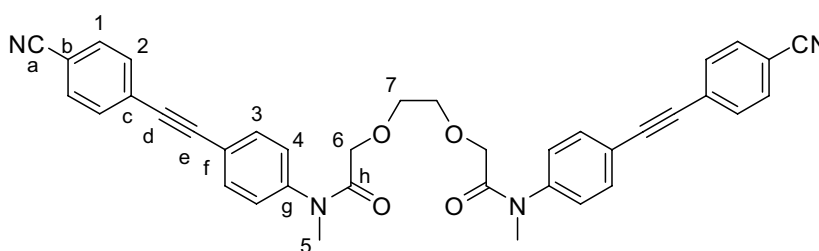
Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (AcOEt puis CH₂Cl₂/MeOH 10 %) et 1,07 g d'une huile jaune sont obtenus (71 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : 3,12 (s, 6H, H₃) ; 3,47 (s, 4H, H₅) ; 3,77 (s, 4H, H₄) ; 6,87 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H₂) ; 7,62 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H₁)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 37,0 (2 C₃) ; 69,2 (2 C₄) ; 70,5 (2 C₅) ; 93,0 (2 C-I) ; 128,8 (4 C₂) ; 138,7 (4 C₁) ; 142,0 (2 C-N) ; 168,5 (2 C=O)

CCM : R_F = 0,35 (AcOEt)

2,2'-(Ethane-1,2-diylbis(oxy))bis(*N*-(4-((4-cyanophényl)éthynyl)phényl)-*N*-méthylacétamide)



AMI-BAT
C₃₈H₃₀N₄O₄
M = 606,67 g mol⁻¹
Solide blanc

Dans un ballon sont introduits 217 mg (0,36 mmol) de composé diiodé **25**, 96 mg (0,76 mmol) de 4-éthynylbenzonitrile, 20 mL de toluène anhydre et 3,6 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé puis 25 mg (0,022 mmol) de Pd(PPh₃)₄ et 8,4 mg (0,044 mmol) de CuI sont ajoutés rapidement. Le milieu réactionnel est de nouveau dégazé puis chauffé à 50°C pendant 20 heures. Le mélange réactionnel inhomogène jaune est refroidi à TA et filtré sur fritté. Le solide blanc obtenu est lavé avec du toluène puis solubilisé dans le chloroforme. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée de NH₄Cl et la phase aqueuse est ensuite réextraite avec du chloroforme. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. 207 mg de produit sous la forme d'un solide blanc sont obtenus (95 %).

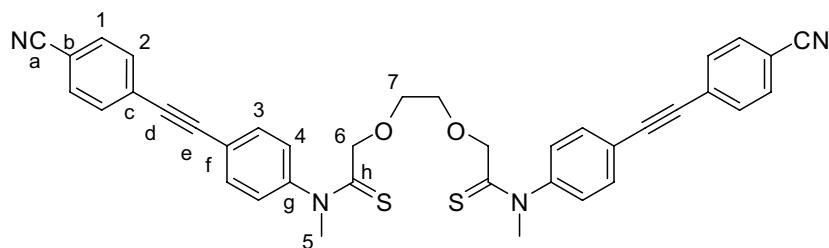
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : 3,27 (s, 6H, H₅) ; 3,61 (s, 4H, H₇) ; 3,94 (s, 4H, H₆) ; 7,21 (d, *J* = 8,4 Hz, 4H, H₄) ; 7,57 (d, *J* = 8,4 Hz, 4H, H₃) ; 7,60 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H, H₁ ou H₂) ; 7,65 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H, H₁ ou H₂)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 37,3 (2 C₅) ; 69,7 (2 C₆) ; 70,9 (2 C₇) ; 88,9 (2 C_d ou C_e) ; 92,5 (2 C_d ou C_e) ; 112,0 (2 C_q) ; 118,5 (2 C_q) ; 127,2 (2 C_q) ; 127,8 (2 C_q) ; 132,2 (12 CH_{ar}) ; 133,3 (4 CH_{ar}) ; 143,2 (2 C_g) ; 169,0 (2 C_h)

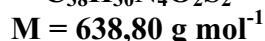
CCM : R_F = 0,22 (AcOEt)

F : 214°C

2,2'-(Ethane-1,2-diylbis(oxy))bis(*N*-(4-((4-cyanophényl)éthynyl)phényl)-*N*-méthylthioacétamide)



THIO-BAT



Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits le composé amide AMI-BAT (100 mg, 0,165 mmol) et 7 mL de toluène anhydre. Le réactif de Lawesson est ajouté (74 mg, 0,18 mmol) et le milieu est chauffé à 90°C pendant 24 heures. Le toluène est alors évaporé sous pression réduite et le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 95:5). 60 mg de THIO-BAT sont alors obtenus sous la forme d'un solide blanc (60 %).

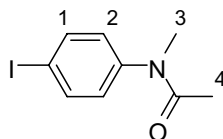
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : 3,43 (s, 4H, H₇) ; 3,69 (s, 6H, H₅) ; 4,14 (s, 4H, H₆) ; 7,22 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H, H₄) ; 7,59 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H, H₃) ; 7,60 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, H₁ ou H₂) ; 7,65 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H, H₁ ou H₂)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 45,8 (2 C₅) ; 69,8 (2 C₇) ; 76,7 (2 C₆) ; 89,2 (2 C_d ou C_e) ; 92,3 (2 C_d ou C_e) ; 112,0 (2 C_q) ; 118,4 (2 C_q) ; 122,7 (2 C_q) ; 125,9 (4 CH_{ar}) ; 127,6 (2 C_q) ; 132,2 (4 CH_{ar}) ; 132,2 (4 CH_{ar}) ; 133,1 (4 CH_{ar}) ; 145,2 (2 C_g) ; 199,6 (2 C_h)

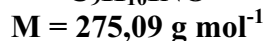
CCM : R_F = 0,78 (CH₂Cl₂/AcOEt)

F : 220°C

***N*-(4-iodophényl)-*N*-méthylacétamide**



26



Solide beige

Dans un ballon sous argon sont introduits 813 mg (3,5 mmol) de (4-iodo-phényl)-méthylamine **24**, 30 mL de THF anhydre et 1,07 mL (7,7 mmol) de triéthylamine. 0,5 mL (7 mmol) de chlorure d'acétyle sont ajoutés. Un précipité blanc apparaît et le milieu est agité pendant 2h30 à TA. La réaction est arrêtée par ajout de H₂O et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies, lavées avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃, séchées sur Na₂SO₄,

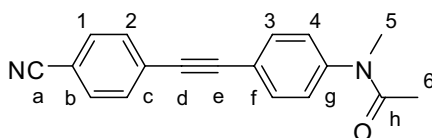
filtrées et évaporées sous pression réduite. 0,9 g de produit sont obtenus sous la forme d'un solide beige (94 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,87 (s, 3H, H₄) ; 3,23 (s, 3H, H₃) ; 6,95 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H₂) ; 7,74 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H₁)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 22,5 (C₄) ; 37,2 (C₃) ; 92,8 (C-I) ; 129,2 (C₂) ; 139,1 (C₁) ; 144,5 (C_q-N) ; 170,3 (C=O)

CCM : R_F = 0,42 (CH₂Cl₂/AcOEt 9:1)

N-(4-((4-cyanophényl)éthynyl)phényl)-*N*-méthylacétamide



AMI-MOD

C₁₈H₁₄N₂O

M = 274,32 g mol⁻¹

Solide beige

Dans un ballon sont introduits 200 mg (0,73 mmol) de composé iodé **26**, 93 mg (0,73 mmol) de 4-éthynylbenzonitrile, 20 mL de toluène anhydre et 3,6 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé puis 25 mg de Pd(PPh₃)₄ (0,022 mmol) et 8,4 mg (0,044 mmol) de CuI sont ajoutés rapidement. Le milieu réactionnel est de nouveau dégazé puis chauffé à 50°C pendant 15 heures. Le toluène et la triéthylamine sont évaporés sous pression réduite. Le solide roux obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂/AcOEt 5 % jusqu'à 10 %) et 200 mg d'un solide beige sont obtenus (100 %).

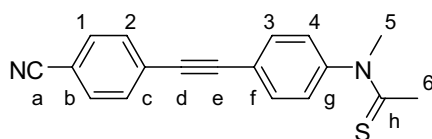
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,92 (s, 3H, H₆) ; 3,28 (s, 3H, H₅) ; 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H₄) ; 7,52-7,70 (m, 6H, H₁ et H₂ et H₃)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 22,6 (C₆) ; 37,2 (C₅) ; 88,8 (C_d ou C_e) ; 92,7 (C_d ou C_e) ; 112,0 (C_a ou C_b ou C_c ou C_f) ; 118,5 (C_a ou C_b ou C_c ou C_f) ; 127,3 (C_a ou C_b ou C_c ou C_f) ; 127,9 (C_a ou C_b ou C_c ou C_f) ; 132,2 (4 CH_{ar}) ; 132,2 (2 CH_{ar}) ; 133,2 (2 CH_{ar}) ; 145,2 (C_g) ; 170,3 (C_h)

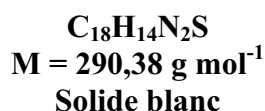
CCM : R_F = 0,29 (CH₂Cl₂/AcOEt 5 %)

F : 178°C

N-(4-((4-cyanophényl)éthynyl)phényl)-*N*-méthylthioacétamide



THIO-MOD



Dans un ballon sous argon sont introduits le composé amide AMI-MOD (80 mg, 0,29 mmol) et 10 mL de toluène anhydre. Le réactif de Lawesson est ajouté (130 mg, 0,32 mmol) et le milieu est chauffé à reflux pendant 6 heures. Le toluène est alors évaporé sous pression réduite et le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂). 67 mg de THIO-MOD sont alors obtenus sous la forme d'un solide blanc (79 %).

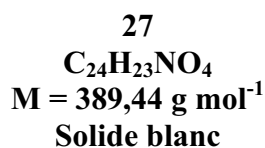
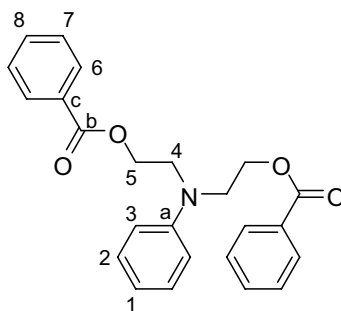
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,42 (s, 3H, H₆) ; 3,74 (s, 3H, H₅) ; 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, H₄) ; 7,55-7,75 (m, 6H, H₁ et H₂ et H₃)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 34,0 (C₆) ; 45,7 (C₅) ; 89,3 (C_d ou C_e) ; 92,2 (C_d ou C_e) ; 112,2 (C_q) ; 118,4 (C_q) ; 122,9 (C_q) ; 125,9 (2 C₄) ; 127,7 (C_q) ; 132,3 (2 CH_{ar}) ; 132,3 (2 CH_{ar}) ; 133,5 (2 CH_{ar}) ; 146,2 (C_g) ; 201,6 (C_h)

CCM : R_F = 0,70 (CH₂Cl₂)

F : 211°C

Bis(2-benzoyloxyéthyl)aminophényle



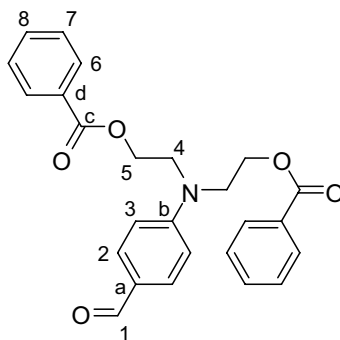
Dans un ballon sous argon à 0°C sont introduits 2 g (11 mmol) de phényldiéthanolamine, 3 mL de dichlorométhane anhydre et 3,45 mL (29,7 mmol) de chlorure de benzoyle. 3,8 mL de triéthylamine sont alors ajoutés au goutte-à-goutte. Le mélange marron orangé est agité à 0°C pendant 3 heures. De l'eau est ajoutée et le milieu est extrait avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite, ce qui conduit à l'obtention d'un solide rosé. Le brut réactionnel est chromatographié sur gel de silice (dichlorométhane/cyclohexane 1:1). 3,71 g de produit sont obtenus sous la forme d'un solide blanc (87 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 3,85 (t, *J* = 6,2 Hz, 4H, H₄) ; 4,53 (t, *J* = 6,2 Hz, 4H, H₅) ; 6,76 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, H₁) ; 6,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₃) ; 7,28 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H₂) ; 7,43 (t, *J* = 7,0 Hz, 4H, H₇) ; 7,55 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, H₈) ; 8,01 (d, *J* = 7,0 Hz, 4H, H₆)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 49,9$ (2 C_4) ; $62,3$ (2 C_5) ; $112,5$ (2 C_3) ; $117,3$ (C_1) ; $128,5$ (4 C_7) ; $129,7$ (4 C_6) ; $129,7$ (2 C_2) ; $130,0$ (2 C_c) ; $133,2$ (2 C_8) ; $147,4$ (C_a) ; $166,7$ (2 C_b)

CCM : $R_F = 0,19$ (dichlorométhane/cyclohexane 1:1)

4-(Bis(2-benzoyloxyéthyl)amino)benzaldéhyde



28

$\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_5$

M = 417.45 g/mol

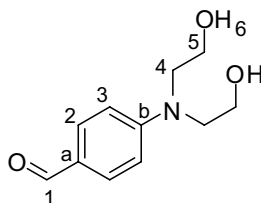
Solide blanc

Dans un schlenk sous argon sont introduits 3,65 g (9,4 mmol) de composé **27** et 5,6 mL (72,3 mmol) de DMF. 1,1 mL (11,2 mmol) de POCl_3 sont ajoutés lentement et le mélange réactionnel est chauffé à 80°C pendant 3 heures. De l'eau est ensuite ajoutée et le mélange réactionnel est basifié à $\text{pH} = 10-11$ par ajout d'une solution aqueuse de NaOH 1M. Le mélange réactionnel est alors extrait avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron obtenue est chromatographiée sur gel de silice (dichlorométhane puis dichlorométhane/acétate d'éthyle 95:5 jusqu'à 90:10), ce qui conduit à l'obtention de 4 g de produit sous la forme d'un solide blanc (100 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 3,91$ (t, $J = 6,2$ Hz, 4H, H_4) ; $4,54$ (t, $J = 6,2$ Hz, 4H, H_5) ; $6,92$ (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_3) ; $7,40$ (t, $J = 5,9$ Hz, 4H, H_7) ; $7,53$ (t, $J = 0,8$ Hz, 4H, H_8) ; $7,56$ (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_2) ; $7,98$ (d, $J = 0,8$, 4H, H_6) ; $9,74$ (s, 1H, H_1)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 49,9$ (2 C_4) ; $60,4$ (2 C_5) ; $111,6$ (2 C_3) ; $126,3$ (C_a) ; $128,5$ (4 C_7) ; $129,6$ (4 C_6) ; $129,6$ (2 C_2) ; $133,3$ (2 C_d) ; $133,3$ (2 C_8) ; $152,3$ (C_b) ; $166,5$ (2 C_c) ; $190,2$ (C_1)

CCM : $R_F = 0,15$ (CH_2Cl_2)

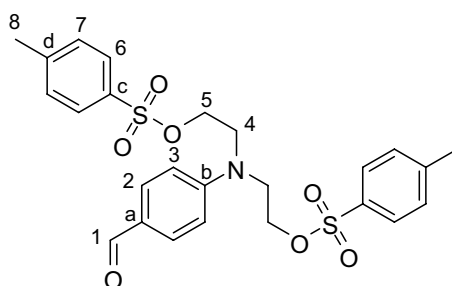
4-(Bis(2-hydroxyéthyl)amino)benzaldéhyde**29****C₁₁H₁₅NO₃****M = 209,24 g mol⁻¹****Huile jaunâtre**

Dans un ballon sous argon sont introduits 0,3 g (0,72 mmol) d'aldéhyde **28**, 2 mL de THF et 2 mL de méthanol. 0,8 mL (1,6 mmol) d'une solution aqueuse de KOH 2M sont alors ajoutés goutte-à-goutte. La solution de couleur jaune est agitée pendant 15 minutes à température ambiante. De l'eau est ajoutée dans le milieu réactionnel et le mélange est extrait avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est chromatographiée sur gel de silice (dichlorométhane/méthanol 95:5), ce qui conduit à l'obtention de 0,28 g de produit sous la forme d'une huile jaunâtre (79 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 3,64 (t, *J* = 5,2 Hz, 4H, H₅) ; 3,85 (t, *J* = 5,2 Hz, 4H, H₄) ; 4,39 (s, 2H, H₆) ; 7,61 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₂) ; 7,66 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₃) ; 9,57 (s, 1H, H₁)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 55,1 (2 C₄), 60,2 (2 C₅) ; 111,7 (2 C₃) ; 125,4 (C_a), 132,2 (2 C₂) ; 152,9 (C_b) ; 190,7 (C₁)

CCM : R_F = 0,10 (dichlorométhane/méthanol 95:5)

4-(Bis(2-tosyléthyl)amino)benzaldéhyde**30****C₂₅H₂₇NO₇S₂****M = 517,61 g mol⁻¹****Solide blanc/beige**

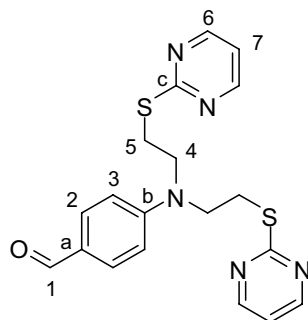
Dans un ballon sous argon à 0°C sont introduits 0,12 g (0,57 mmol) de diol **29**, 0,44 g (2,3 mmol) de chlorure de tosylyle et 10 mL de dichlorométhane anhydre. 0,64 mL (4,6 mmol) de triéthylamine sont alors additionnés. Le mélange réactionnel est laissé remonter à température ambiante et agité pendant 24 heures. De l'eau est ajoutée et le mélange est extrait avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron obtenue est chromatographiée sur gel de silice (dichlorométhane puis

dichlorométhane/acétate d'éthyle 95:5), ce qui conduit à l'obtention de 0,24 g de produit sous la forme d'un solide blanc/beige (82 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,30 (s, 6H, H₈) ; 3,57 (t, *J* = 5,5 Hz, 4H, H₄) ; 4,40 (t, *J* = 5,5 Hz, 4H, H₅) ; 6,39 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₃) ; 7,16 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H, H₇) ; 7,53 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₂) ; 7,59 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H, H₆) ; 9,65 (s, 1H, H₁)

CCM : R_F = 0,23 (dichlorométhane/acétate d'éthyle 95:5)

4-(Bis(2-(pyrimidin-2-ylthio)éthyl)amino)benzaldéhyde



31

C₁₉H₁₉N₅OS₂

M = 397,52 g mol⁻¹

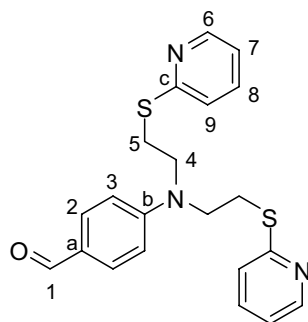
Solide blanc/beige

Dans un ballon sous argon sont introduits 221 mg (1,97 mmol) de 2-mercaptopyrimidine et 3,5 mL de DMF anhydre. 75 mg (0,147 mmol) de NaH à 60 % dans l'huile sont alors ajoutés. Après agitation pendant 30 minutes à température ambiante, une solution de 242 mg (0,47 mmol) de composé **30** dans 1,7 mL de diméthylformamide anhydre est ajoutée. Le mélange réactionnel est alors agité à température ambiante pendant 18 heures. Une solution aqueuse saturée de NH₄Cl est ajoutée. Le mélange est ensuite extrait avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est chromatographiée sur gel de silice (dichlorométhane/acétate d'éthyle 9:1 jusqu'à 3:2), ce qui conduit à l'obtention de 168 mg de produit sous la forme d'un solide blanc/beige (90 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 3,32 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₅) ; 3,81 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₄) ; 7,03 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H, H₇) ; 7,18 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H₃) ; 7,78 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H, H₂) ; 8,55 (d, *J* = 4,8 Hz, 4H, H₆) ; 9,75 (s, 1H, H₁)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 27,5 (2 C₅) ; 50,8 (2 C₄) ; 111,5 (2 C₃) ; 116,9 (2 C₇) ; 125,8 (C_a) ; 132,3 (2 C₂) ; 152,2 (C_b) ; 157,5 (4 C₆) ; 171,7 (2 C_c) ; 190,2 (C₁)

CCM : R_F = 0,31 (dichlorométhane/acétate d'éthyle 4:1)

4-(Bis(2-(pyridin-2-ylthio)éthyl)amino)benzaldéhyde**32**

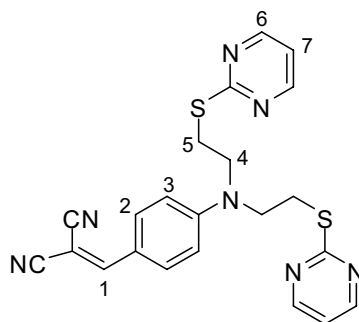
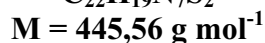
C₂₁H₂₁N₃OS₂
M = 395,54 g mol⁻¹
Solide jaune

Dans un ballon sous argon sont introduits 295 mg (2,7 mmol) de 2-mercaptopyridine et 4,8 mL de DMF anhydre. 61,4 mg (0,12 mmol) de NaH 60 % dans l'huile sont alors ajoutés. Après agitation à TA pendant 30 minutes, une solution de 330 mg (0,64 mmol) de composé **30** dans 2,3 mL de DMF anhydre est ajoutée. Le mélange réactionnel marron est alors agité à température ambiante pendant 18 heures. La réaction est stoppée par ajout d'une solution aqueuse saturée de NH₄Cl. Le mélange est ensuite extrait avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron obtenue est chromatographiée sur gel de silice (dichlorométhane/acétate d'éthyle 9:1 jusqu'à 8:2), ce qui conduit à l'obtention de 121 mg de produit sous la forme d'un solide jaune (48 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 3,38 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₅) ; 3,79 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₄) ; 7,00-7,09 (m, 2H, H₇) ; 7,15-7,26 (m, 4H, H₃ et H₉) ; 7,46-7,55 (m, 2H, H₈) ; 7,78 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H, H₂) ; 8,47 (m, 2H, H₆) ; 9,76 (s, 1H, H₁)

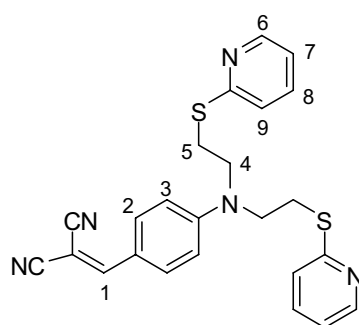
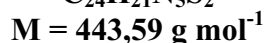
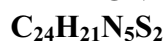
RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 26,4 (2 C₅) ; 50,9 (2 C₄) ; 111,5 (2 C₃) ; 119,5 (2 C₇) ; 121,0 (2 C₉) ; 122,3 (C_a) ; 132,1 (2 C₂) ; 135,9 (2 C₈) ; 149,3 (2 C₆) ; 152,2 (C_b) ; 157,6 (2 C_c) ; 190,0 (C₁)

CCM : R_F = 0,7 (dichlorométhane/acétate d'éthyle 95:5)

2-(4-(Bis(2-(pyrimidin-2-ylthio)éthyl)amino)benzylidène)malononitrile**PYRIM-CN****Poudre jaune**

Dans un ballon sous argon, sont introduits 168 mg (0,42 mmol) d'aldéhyde **31**, 56 mg (0,84 mmol) de malononitrile et 8 mL d'éthanol absolu. Une goutte de pipéridine est alors ajoutée au mélange réactionnel de couleur jaune. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 30 minutes puis chauffé progressivement jusqu'à disparition du réactif. Après filtration, un solide jaune vif est obtenu. Le brut réactionnel est purifié par recristallisation dans un milieu dichlorométhane/éthanol. Après filtration, 142 mg d'une poudre jaune sont obtenus (76 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 3,35 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₅) ; 3,87 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₄) ; 7,05 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H, H₇) ; 7,20 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₃) ; 7,50 (s, 1H, H₁) ; 7,88 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H₂) ; 8,58 (d, *J* = 5,1 Hz, 4H, H₆)

F : 211°C**2-(4-(Bis(2-(pyridin-2-ylthio)éthyl)amino)benzylidène)malononitrile****PYR-CN****Poudre jaune**

Dans un ballon sous argon sont introduits 121 mg (0,31 mmol) d'aldéhyde **32**, 41 mg (0,62 mmol) de malononitrile et 3 mL d'éthanol absolu. Une goutte de pipéridine est alors ajoutée au mélange réactionnel. Après agitation et chauffage à 40°C pendant 10 minutes, le brut réactionnel est filtré et

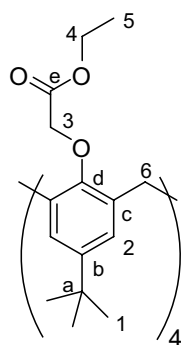
rincé à l'éthanol absolu. Le solide filtré est chromatographié sur gel de silice (dichlorométhane), ce qui conduit à l'obtention de 52 mg de produit sous la forme d'une poudre jaune (35 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 3,38$ (t, $J = 7,5$ Hz, 4H, H_5) ; $3,82$ (t, $J = 7,5$ Hz, 4H, H_4) ; $7,03$ (m, 2H, H_7) ; $7,18$ - $7,25$ (m, 4H, H_3 et H_9), $7,48$ - $7,55$ (m, 3H, H_8 et H_1) ; $7,87$ (d, $J = 9,2$ Hz, 2H, H_2) ; $8,47$ (d, $J = 4$ Hz, 2H, H_6)

CCM : $R_F = 0,43$ (dichlorométhane)

F : 186°C

5,11,17,23-Tétra-*p*-tert-butyl-25,26,27,28-tétrakis(2-éthoxycarbonylméthylèneoxy) calix[4]arène

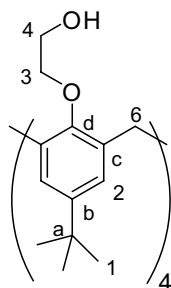


Calix-COOEt
 $\text{C}_{60}\text{H}_{80}\text{O}_{12}$
 $M = 993,27 \text{ g mol}^{-1}$
Solide blanc

3,0 g (4,6 mmol) de *p*-tert-butylcalix[4]arène sont ajoutés sous argon à une suspension de 4,0 g (100 mmol) de NaH 60 % dans l'huile dans 20 mL de DMF et 80 mL de THF anhydre, puis laissés agiter 30 minutes à température ambiante. Après addition de 8,8 mL (79,6 mmol) de bromoacétate d'éthyle, le mélange est chauffé au reflux pendant 24 heures. Après ajout d'éthanol, les solvants sont évaporés sous pression réduite. Le résidu est repris dans du dichlorométhane. Le mélange est alors lavé avec une solution aqueuse de HCl 10 % puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite. 4,15 g d'un solide blanc sont obtenus (91 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 1,10$ (s, 36H, H_1) ; $1,31$ (t, $J = 7,2$ Hz, 12H, H_5) ; $3,22$ (d, $J = 12,9$ Hz, 4H, H_6) ; $4,24$ (q, $J = 7,2$ Hz, 8H, H_4) ; $4,84$ (s, 8H, H_3) ; $4,89$ (d, $J = 12,9$ Hz, 4H, H_6) ; $6,81$ (s, 8H, H_2)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 14,2$ (4 C_5) ; $31,4$ (12 C_1) ; $31,9$ (4 C_6) ; $33,8$ (4 C_a) ; $60,3$ (4 C_4) ; $71,3$ (4 C_3) ; $125,3$ (8 C_2) ; $133,5$ (8 C_c) ; $145,2$ (4 C_b) ; $153,0$ (4 C_d) ; $170,5$ (4 C_e)

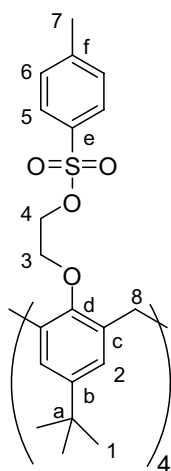
5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,27,26,28-tétrakis(2-hydroxyéthylèneoxy)calix[4]arène

Calix-OH
C₅₂H₇₂O₈
M = 825,12 g mol⁻¹
Solide blanc

6,4 mL (9,6 mmol) d'hydruire de diisobutylaluminium (DIBAL-H) en solution à 1,5 M dans le toluène sont ajoutés sous argon à une solution de 395 mg (0,4 mmol) de composé Calix-COOEt dans 12 mL de toluène anhydre. Le milieu réactionnel est agité 20 heures à température ambiante. Après ajout de dichlorométhane et de méthanol, le précipité inorganique formé est filtré et abondamment lavé au dichlorométhane chaud. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris dans du dichlorométhane et lavé avec une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. 265 mg d'un solide blanc sont obtenus après recristallisation dans l'éthanol (81 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,02 (s, 36H, H₁) ; 3,16 (d, *J* = 12,6 Hz, 4H, H₆) ; 3,88-3,97 (m, 16H, H_{3,4}) ; 4,29 (d, *J* = 12,6 Hz, 4H, H₆) ; 5,06 (sl, 4H, H₅) ; 6,78 (s, 8H, H₂)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 30,4 (4 C₆) ; 31,4 (12 C₁) ; 33,9 (4 C_a) ; 61,7 (4 C₄) ; 77,8 (4 C₃) ; 125,5 (8 C₂) ; 133,5 (8 C_c) ; 145,7 (4 C_b) ; 152,3 (4 C_d)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,27,26,28-tétrakis(2-tosyléthylèneoxy)calix[4]arène

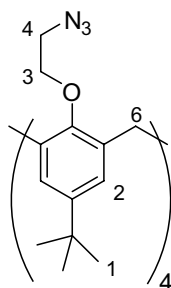
Calix-OTos
C₈₀H₉₆O₁₆S₄
M = 1441,87 g mol⁻¹
Solide blanc

8,23 g (43,2 mmol) de chlorure de tosylo sont ajoutés sous argon à une solution contenant 1,43 g (1,73 mmol) de composé Calix-OH dans 7,2 mL de triéthylamine distillée et 10 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 20 heures. La phase organique est alors lavée avec une solution aqueuse de HCl 1 M. Après séchage sur MgSO₄, filtration et évaporation sous pression réduite, la recristallisation du brut réactionnel dans le méthanol conduit à 1,85 g du produit désiré sous la forme d'un solide blanc (75 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,05 (s, 36H, H₁) ; 2,44 (s, 12H, H₇) ; 3,00 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₈) ; 4,09 (t, *J* = 4,5 Hz, 8H, H₄) ; 4,22 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₈) ; 4,40 (t, *J* = 4,5 Hz, 8H, H₃) ; 6,70 (s, 8H, H₂) ; 7,33 (d, *J* = 8,1 Hz, 8H, H₆) ; 7,80 (d, *J* = 8,1 Hz, 8H, H₅)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 21,6 (4 C₇) ; 31,0 (4 C₈) ; 31,3 (12 C₁) ; 33,8 (4 C_a) ; 69,5 (4 C₄) ; 71,6 (4 C₃) ; 125,2 (8 C₂) ; 128,0 (8 C₅) ; 129,9 (8 C₆) ; 133,1 (4 C_c) ; 133,4 (8 C_c) ; 144,8 (4 C_{b ou f}) ; 145,2 (4 C_{b ou f}) ; 152,1 (4 C_d)

5,11,17,23–Tétra-*p-tert*-butyl–25,27,26,28–tétrakis(2-azidoéthylèneoxy)calix[4]arène



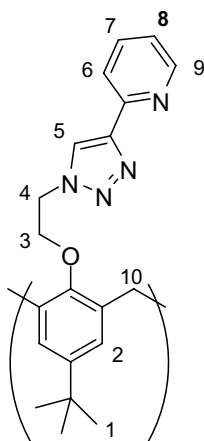
Calix-N3
C₅₂H₆₈N₁₂O₄
M = 925,17 g mol⁻¹
Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 150 mg (0,104 mmol) de composé Calix-OTos, 54 mg (0,83 mmol) d'azidure de sodium et 2,5 mL de DMF anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé pendant 16 heures à 80°C. Après refroidissement à TA et ajout de H₂O, un précipité blanc apparaît. Celui-ci est filtré sur fritté puis repris dans le dichlorométhane. Après séchage sur Na₂SO₄, filtration et évaporation sous pression réduite, 100 mg de produit sous la forme d'un solide blanc sont obtenus (100 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,09 (s, 36H, H₁) ; 3,20 (d, *J* = 12,8 Hz, 4H, H₆) ; 3,88 (t, *J* = 6,1 Hz, 8H, H₄) ; 4,07 (t, *J* = 6,1 Hz, 8H, H₃) ; 4,36 (d, *J* = 12,8 Hz, 4H, H₆) ; 6,81 (s, 8H, H₂)

CCM : R_F = 0,78 (CHCl₃)

5,11,17,23-Tétra-*p-tert*-butyl-25,27,26,28-tétrakis(2-(2'-(1,2,3-triazol-4-yl)pyridine)éthylèneoxy)calix[4]arène



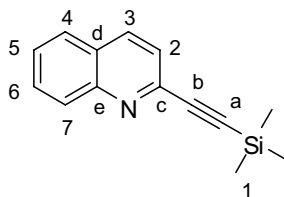
Calix-PT4
C₈₀H₈₈N₁₆O₄
M = 1337,66 g mol⁻¹
Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 89 mg (0,10 mmol) de Calix-N3, 58 mg (0,55 mmol) de 4-éthynylbenzonitrile, 19 mg (0,12 mmol) de CuSO₄.xH₂O, 0,56 mL (0,56 mmol) d'une solution aqueuse d'ascorbate de sodium 1M, 20 mL de THF, 10 mL d'EtOH et 10 mL d'H₂O. Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 16 heures. Le THF et l'éthanol sont évaporés sous pression réduite et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, lavées avec 3 × HCl 1M, puis avec 3 × H₂O Millipore et le dichlorométhane est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est chromatographié sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 2 % jusqu'à 15 % avec 1 % de NEt₃ pour neutraliser la silice), conduisant à l'obtention de 42 mg de produit sous la forme d'un solide gris/vert (32 %). 32 mg de produit pour les études spectroscopiques sont alors obtenus par chromatographie sur plaque préparative (CH₂Cl₂/MeOH 7,5 %) sous la forme d'un solide blanc.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,03 (s, 36H, H₁) ; 3,09 (d, *J* = 12,9 Hz, 4H, H₁₀) ; 4,05 (d, *J* = 12,8 Hz, 4H, H₁₀) ; 4,34 (t, *J* = 5,7 Hz, 8H, H₄) ; 4,90 (t, *J* = 5,8 Hz, 8H, H₃) ; 6,72 (s, 8H, H₂) ; 7,11 (m, 4H, H₈) ; 7,66 (t, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₇) ; 8,08 (d, *J* = 7,7 Hz, 4H, H₆) ; 8,49 (s, 8H, H₅ et H₉)

CCM : R_F = 0,37 (CH₂Cl₂/MeOH 7,5 %)

F : 126°C (décomposition)

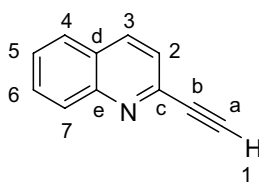
2-((Triméthylsilyl)éthynyl)quinoléine**33****C₁₄H₁₅NSi****M = 225,36 g mol⁻¹****Huile orange**

Dans un ballon sont introduits 2,0 g (12,2 mmol) de 2-chloroquinoléine, 1,5 mL (10,8 mmol) de triméthylsilylacétylène, 10 mL de DMF anhydre et 6 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé puis 0,43 g (0,61 mmol) de Pd(PPh₃)₄ et 0,12 g (0,61 mmol) de CuI sont ajoutés rapidement. Le milieu réactionnel est de nouveau dégazé puis chauffé à 50°C pendant 3 heures. Le mélange réactionnel inhomogène est refroidi à TA et filtré sur célite. Le résidu noir est alors purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/cyclohexane 3:7 jusqu'à 7:3) et 2,1 g d'une huile orange sont obtenus (80 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 0,28 (s, 9H, H₁) ; 7,44-7,52 (m, 2H, H₅ et H₂) ; 7,63-7,77 (m, 2H, H₆ et H₇) ; 8,04 (m, 2H, H₃ et H₄)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = -0,21 (3 C₁) ; 95,7 (C_a) ; 104,3 (C_b) ; 124,4 (C_{ar}) ; 127,2 (C_{ar}) ; 127,5 (C_{ar}) ; 129,4 (C_{ar}) ; 130,0 (C_{ar}) ; 136,1 (C₃) ; 143,3 (C_c) , 148,1 (C_c)

CCM : R_F = 0,33 (dichlorométhane/cyclohexane 1:1)

2-Ethynylquinoléine**34****C₁₁H₇N****M = 153,18 g mol⁻¹****Huile orangée**

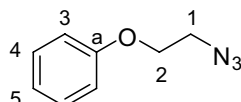
Dans un ballon sous argon sont introduits 2,05 g (9,1 mmol) de silane **33**, 20 mL de MeOH, 20 mL de CH₂Cl₂ et 1,26 g (9,1 mmol) de carbonate de potassium K₂CO₃. Le milieu réactionnel est agité pendant 1h30 à TA. La réaction est arrêtée par ajout de H₂O et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile noire obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (CHCl₃) et 0,8 g d'une huile orangée sont obtenus (58 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 3,21$ (s, 1H, H_1) ; 7,40-7,47 (m, 2H, H_5 et H_2) ; 7,60-7,68 (m, 2H, H_6 et H_7) ; 7,96-8,04 (m, 2H, H_3 et H_4)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 77,6$ (C_a) ; 83,3 (C_b) ; 124,0 (CH_{ar} ou C_d) ; 127,2 (CH_{ar} ou C_d) ; 127,3 (CH_{ar} ou C_d) ; 127,3 (CH_{ar} ou C_d) ; 129,3 (CH_{ar} ou C_d) ; 130,0 (CH_{ar} ou C_d) ; 136,1 (C_3) ; 142,3 (C_e) , 148,0 (C_c)

CCM : $R_F = 0,32$ (dichlorométhane)

(2-Azidoéthoxy)benzène



35

$\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{O}$

$M = 163,18 \text{ g mol}^{-1}$

Huile légèrement jaune

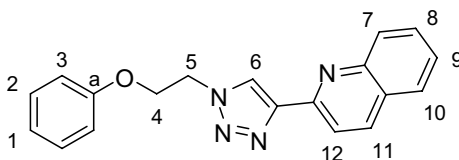
Dans un ballon sous argon sont introduits 1,02 g (5 mmol) de β -bromophénétol, 0,65 g (10 mmol) d'azide de sodium et 10 mL de DMF anhydre. Le milieu réactionnel est chauffé pendant 3 heures à 80°C . Le milieu blanc inhomogène est alors refroidi à TA et la réaction est arrêtée par ajout de H_2O . La phase aqueuse est extraite avec de l'acétate d'éthyle, les phases organiques sont réunies, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. 0,82 g d'une huile légèrement jaune sont obtenus (100 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 3,60$ (t, $J = 4,9$ Hz, 2H, H_1) ; 4,16 (t, $J = 4,9$ Hz, 2H, H_2) ; 6,93 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H_3) ; 6,99 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H, H_5) ; 7,26-7,40 (m, 2H, H_4)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, δ en ppm) : $\delta = 50,3$ (C_1) ; 67,0 (C_2) ; 114,8 (C_3) ; 121,5 (C_5) ; 129,7 (C_4) ; 158,4 (C_a)

CCM : $R_F = 0,26$ (dichlorométhane/cyclohexane 4:1)

2'-(1-(2-Phénoxyéthyl)-1,2,3-triazol-4-yl)quinoléine



QT-MOD

$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$

$M = 316,36 \text{ g mol}^{-1}$

Solide blanc/beige

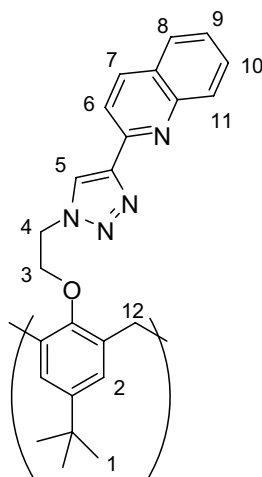
Dans un ballon sous argon sont introduits 105 mg (0,64 mmol) d'azide **35**, 98 mg (0,64 mmol) d'alcyne **34**, 5,2 mg (0,032 mmol) de $\text{CuSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 0,13 mL (0,13 mmol) d'une solution aqueuse

d'ascorbate de sodium 1M, 15 mL de THF et 15 mL d'H₂O. Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 16 heures. L'éthanol est évaporé sous pression réduite et 15 mL d'eau sont ajoutés. Le milieu est refroidi à 0°C et le précipité jaune obtenu est filtré sur fritté et rincé avec de l'eau Millipore. Le solide est repris dans le chloroforme et la phase organique est lavée avec 3 × HCl 1M, puis avec 3 × H₂O Millipore. Après évaporation sous pression réduite, 179 mg d'un solide blanc/beige sont obtenus (88 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 4,46 (m, 2H, H₅) ; 4,87 (m, 2H, H₄) ; 6,93 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H₃) ; 6,99 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, H₁) ; 7,22-7,33 (m, 2H, H₂) ; 7,53 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H, H₉) ; 7,69 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H, H₈) ; 7,83 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H₁₂) ; 8,08 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H₇) ; 8,25 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H, H₁₀) ; 8,33 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H₁₁) ; 8,55 (s, 1H, H₆)

CCM : R_F = 0,19 (chloroforme)

5,11,17,23–Tétra-*p-tert*-butyl–25,27,26,28–tétrakis(2-(2'-(1,2,3-triazol-4-yl)quinoléine)éthylèneoxy)calix[4]arène



Calix-QT4
C₉₆H₉₆N₁₆O₄
M = 1537,89 g mol⁻¹
Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 109 mg (0,12 mmol) de Calix-N3, 97 mg (0,63 mmol) d'alcyne **34**, 23 mg (0,14 mmol) de CuSO₄.xH₂O, 0,7 mL (0,7 mmol) d'une solution aqueuse d'ascorbate de sodium 1M, 20 mL de THF, 10 mL d'EtOH et 10 mL d'H₂O. Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 16 heures. Le THF et l'éthanol sont évaporés sous pression réduite et la phase aqueuse est extraite au chloroforme. Les phases organiques sont réunies, lavées avec 3 × HCl 1M, puis avec 3 × H₂O Millipore et le dichlorométhane est évaporé sous pression réduite. Le brut réactionnel est chromatographié sur gel de silice (CHCl₃/AcOEt 9:1 jusqu'à 1:1), conduisant à l'obtention de 91 mg du produit désiré sous la forme d'un solide blanc (50 %). Une recrystallisation dans le MeOH permet l'obtention de 80 mg du produit désiré pour les études spectroscopiques sous la forme d'un solide blanc.

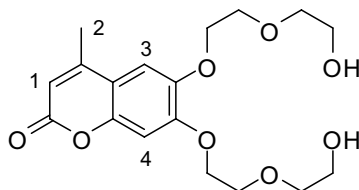
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 1,05 (s, 36H, H₁) ; 3,17 (d, *J* = 12,8 Hz, 4H, H₁₂) ; 4,05 (d, *J* = 12,8 Hz, 4H, H₁₂) ; 4,41 (m, 8H, H₄) ; 4,95 (m, 8H, H₃) ; 6,77 (s, 8H, H₂) ; 7,34 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₉) ; 7,48 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H, H₁₀) ; 7,55 (d, *J* = 8,3 Hz, 4H, H₆) ; 7,94 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, H₁₁) ; 8,02 (d, *J* = 8,5 Hz, 4H, H₈) ; 8,16 (d, *J* = 8,3 Hz, 4H, H₇) ; 8,81 (s, 4H, H₅)

CCM : $R_F = 0,59$ ($\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 1:1)

F : 251°C

I.2.3. Synthèse des produits du chapitre 4 (césium)

6,7-Bis(2-(2-hydroxyéthoxy)éthoxy)-4-méthylcoumarine



25

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_8$

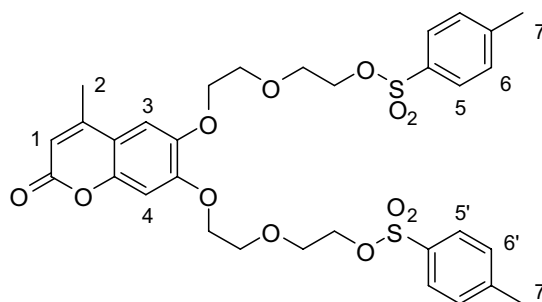
$M = 368,38 \text{ g mol}^{-1}$

Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont introduits 2 g (10,4 mmol) de 6,7-dihydroxy-4-méthyl-coumarine, 3,69 g (31,2 mmol) de carbonate de potassium et 60 mL d'acétonitrile. Le milieu réactionnel est agité à TA pendant 2 heures puis 2,63 mL (25 mmol) de 2-(2-chloroéthoxy)éthanol sont ajoutés et le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 4 jours. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est neutralisé par ajout d'une solution aqueuse de HCl 1M. La phase aqueuse est alors extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na_2SO_4 , filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/acétone 4:1) et 1,42 g d'un solide blanc sont obtenus (37 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, δ en ppm) : $\delta = 2,38$ (d, $J = 0,9$ Hz, 3H, H_2) ; 3,62-3,82 (m, 8H, OCH_2) ; 3,91-3,98 (m, 4H, OCH_2) ; 4,15-4,25 (m, 4H, OCH_2) ; 6,17 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H, H_1) ; 6,83 (s, 1H, H_3) ; 6,99 (s, 1H, H_4)

CCM : $R_F = 0,25$ (dichlorométhane/acétone 8:2)

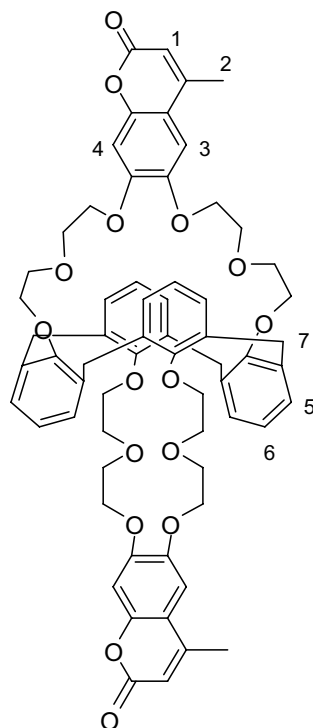
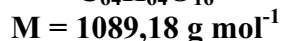
6,7-Bis(2-(2-tosyléthylèneoxy)éthoxy)-4-méthylcoumarine**26****C₃₂H₃₆O₁₂S₂****M = 676,75 g mol⁻¹****Huile incolore**

Dans un ballon sous argon sont introduits 200 mg (0,54 mmol) de coumarine **25**, 10 mL de dichlorométhane et 414 mg (2,17 mmol) de chlorure de tosyloxy. Le milieu réactionnel est refroidi à 0°C et 0,6 mL (4,34 mmol) de triéthylamine sont ajoutés au goutte à goutte. Le mélange est alors agité pendant 60 heures à TA. 30 mL d'une solution aqueuse de HCl 1M sont ajoutés et la phase aqueuse est extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. L'huile marron obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane/acétone 5 % jusqu'à 10 %) et 271 mg d'une huile incolore sont obtenus (74 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,36 (s, 3H, H₂) ; 2,39 (s, 6H, H₇ et H_{7'}) ; 3,65-3,90 (m, 8H, OCH₂) ; 4,03-4,25 (m, 8H, OCH₂) ; 6,11 (s, 1H, H₁) ; 6,74 (s, 1H, H₃) ; 7,02 (s, 1H, H₄) ; 7,29 (d, J = 8,1 Hz, 4H, H₆ et H_{6'}) ; 7,75 (d, J = 8,1 Hz, 4H, H₆ et H_{6'})

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 18,7 (C₂) ; 21,4 (C₇ et C_{7'}) ; 68,6 (OCH₂) ; 68,8 (2 OCH₂) ; 69,2 (OCH₂) ; 69,3 (OCH₂) ; 69,3 (OCH₂) ; 69,7 (OCH₂) ; 69,8 (OCH₂) ; 101,3 (CH_{ar}) ; 109,5 (CH_{ar}) ; 112,1 (C_q) ; 112,8 (CH_{ar}) ; 127,7 (2 C₅ ou C_{5'}) ; 127,8 (2 C₅ ou C_{5'}) ; 129,7 (2 C₆ et 2 C_{6'}) ; 132,7 (2 C_q) ; 144,8 (2 C_q) ; 145,4 (C_q) ; 149,5 (C_q) ; 152,5 (C_q) ; 152,6 (C_q) ; 161,1 (C=O)

CCM : R_F = 0,47 (dichlorométhane/acétone 5 %)

25,27:26,28-Bis(4-méthylcoumarine-6,7-diylbis(2-(2-oxyéthoxy)éthoxy))calix[4]arène**Calix-COU2****Solide blanc**

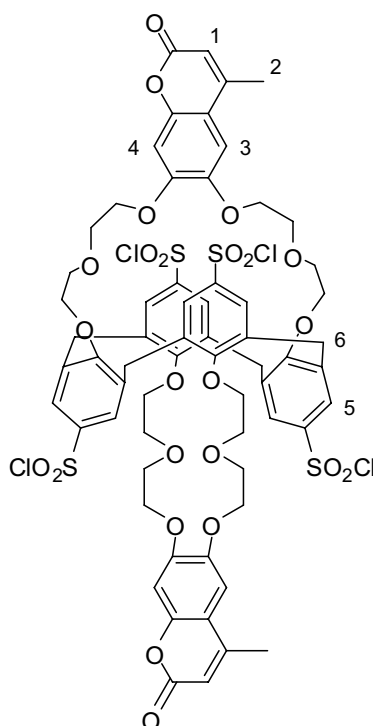
Dans un ballon sous argon sont introduits 170 mg (0,4 mmol) de calix[4]arène, 25 mL d'acétonitrile et 1,1 g (8 mmol) de carbonate de potassium. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures à TA et une solution de 540 mg (0,8 mmol) de coumarine tosylée **26** dans 3 mL d'acétonitrile est ajoutée. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux pendant 3 jours et le solvant est évaporé sous pression réduite. De l'eau est ajoutée et la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à pH = 1 par ajout d'une solution aqueuse de HCl 1M. La phase aqueuse est alors extraite au dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur Na₂SO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Le solide marron obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH 3 % jusqu'à 5 %) et 187 mg d'un solide blanc sont obtenus (43 %).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,41 (d, *J* = 1,1 Hz, 6H, H₂) ; 3,50-3,70 (m, 20H, OCH₂) ; 3,78 (s, 8H, H₇) ; 3,87 (t, *J* = 4,4 Hz, 4H, OCH₂) ; 4,12 (t, *J* = 4,6 Hz, 4H, OCH₂) ; 4,19 (t, *J* = 4,6 Hz, 4H, OCH₂) ; 6,18 (d, *J* = 1,1 Hz, 2H, H₁) ; 6,70 (t, *J* = 7,5 Hz, 4H, H₆) ; 6,89 (s, 2H, H₃) ; 7,03-7,13 (m, 8H, H₅) ; 7,16 (s, 2H, H₄)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 18,9 (2 C₂) ; 37,9 (4 C₇) ; 69,8 (OCH₂) ; 69,9 (OCH₂) ; 69,9 (OCH₂) ; 70,2 (OCH₂) ; 70,3 (OCH₂) ; 70,7 (OCH₂) ; 70,9 (OCH₂) ; 71,2 (OCH₂) ; 101,8 (C_{ar}) ; 111,2 (C_{ar}) ; 112,6 (C_{ar}) ; 113,2 (C_{ar}) ; 122,5 (C_{ar}) ; 130,2 (C_{ar}) ; 130,2 (C_{ar}) ; 130,3 (C_{ar}) ; 130,3 (C_{ar}) ; 134,1 (C_{ar}) ; 134,1 (C_{ar}) ; 134,2 (C_{ar}) ; 134,2 (C_{ar}) ; 145,5 (C_{ar}) ; 150,2 (C_{ar}) ; 152,4 (C_{ar}) ; 153,4 (C_{ar}) ; 156,5 (C_{ar}) ; 156,6 (C_{ar}) ; 161,4 (2 C=O)

CCM : R_F = 0,61 (CH₂Cl₂/MeOH 5 %)

5,11,17,23–Tétrachlorosulfonato-25,27:26,28-Bis(4-méthylcoumarine-6,7-diylbis(2-(2-oxyéthoxy)éthoxy))calix[4]arène



Calix-COUSO₂Cl



M = 1483,22 g mol⁻¹

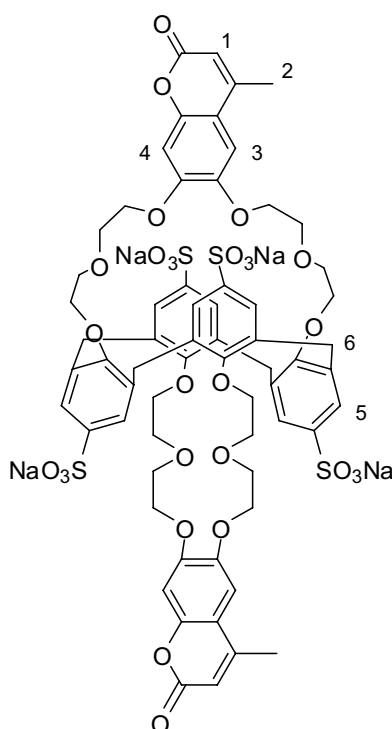
Solide blanc

Dans un ballon sous argon à -10°C sont solubilisés 234 mg (0,21 mmol) de Calix-COU2 dans 3 mL de chloroforme. 0,56 mL (8,48 mmol) de HSO₃Cl sont alors ajoutés au goutte à goutte et le milieu est laissé remonter à TA. Après agitation pendant 3 heures à TA, le mélange réactionnel marron est versé dans de l'eau glacée. 20 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl sont ajoutés et la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. Par addition d'isopropanol, 271 mg du composé Calix-COUSO₂Cl sont isolés par filtration sous la forme d'un solide blanc (87 %).

RMN ¹H (acétone-d₆, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,46 (s, 6H, H₂) ; 3,22 (t, *J* = 6,3 Hz, 8H, OCH₂) ; 3,76–3,93 (m, 16H, OCH₂) ; 4,06–4,23 (m, 8H, OCH₂) ; 4,48 (s, 8H, H₆) ; 6,17 (d, *J* = 0,7 Hz, 2H, H₁) ; 6,90 (s, 2H, H₃) ; 7,23 (s, 2H, H₄) ; 8,12 (d, *J* = 3,7 Hz, 8H, H₅)

SM (ESI⁻, *m/z*) : 1460,9 ([M-Cl+O]⁻) ; 720,9 ([M-2Cl+2O]²⁻) ; 474,3 ([M-3Cl+3O]³⁻)

Analyses élémentaires : calculé : C 51,83 % - H 4,08 % ; mesuré : C 51,41 % - H 4,35 %

5,11,17,23–Tétrasulfonate de sodium du 25,27:26,28-Bis(4-méthylcoumarine-6,7-diylbis(2-(2-oxyéthoxy)éthoxy))calix[4]arène


Calix-COUSULF
C₆₄H₆₀Na₄O₂₈S₄
M = 1497,36 g mol⁻¹
Solide blanc

Dans un ballon sous argon sont solubilisés 247 mg (0,17 mmol) de Calix-COUSO₂Cl dans 2 mL de pyridine. 0,25 mL d'eau sont ajoutés et le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 heures. La pyridine est évaporée et 1 mL d'eau sont ajoutés. La solution est alors neutralisée jusqu'à pH = 7 par ajout d'une solution aqueuse de NaHCO₃ à 10 %. L'ajout d'acétone entraîne la précipitation du produit. Après filtration sur fritté, 229 mg de Calix-COUSULF sont obtenus sous la forme d'un solide blanc (92 %).

RMN ¹H (D₂O, 300 MHz, δ en ppm) : δ = 2,45 (s, 6H, H₂) ; 3,15-3,35 (m, 8H, OCH₂) ; 3,60-3,75 (m, 8H, OCH₂) ; 3,75-3,85 (m, 4H, OCH₂) ; 3,88-3,96 (m, 4H, OCH₂) ; 4,07 (s, 8H, H₆) ; 4,11-4,27 (m, 8H, OCH₂) ; 6,23 (s, 2H, H₁) ; 7,03 (s, 2H, H₃) ; 7,29 (s, 2H, H₄) ; 7,60 (s, 8H, H₅)

RMN ¹³C (D₂O, 75 MHz, δ en ppm) : δ = 18,9 (C₂) ; 37,7 (4 C₆) ; 69,1 (O-CH₂) ; 69,5 (O-CH₂) ; 69,7 (O-CH₂) ; 69,8 (O-CH₂) ; 70,4 (O-CH₂) ; 70,9 (O-CH₂) ; 71,0 (O-CH₂) ; 103,0 (2 C₃ ou C₄) ; 111,3 (2 C₃ ou C₄) ; 113,3 (C_q) ; 114,5 (2 C₁) ; 127,5 (8 C₅) ; 134,6 (C_q) ; 134,7 (C_q) ; 138,3 (C_q) ; 138,4 (C_q) ; 146,0 (C_q) ; 150,4 (C_q) ; 154,1 (C_q) ; 157,5 (C_q) ; 159,2 (C_q) ; 162,2 (C_q) ; 165,9 (C_q)

SM (ESI⁻, m/z) : 724,9 ([M-2Na]²⁻) ; 475,6 ([M-3Na]³⁻) ; 351,0 ([M-4Na]⁴⁻)

F : > 260°C

II. Mesures spectroscopiques

II.1 Instrumentation

II.1.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible

Les cuves utilisées pour les mesures en absorption stationnaire sont de marque Hellma et de trajet optique égal à 1 cm. Les spectres d'absorption sont enregistrés sur des spectrophotomètres à double faisceau Uvikon 943 ou Cary-5E (Varian). Le domaine spectral du premier s'étend de 190 à 900 nm, avec une précision de 0,1 nm. Pour le second, il s'étend de 175 à 3300 nm avec une précision inférieure à 0,05 nm.

II.1.2. Spectroscopie de fluorescence stationnaire

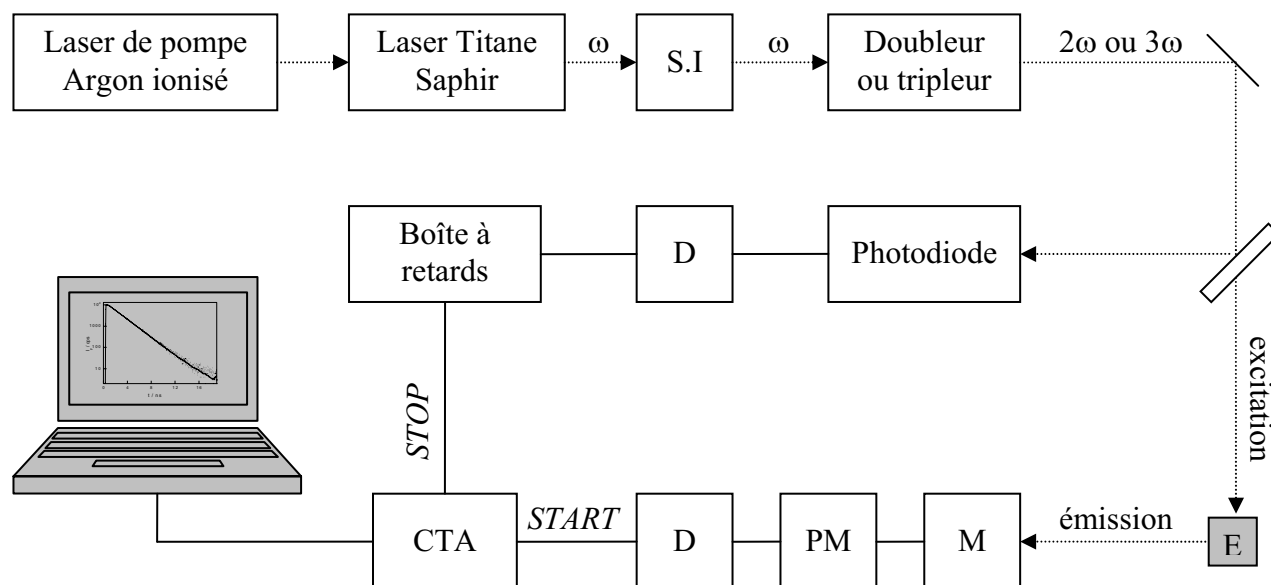
Les cuves utilisées pour les mesures en fluorescence stationnaire sont de marque Hellma et de trajet optique égal à 1 cm. Les spectres d'émission et d'excitation sont enregistrés sur deux types de spectrofluorimètres de marque Jobin-Yvon reliés à un ordinateur sous Windows XP doté du logiciel DATAMax V.1.03 de Galatic Industries Corporation & Instruments S.A., Inc. Tous les spectres d'excitation et d'émission sont corrigés de la fonction d'appareil.

- Fluorolog SPEX 1681 : l'échantillon est excité par un faisceau provenant d'une lampe à arc Xénon d'une puissance de 450 W dont le domaine spectral s'étend de 200 à 900 nm. Les bandes passantes des monochromateurs d'excitation et d'émission sont ajustées manuellement au moyen de fentes de largeur variable (de 0,5 à 5,0 mm, ce qui correspond à des bandes comprises entre 0,9 à 18,9 nm).
- Fluoromax-3 : la lampe d'excitation est une lampe à arc Xénon d'une puissance de 150 W. Son domaine spectral s'étend de 200 à 900 nm. Les bandes passantes des monochromateurs en excitation et en émission sont ajustées automatiquement via l'interface du logiciel Datamax (bandes comprises entre 0,5 à 10 nm).

II.1.3. Fluorimétrie impulsionnelle par comptage de photons uniques

Appareillage

Les déclins de fluorescence sont enregistrés suivant la technique du comptage de photons uniques corrélés en temps.^{2,3} Le principe de cette technique repose sur le fait que la probabilité de détecter un photon à un instant t après l'excitation lumineuse est proportionnelle à l'intensité de fluorescence à cet instant. Chaque photon détecté est alors stocké dans un canal différent suivant son retard par rapport à l'excitation lumineuse. Le déclin de fluorescence est finalement reconstruit en sommant les photons de chaque canal pour un grand nombre d'excitations lumineuses. Le schéma de fonctionnement du montage expérimental est représenté sur la Figure 1.



S.I = sélecteur d'impulsions ; D = discriminateur ; E = échantillon
 M = monochromateur ; PM = photomultiplicateur ; CTA = convertisseur temps-amplitude

Figure 1. Montage expérimental pour l'acquisition des déclins de fluorescence.

La source d'excitation est un laser accordable Titane-Saphir (Spectra Physics) pompé par un laser à argon ionisé. Il délivre des impulsions de 1,3 ps de largeur à mi-hauteur avec un taux de récurrence de 82 MHz (12 ns entre deux impulsions) dans un domaine de longueur d'onde compris entre 700 et 1000 nm. Le taux de répétition des impulsions est ramené à 4 MHz (soit 250 ns entre deux impulsions) à l'aide d'un sélecteur d'impulsion acousto-optique (S.I.) afin de permettre aux molécules dont les durées de vie sont longues de relaxer totalement avant l'impulsion suivante. Suivant les composés étudiés, la fréquence du faisceau d'excitation peut être doublée ou triplée. Des longueurs d'onde d'excitation comprises entre 280 à 330 nm (tripleur) ou entre 420 et 500 nm (doubleur) sont ainsi accessibles.

Une partie du faisceau d'excitation est alors dirigée vers l'échantillon. La fluorescence émise est collectée à 90° à travers un monochromateur dont la largeur des fentes est ajustée manuellement. Les photons de fluorescence sont alors détectés par un photomultiplicateur (PM) à galette de microcanaux (Hamamatsu Multi Chanel Plate R3809U). Un discriminateur à fraction constante placé après le PM permet de sélectionner les signaux qui ont une amplitude convenable (élimination d'une partie du bruit et des impulsions parasites). Le signal électrique délivré est envoyé sur la chaîne de comptage et déclenche le convertisseur temps-amplitude (CTA) (Tennelec TC864).

Une partie du faisceau d'excitation est également envoyée sur une photodiode associée à un discriminateur. Le signal détecté lors de l'impulsion lumineuse est retardé via une boîte à retards (câbles BNC de longueur variable correspondant à des retards compris entre 0,5 et 32 ns) et permet l'arrêt du convertisseur temps-amplitude (CTA).

Les déclins sont enregistrés sur 1024 ou 4096 canaux. Pour chaque mesure, au moins 10^4 photons sont comptés dans le canal où le nombre de photons est maximal. Les retards sont choisis de sorte que l'impulsion lumineuse d'excitation est détectée entre les canaux 50 et 100 (1024 canaux) ou entre les canaux 200 et 400 (4096 canaux). Les derniers canaux comportant du bruit résiduel ne sont pas analysés. Avant chaque déclin de fluorescence, la fonction d'excitation $E(t)$ (cf. paragraphe suivant) est mesurée en utilisant une solution aqueuse diffusante de Ludox observée à la longueur d'onde d'excitation du laser. Bien que le laser Titane-Saphir délivre des impulsions de 1,3 ps de largeur à mi-hauteur, celle de l'impulsion lumineuse mesurée en sortie de la chaîne de comptage de photons varie entre 35 ps à 50 ps suivant la fenêtre d'observation temporelle utilisée.

Analyse des déclins de fluorescence

Pour une impulsion d'excitation infiniment brève, le déclin de fluorescence observé est généralement une somme d'exponentielles discrète :

$$I_F(t) = \sum_i \alpha_i \exp[-t/\tau_i] \quad \text{eq. 0-1}$$

où α_i et τ_i sont les facteurs préexponentiels et les constantes de temps de chacune des exponentielles, $I_F(t)$ représente le déclin de fluorescence.

Lorsque la durée de l'impulsion n'est pas infiniment courte par rapport aux constantes de temps τ_i , la réponse $I(t)$ enregistrée est le produit de convolution de la réponse impulsionnelle par la fonction d'excitation $E(t)$:

$$I(t) = E(t) \otimes I_F(t) = E(t) \otimes \sum_i \alpha_i \exp[-t/\tau_i] \quad \text{eq. 0-2}$$

Les déclins de fluorescence enregistrés via l'appareillage présenté dans le paragraphe précédent sont analysés grâce au logiciel GLOBALS™ pour Windows (Globals Unlimited, University of Illinois at Urbana-Champaign, Laboratory of Fluorescence Dynamics). En effet, ce logiciel permet la déconvolution de la fonction d'appareil et l'ajustement numérique du déclin de fluorescence en utilisant jusqu'à quatre exponentielles. Cet ajustement utilise la méthode des moindres carrés non linéaire et sa qualité est reliée au critère statistique χ_R^2 défini comme suit :

$$\chi_R^2 = \frac{1}{N-n} \sum_{i=1}^N \left[\frac{I_F^{\text{exp}}(t_i) - I_F^{\text{calc}}(t_i)}{I_F^{\text{exp}}(t_i)} \right]^2 \quad \text{eq. 0-3}$$

où $I_F^{\text{exp}}(t_i)$ et $I_F^{\text{calc}}(t_i)$ représentent les intensités de fluorescence expérimentale et calculée à l'instant t_i , N est le nombre de points expérimentaux et n le nombre de paramètres à ajuster.

L'ajustement numérique est jugé satisfaisant pour des valeurs de χ_R^2 proches de l'unité (comprises entre 0,9 et 1,3) et lorsque les résidus pondérés possèdent un caractère aléatoire.

II.1.4. Absorption transitoire

Un laser YAG-Néodyme (modèle BMI 502 DNS 77/10) délivre des impulsions de 7-8 ns à 1064 nm. Un faisceau à 355 nm est obtenu après passage du train d'impulsions dans un module contenant des cristaux non linéaires de doublage ou de triplage de fréquence (cf. Figure 2).

Le faisceau sonde est placé perpendiculairement à la direction du faisceau d'excitation. La source est une lampe à arc au Xénon surtensé, synchronisée avec l'impulsion du laser, qui fournit une émission continue de lumière blanche. Le signal d'absorption transitoire est recueilli point par point par un monochromateur placé après l'échantillon et un photomultiplicateur (Hamamatsu R928) couplé à un oscilloscope numérique (Tektronic) connecté à un ordinateur.

Un tiroir synchrone assure le déclenchement de l'alimentation du laser, de la lampe et de l'ordinateur. Les signaux d'absorption transitoire sont analysés grâce au logiciel Igor Wavemetrics. Les spectres d'absorption transitoire sont reconstruits point par point en effectuant une mesure tous les 10 nm.

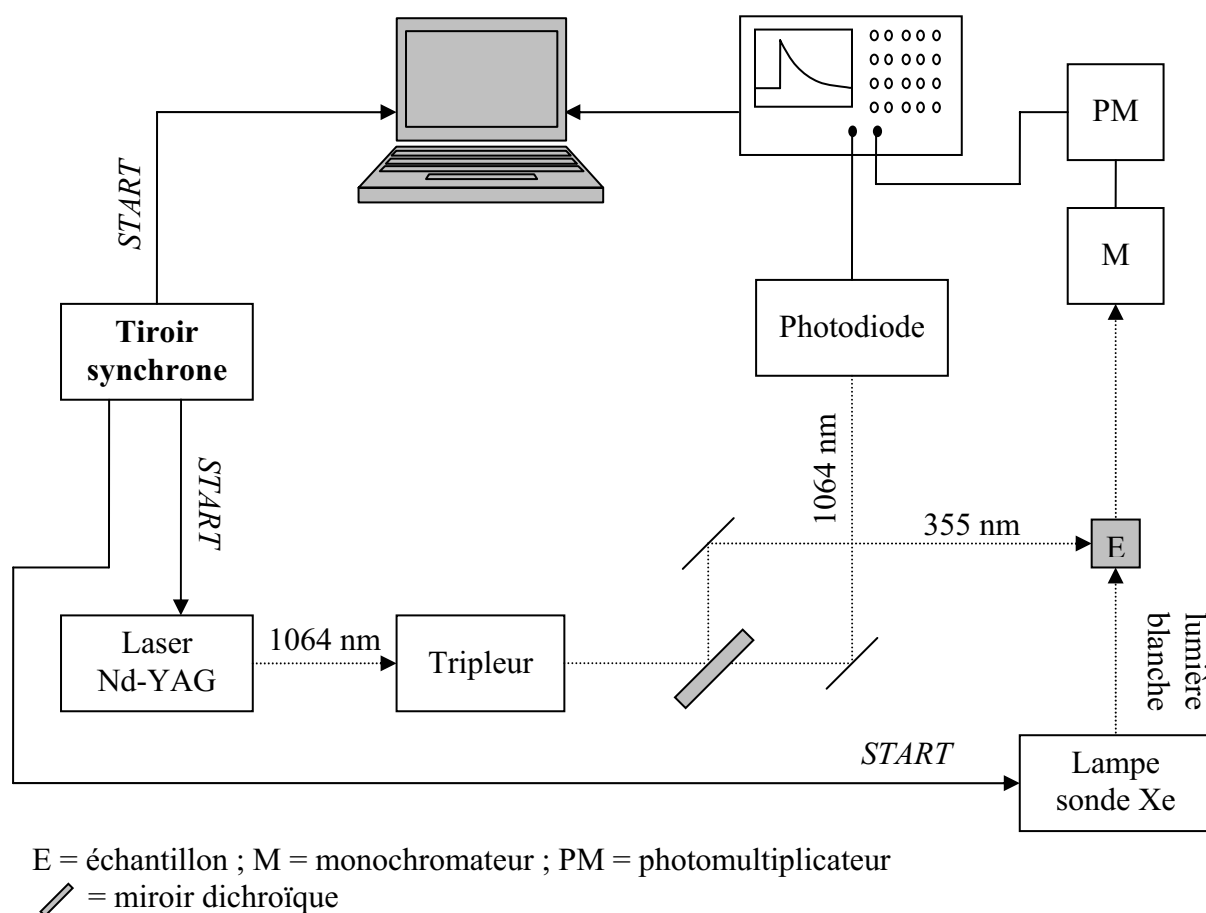


Figure 2. Montage expérimental pour les mesures d'absorption transitoire.

II.2. Produits et solvants

L'eau est distillée puis déionisée grâce à un traitement sur appareil Milli-Q-plus. La conductivité de l'eau millipore obtenue est inférieure à $6 \times 10^{-8} \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à 20°C. Les solvants organiques (acétonitrile, méthanol, DMSO) sont de qualité spectroscopique et commercialisés chez Aldrich ou SDS (pureté > 99 %).

L'acide perchlorique (70 % dans l'eau) est de marque Aldrich et de pureté égale à 99,999 %. La soude NaOH utilisée est commercialisée chez Aldrich (pureté = 99,998 %). Les composés MES, MOPS ou 2,6-lutidine utilisés pour la réalisation de solutions tampons sont commercialisés chez Aldrich ou Fluka.

La sonde commerciale Rhod-5N est disponible chez Invitrogen sous la forme de sel de potassium. Elle est conservée à -20°C à l'abri de la lumière et de l'humidité et les solutions stocks de ligand sont préparées juste avant leur utilisation.

Les sels métalliques sont de type perchlorate ($\text{Li}(\text{ClO}_4)$, NaClO_4 , KClO_4 , $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Hg}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Pb}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Ag}(\text{ClO}_4)$), nitrate ($\text{Hg}(\text{NO}_3)_3$), acétate (PbOAc , CsOAc), chlorure (CdCl_2 , KCl , MgCl_2) ou thiocyanate (KSCN). Tous sont disponibles commercialement chez Aldrich ou Fluka avec une pureté supérieure à 99 %.

II.3. Protocoles expérimentaux

II.3.1. Mesure du rendement quantique de fluorescence

Le rendement quantique de fluorescence est défini comme le rapport du nombre de photons émis par fluorescence sur le nombre de photons absorbés. Les rendements quantiques de fluorescence des produits sont mesurés par rapport à une référence dont le rendement quantique (Φ_R^0) est connu. Il est préférable de choisir une référence excitable à la même longueur d'onde que le composé étudié et dont le spectre d'émission recouvre celui du composé étudié. Dans la mesure où les spectres de fluorescence du composé et de la référence sont enregistrés dans les mêmes conditions expérimentales (longueurs d'onde d'excitation et d'émission, largeur des fentes), les rendements quantiques des deux composés sont reliés par la relation suivante :

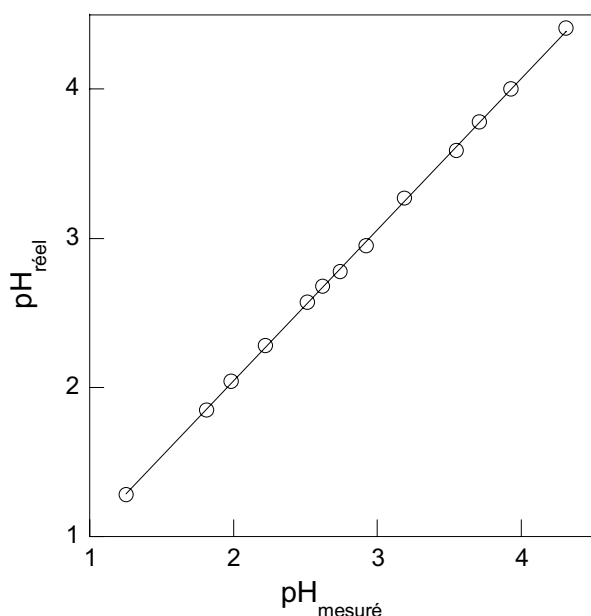
$$\Phi_F = \Phi_R^0 \frac{1-10^{-A_0}}{1-10^{-A}} \frac{S}{S_0} \left(\frac{n}{n_0} \right)^2 \quad \text{eq. 0-4}$$

où Φ_F et Φ_R^0 sont respectivement les rendements quantiques de fluorescence du composé étudié et de la référence, A est l'absorbance, S est l'intégrale de l'intensité de fluorescence mesurée et n est l'indice de réfraction du milieu étudié. Indiquées par un zéro, ces valeurs sont celles du composé de référence.

Les références utilisées pour les mesures de rendement quantique de fluorescence sont le sulfate de quinine dans une solution d'acide sulfurique H_2SO_4 à 0,5 N ($\Phi_R^0 = 0,546$),⁴ la coumarine C153 dans l'éthanol ($\Phi_R^0 = 0,38$),⁵ la rhodamine B dans l'eau ($\Phi_R^0 = 0,41$),⁶ et le naphthalène dans le cyclohexane dégazé ($\Phi_R^0 = 0,23$).⁷

II.3.2. Mesure du pH en milieu organo-aqueux

Dans la mesure où l'électrode de verre utilisée pour la mesure du pH comporte une électrode de référence au calomel saturée, elle n'est pas adaptée à la mesure du pH en milieu organo-aqueux. Il apparaît en effet un potentiel de jonction entre la solution de référence (milieu aqueux) et le mélange organo-aqueux à étudier. La valeur affichée par le pH-mètre doit donc être corrigée.



Expérimentalement, le pH de solutions d'acide perchlorique (acide fort) dans l'eau et dans un mélange eau/MeOH 80:20 v/v est mesuré pour des concentrations identiques en acide. Une droite de calibration reliant le pH mesuré à l'électrode dans le mélange organo-aqueux et le pH de la solution aqueuse peut être tracée. Il apparaît que le pH dans le mélange organo-aqueux varie peu par rapport à celui mesuré en solution aqueuse dans une gamme de pH comprise entre 1 et 5 :

$$\text{pH}_{\text{réel}} = 1,044 \times \text{pH}_{\text{mesuré}} + 0,02$$

Les valeurs de pH et de pK_a dans le manuscrit tiennent compte de cette correction.

II.3.3. Détermination de pK_a et de constantes de stabilité

Les constantes de stabilité des complexes ont été déterminées par dosage spectrophotométrique ou fluorimétrique. Les spectres d'absorption et de fluorescence sont enregistrés pour des ajouts croissants de cation en maintenant la concentration en ligand constante au cours du dosage. Une méthode similaire est utilisée pour la détermination des constantes d'acidité : des ajouts successifs d'une solution concentrée en $[\text{H}_3\text{O}^+]$ sont réalisés et la concentration en ligand est maintenue constante.

Les constantes d'acidité, les stoechiométries et les valeurs de constantes de complexation des complexes ont été obtenues grâce à une analyse globale des spectres d'absorption ou de fluorescence par le logiciel SPECFIT™ Global Analysis System V3.0 32-bit pour Windows.^{8,9,10} Ce logiciel permet également d'accéder aux spectres des différentes espèces et aux proportions des espèces en fonction du pH ou de la concentration en cation.

III. Mesures électrochimiques

Les mesures effectuées par électrochimie ont été réalisées avec un potentiostat CH Instrument relié à un ordinateur. L'électrode de référence utilisée est une électrode Ag^+/Ag remplie avec une solution de AgNO_3 à 0,01 M. Comme le recommande l'IUPAC, cette électrode de référence est calibrée par rapport au ferrocène ($E^\circ(\text{Fc}^+/\text{Fc}) = 0,045$ V dans l'acétonitrile). L'hexafluorophosphate de tétrabutylammonium est utilisé comme électrolyte support (0,1 M) et est disponible commercialement chez Acros (98 %). L'acétonitrile (99,8 %), acheté chez Aldrich, est utilisé comme tel. Avant les mesures électrochimiques, toutes les solutions sont dégazées pendant quelques minutes en faisant buller de l'argon.

Références bibliographiques

- [1] D.D. Perrin et W.L.F. Armagero. *"Purification of Laboratory Chemicals, 3rd edition"*, Pergamon Press, Oxford, **1988**
- [2] B. Valeur. *"Principles of steady-state and time-resolved fluorometric techniques"* in *Molecular fluorescence*, Wiley-VCH : Weinheim, **2002**, 155-199.
- [3] M. vandeVen, M. Ameloot, B. Valeur et N. Boens. *"Pitfalls and their remedies in time-resolved fluorescence spectroscopy and microscopy"*, *J. Fluoresc.*, **2005**, 15, 377-413.
- [4] G.A. Crosby et J.N. Demas. *"Measurement of photoluminescence quantum yields. Review"*, *J. Phys. Chem.*, **1971**, 75, 991-1024.
- [5] G.A. Reynolds and K.H. Drexhage, *"New coumarin dyes with rigidized structure for flashlamp-pumped dye lasers"*, *Opt. Commun.*, **1975**, 13, 222-225.
- [6] N. Boens, W.W. Qin, N. Basaric, J. Hofkens, M. Ameloot, J. Pouget, J.P. Lefevre, B. Valeur, E. Gratton, M. Vandeven, N.D. Silva, Y. Engelborghs, K. Willaert, A. Sillen, G. Rumbles, D. Phillips, A. Visser, A. van Hoek, J.R. Lakowicz, H. Malak, I. Gryczynski, A.G. Szabo, D.T. Krajcarski, N. Tamai et A. Miura. *"Fluorescence lifetime standards for time and frequency domain fluorescence spectroscopy"*, *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 2137-2149.
- [7] I.B. Berlman. *"Handbook of Fluorescence Spectra of Aromatic Molecules"*, Academic Press, London, **1965**
- [8] H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer et A.D. Zuberbuhler. *"Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data .1. Mathematical considerations"*, *Talanta*, **1985**, 32, 95-101.
- [9] H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer et A.D. Zuberbuhler. *"Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data .2. Specfit - 2 user-friendly programs in basic and standard fortran-77"*, *Talanta*, **1985**, 32, 257-264.
- [10] H. Gampp, M. Maeder, C.J. Meyer et A.D. Zuberbuhler. *"Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data .3. Model-free analysis of spectrophotometric and electron-spin-resonance titrations"*, *Talanta*, **1985**, 32, 1133-1139.

Publication

Selective detection of cesium by a water-soluble fluorescent molecular sensor based on a calix[4]arene-bis(crown-6-ether)†

Vincent Souchon, Isabelle Leray* and Bernard Valeur*

Received (in Cambridge, UK) 4th July 2006, Accepted 2nd August 2006

First published as an Advance Article on the web 29th August 2006

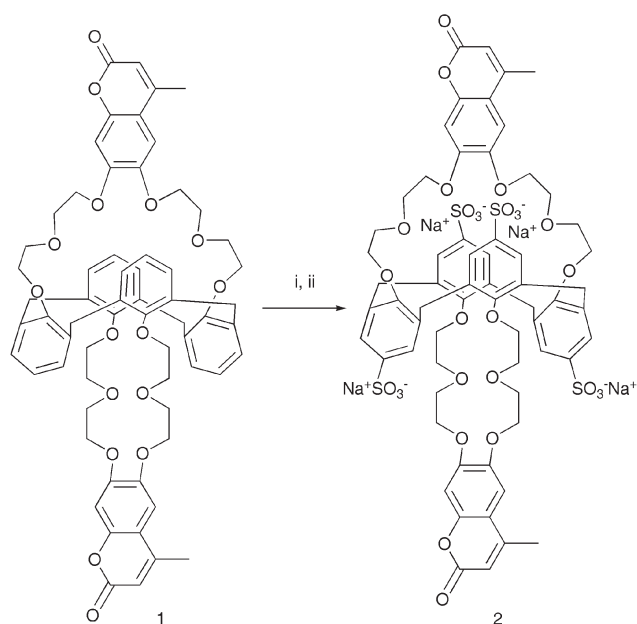
DOI: 10.1039/b609466j

A tetrasulfonated calixarene with two appended crowns, each including a dioxycoumarin fluorophore, is highly soluble in water and shows excellent selectivity for cesium ions.

There is a significant need for the development of sensors able to selectively detect cesium ions. The major source of cesium involves nuclear waste materials and its toxicity is due to its ability to replace potassium in muscles and red cells. In nuclear waste, cesium must be detected in a medium where sodium and potassium are present in a large excess.¹ Various methods were reported for the determination of cesium, including atomic absorption spectroscopy,² radioanalysis³ and ion-selective electrodes (ISEs).⁴ Recent developments using ISEs were aimed at obtaining very low detection limits.^{4c} Those analytical methods have different disadvantages, since they require expensive instruments and/or controlled experimental conditions. In contrast, fluorescent molecular sensors of ions (fluoroionophores), consisting of fluorophores linked to recognition moieties (ionophores),⁵ offer many advantages in terms of sensitivity, selectivity and low cost.⁶ In order to achieve good selectivity, the choice of the ionophore is of major importance, and in this respect, 1,3-alternate calix[4]arene-bis(crown-6-ether) exhibits remarkable selectivity⁷ towards Cs⁺ versus Na⁺ and to a lesser extent versus K⁺. It was extensively used for solvent extraction from nuclear waste solutions.⁸

Cesium-selective fluoroionophores, consisting of calix[4]arene-bis(crown-6-ether) with appended cyanoanthracenes, were previously reported by Dabestani *et al.*⁹ We described the synthesis, the binding and photophysical properties of **1**, a calix[4]arene-bis(crown-6-ether) with a dioxycoumarin fluorophore inserted in both crowns.¹⁰ Such fluorescent molecular sensors have limitations for practical applications due to their poor solubility in water. In order to render compound **1** soluble in water, we used the method of Lemaire and coworkers to introduce sulfonate groups¹¹ leading to calixarene **2**. We report here the synthesis together with the photophysical and complexing properties of this compound.

Calixarene **2** was thus synthesized by chlorosulfonylation‡ followed by hydrolysis of the chlorosulfonyl groups§ (Scheme 1). The absorption and emission spectra of **2** do not depend on the pH (from pH 6 to 9). This compound is strongly fluorescent in water with a fluorescence quantum yield Φ_F of 0.40. Addition of



Scheme 1 Synthesis of the tetrasulfonated calixarene **2**: (i) HSO₃Cl, CHCl₃, -10 °C to RT, 2 h, 87%; (ii) H₂O, pyridine, NaHCO₃, RT, 92%.

sodium ions to a solution of **2** in lutidine buffer does not induce any effect on the emission spectrum up to a concentration of 25 mM. The concentration must attain 50 mM to observe significant changes. Therefore, it is possible to use a MES buffer (50 mM) adjusted at pH 7 with NaOH (25 mM) without any trouble due to the presence of the added sodium ions at a concentration of 25 mM. In this medium, addition of cesium acetate induces a 10 nm bathochromic shift of the absorption spectra (Fig. 1) and an enhancement of the fluorescence intensity (Fig. 2). A linear response of the fluorescence intensity as a function of cesium concentration was observed from 0 to 0.1 mM. The detection limit calculated as three times the standard deviation of the background noise was found to be 3.7 μM. The observed shift of the absorption spectra allows a ratiometric measurement: the ratio of the fluorescence intensities at 420 nm for two excitation wavelengths, $I(360)/I(320)$, provides a better sensitivity (see the curve in the ESI†): a detection limit of 0.3 μM was found under these conditions. Such a detection limit is of the same order of magnitude as that observed with cesium fluoroionophores soluble in organic solvents,^{9,10} but it is unprecedented for a water-soluble fluoroionophore.

Analysis of the absorption spectra at various cesium concentrations by means of the SPECFIT programme led to the following

CNRS UMR 8531 Laboratoire de Photophysique et Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires, Département de Chimie, ENS-Cachan, 61 Avenue du Président Wilson, F-94235 Cachan Cedex, France and Laboratoire de Chimie Générale, Conservatoire National des Arts et Métiers, 292 rue Saint-Martin, F-75141, Paris Cedex, France.

E-mail: icmleray@ppsm.ens-cachan.fr

† Electronic supplementary information (ESI) available: Titration data, partial NMR spectrum. See DOI: 10.1039/b609466j

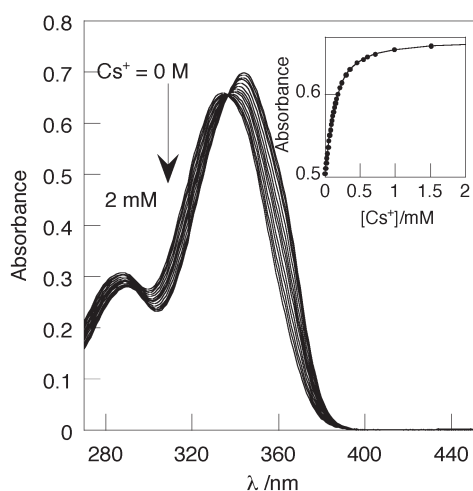


Fig. 1 Absorption spectra of **2** (33 μM) in the presence of increasing concentration of Cs^+ in MES–NaOH buffer pH 7. Inset: titration curve at 365 nm.

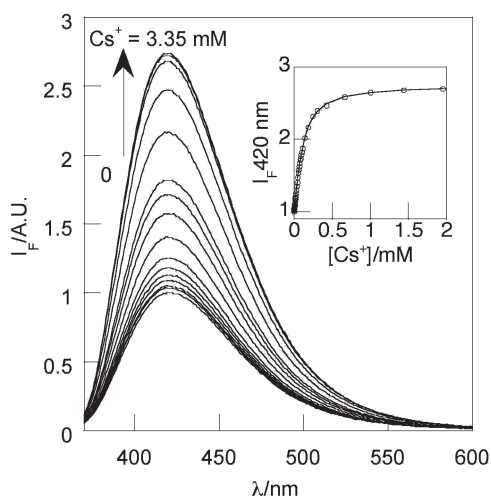


Fig. 2 Corrected emission spectra of **2** (2.6 μM) in the presence of increasing concentration of Cs^+ in MES–NaOH buffer pH 7. Excitation at 365 nm. Inset: titration curve at 420 nm.

stability constants of the two complexes, 1 : 1 and 2 : 1 (metal–ligand): $\log K_{11} = 4.10 \pm 0.04$, $\log K_{21} = 3.82 \pm 0.05$. The values obtained from emission data gave the same values within the experimental error, which does not necessarily mean that the stability constants of the complexes is the same in the ground and excited states, but that the complexation equilibrium in the excited state is not reached during the lifetime of this excited state (3.5 ns).

It should be noted that, in contrast to the non-sulfonated calix[4]arene-bis(crown-6-ether) **1**, for which an anticooperative effect was observed on binding with a second cation (as a result of the repulsion of the two cations),¹⁰ the ratio K_{21}/K_{11} ($\sim 0.55 \pm 0.30$) is close to the statistical value of 1/4 that would be observed if the two binding sites were identical and independent.¹² This means that there is no electrostatic repulsion between the two bound cations because of the shielding effect of the sulfonate groups. The SPECFIT programme also provides the absorption and the emission spectra of the 1 : 1 and 2 : 1 complexes that are displayed

in Fig. 3. The absorption spectrum of the 1 : 1 complex is the half sum of the spectrum of the free ligand and that of the 2 : 1 complex, which clearly proves that the two binding sites have the same affinities for cations.

It is of major importance to note that, in the complexes, electrostatic attraction brings the two sulfonate groups close to a cesium ion that is coordinated to the oxygen atoms at the 6- and 7-positions of the coumarin. Consequently, in the vicinity of these oxygen atoms, there is an overall negative charge (equal to that of an electron) that reinforces the electron-donating character of these atoms, explaining the observed red shift of the absorption spectrum.

The enhancement of the fluorescence intensity upon cesium binding can be explained in the same way. It should be indeed recalled that coumarin itself (*i.e.* without any substituent on the phenyl ring) is very poorly fluorescent and that introduction of electron-donating methoxy groups at the 6- and 7-positions leads to intense fluorescence, as a consequence of an intramolecular charge transfer from these groups to the lactone carbonyl group (acceptor).¹³ In calixarene **1**, the decrease in fluorescence intensity upon cesium binding was explained by the reduction in the electron-donating character of the coumarinic oxygen atoms at the 6- and 7-positions. On the contrary, in the complexes of calixarene **2** with cesium ion, the electron-donating character is reinforced by the negative charge appearing in the vicinity of the oxygen atoms, which leads to an increase in fluorescence intensity. In line with this increase, the lifetime of the excited state increases from 3.51 ± 0.05 ns for the free ligand to 3.73 ± 0.05 ns for the 2 : 1 complex.

¹H-NMR studies of the 2 : 1 complex confirm the enhancement of the electron-donating character of the coumarinic oxygen atoms upon complexation with cesium. In fact, a considerable upfield shift is observed for one of the aromatic protons of the coumarin close to the oxygen of the crown ether. In contrast, the aromatic protons of the calix[4]arene moved downfield by 0.11 ppm, owing to π -metal interaction between the cesium ion and the phenyl ring of the calixarene.

It is of interest to compare the effects of cesium ion with the effect of a double-charged cation like magnesium ion. A decrease in fluorescence intensity upon addition of Mg^{2+} was observed. Indeed, the two positive charges of this cation are compensated by the two negative charges of the sulfonate groups, so that no net

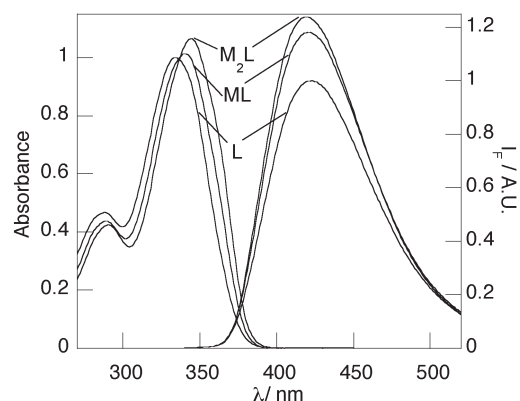


Fig. 3 Absorption and emission spectra of **2** and its 1 : 1 and 2 : 1 complexes with Cs^+ calculated from the titration data using the SPECFIT programme in MES–NaOH buffer pH 7.

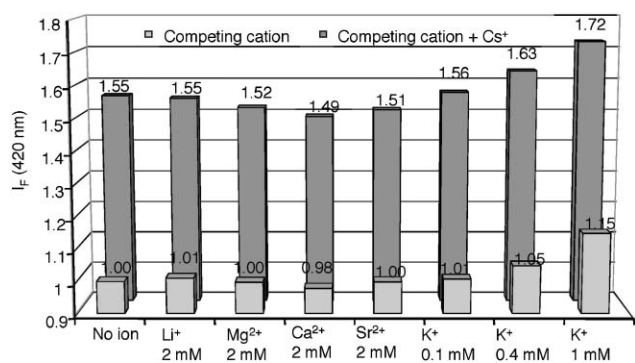


Fig. 4 Fluorescence intensity at 420 nm $I_F(420)$ of **2** (2.6 μ M) in MES–NaOH buffer pH 7, in the presence of Cs⁺ (0.055 mM, 1 ppm) and various interfering cations.

charge appears in the vicinity of the oxygen atoms of the coumarin and there is no concomitant fluorescence enhancement.

The photophysical effects of cesium binding require further attention. Upon excitation, the redistribution of charges on the atoms involved in the photoinduced intramolecular charge transfer and in the coordination is likely to result in motions of the bound cations, as previously observed with the complexes with calixarene **1**.^{10b} The situation is more complicated with calixarene **2**, because of the presence of the sulfonate groups. In particular, a slight blue shift of the emission spectrum upon cesium binding was observed instead of a red shift because of possible compensation effects between the reduction in charge density of the oxygen atoms of the coumarin at the 6- and 7- positions due to intramolecular charge transfer, and the increase in charge density due to the vicinity of an overall negative charge. Moreover, the redistribution of charges is likely to be not strictly the same when one or two cations are present in the complex; interactions in the excited states between the two cations within the 2 : 1 complex may occur with possible effects on emission spectra. In fact, in contrast to the absorption spectrum, the emission spectrum of the 1 : 1 complex was found to be significantly different from the half sum of the spectra of the free ligand and the 2 : 1 complex (see Fig. 3).

Finally, let us examine now the selectivity of **2** for Cs⁺ with respect to other cations such as K⁺, Ca²⁺, Li⁺, Mg²⁺. Except for K⁺, the stability constants of the complexes with these ions are too low to be determined and the competition-based fluorescence effect profiles for these metal ions (Fig. 4) show significant interference with these competing cations under these conditions. The value of K_{11} for the K⁺ complex was found to be 51 (log K_{11} = 1.71), i. e. much lower than for Cs⁺. The selectivity towards Cs⁺ versus K⁺ (expressed as the ratio of the stability constants) is thus larger than 250.[¶]

In conclusion, the new water soluble calix[4]arene-bis(crown-6-ether) fluoroionophore can detect cesium ion very efficiently and selectively in water.

We acknowledge the financial support from CNRS (“Toxicologie Nucléaire Environnementale” program)

Notes and references

[‡] Synthetic procedure for the preparation of the tetrachlorosulfonated intermediate: to a solution of **1** (234 mg, 0.21 mmol) in CHCl₃ (3 mL) was added dropwise HSO₃Cl (0.56 ml, 8.48 mmol) at –10 °C. After 3 h at

room temperature, the brownish reaction mixture was poured into an ice-water solution. Saturated aqueous NaCl solution was added (20 ml). Extraction with EtOAc, drying over MgSO₄ and solvent removal gave 280 mg of a white solid. By addition of isopropanol, pure tetrachlorosulfonated calixarene was collected by filtration as a white powder (271 mg, 87%); δ_H (300 MHz, (CD₃)₂CO) 2.46 (6H, br s), 3.22 (8H, t, J 6.3 Hz, OCH₂CH₂O), 3.76–3.93 (16H, m), 4.06–4.23 (8H, m), 4.48 (8H, br s), 6.17 (2H, d, J 0.7 Hz), 6.90 (2H, s), 7.23 (2H, s), 8.12 (8H, d, J 3.7 Hz); elemental analysis for C₆₄H₆₀Cl₄O₂₄S₄ (1483.22): calcd C 51.83, H 4.08; found C 51.41, H 4.35.

[§] Synthetic procedure for the preparation of compound **2**: tetrachlorosulfonated calixarene (247 mg, 0.17 mmol) was dissolved in pyridine (2 ml) and water (0.25 ml) was added. The reaction mixture was stirred during 2 h at room temperature. After removal of the solvent, 0.1 ml of water was added. The solution was neutralized to pH = 7 by titration with 10% NaHCO₃ aqueous solution and acetone was added. The resulting precipitate was filtered and compound **2** (229 mg, 92%) was obtained after recrystallisation in acetone–water as a white powder; mp > 260 °C; δ_H (300 MHz, (D₂O)) 2.45 (6H, m, CH₃), 3.15–3.35 (8H, m), 3.60–3.75 (8H, m), 3.75–3.85 (4H, m), 3.88–3.96 (4H, m), 4.07 (8H, br s), 4.11–4.27 (8H, m), 6.23 (2H, s), 7.03 (2H, s), 7.29 (2H, s), 7.60 (8H, s); δ_C (75 MHz, D₂O) 18.9 (CH₃), 37.7 (Ar–CH₂–Ar); 69.1, 69.5, 69.7, 69.8, 70.4, 70.9, 71.0 (O–CH₂); 103.0, 111.3 (CH_{ar}); 113.3 (C_q), 114.5, 127.5 (CH_{ar}); 134.6, 134.7, 138.3, 138.4, 146.0, 150.4, 154.1, 157.5, 159.2, 162.2, 165.9 (C_q); m/z (ESI[–]): 724.9 ([M–2Na]^{2–}), 475.6 ([M–3Na]^{3–}), 351.0 ([M–4Na]^{4–})

[¶] The complexation constants were determined by global analysis of the evolution of all the absorption or fluorescence spectra by using the Specfit Global Analysis System V3.0 for 32-bit Window system.

- R. M. Izatt, J. S. Bradshaw, R. L. Bruening, B. J. Tarbet and M. L. Bruening, *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**, 1069.
- H. Vanhoe, C. Vandecasteele, J. Versieck and R. Dams, *Anal. Chem.*, 1989, **61**, 1851.
- (a) K. H. Theimer and V. Krivan, *Anal. Chem.*, 1990, **62**, 2722; (b) D. Van-Renterghem, R. Cornelis and R. Vanholder, *Anal. Chim. Acta*, 1992, **257**, 1.
- (a) M. B. Saleh, S. S. M. Hassan, A. A. Abdel Gaber and N. A. Abdel Kream, *Anal. Lett.*, 2003, **36**, 2367; (b) H. A. M. Arida, R. F. Aglan and S. A. El-Reefy, *Anal. Lett.*, 2004, **37**, 21; (c) A. Radu, S. Peper, C. Gonczy, W. Runde and D. Diamond, *Electroanalysis*, 2006, **18**, 1379.
- (a) A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher and T. E. Rice, *Chem. Rev.*, 1997, **97**, 1515; (b) B. Valeur and I. Leray, *Coord. Chem. Rev.*, 2000, **205**, 3.
- B. Valeur, *Molecular Fluorescence. Principles and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2002, ch. 10.
- (a) A. Casnati, A. Pochini, R. Ungaro, F. Ugozzoli, F. Arnaud, S. Fanni, M.-J. Schwing, R. J. M. Egberink, F. De Jong and D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, **117**, 2767; (b) F. Arnaud-Neu, Z. Asfari, B. Souley and J. Vicens, *New J. Chem.*, 1996, **20**, 453; (c) V. Lamare, J. F. Dozol, S. Fuangswadi, F. Arnaud-Neu, P. Thuery, M. Nierlich, Z. Asfari and J. Vicens, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1999, 271.
- (a) Z. Asfari, C. Bressot, J. Vicens, C. Hill, J. F. Dozol, H. Rouquette, S. Eymard, V. Lamare and B. Tournois, *Anal. Chem.*, 1995, **67**, 3133; (b) J. S. Kim, J. H. Pang, I. Y. Yu, W. K. Lee, I. H. Suh, J. K. Kim, M. H. Cho, E. T. Kim and D. Y. Ra, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1999, 837.
- (a) H. F. Ji, G. M. Brown and R. Dabestani, *Chem. Commun.*, 1999, 609–610; (b) H. F. Ji, R. Dabestani, G. M. Brown and R. A. Sachleben, *Chem. Commun.*, 2000, 833–834; (c) H. F. Ji, G. M. Brown and R. Dabestani, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 9306; (d) H. F. Ji, R. Dabestani, G. M. Brown and R. L. Hettich, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2001, 585.
- (a) I. Leray, Z. Asfari, J. Vicens and B. Valeur, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2002, 1429; (b) I. Leray, Z. Asfari, J. Vicens and B. Valeur, *J. Fluoresc.*, 2004, **14**, 451.
- L. Nicod, S. Pellet-Rostaing, F. Chitry, M. Lemaire, H. Barnier and V. Féderici, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 9443.
- K. A. Connors, *Binding Constants. The Measurements of Molecular Complex Stability*, John Wiley & Sons, New York, 1987.
- A. Takadate, T. Masuda, C. Murata, T. Tanaka, M. Irikura and S. Goya, *Anal. Sci.*, 1995, **11**, 97.

Ingénierie moléculaire et fluorescence pour la détection de cation toxiques

Résumé :

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre du programme Toxicologie Nucléaire Environnementale dont l'objectif est d'étudier les effets sur le vivant de différents métaux lourds ou radionucléides issus de l'industrie nucléaire. En particulier, il concerne la conception de nouvelles sondes fluorescentes pour la détection sélective de Pb^{2+} , Cd^{2+} et Cs^+ en milieu biologique.

Plusieurs calixarènes azotés fluorescents ont été synthétisés et étudiés pour la détection du plomb. L'un d'entre eux a pu être utilisé dans des conditions proches du milieu biologique. La synthèse de nouveaux composés portant des groupes amides a été proposée.

Différentes approches ont été envisagées pour la conception de senseurs fluorescents sélectifs du cadmium. A partir de résultats de la littérature, des ligands incorporant des atomes de soufre ont été synthétisés mais n'ont pas montré d'affinité particulière pour le cadmium. A l'inverse, des composés comportant plusieurs motifs fluorescents pyridin-2'-yl-1,2,3-triazole liés à une β -cyclodextrine ou à un calix[4]arène ont montré une bonne affinité pour le cadmium dans le méthanol, mais une modeste sélectivité a été observée. En revanche, de très bons résultats en termes de sélectivité et de sensibilité ont pu être obtenus en milieu aqueux à pH neutre avec une sonde de calcium commerciale, le Rhod-5N.

Enfin, la détection sélective de concentrations micromolaires en césium a été rendue possible en milieu aqueux à pH = 7 grâce à un nouveau calixarène sulfoné fluorescent possédant deux éther-couronnes. Un modèle pour la complexation du césium a été proposé et validé par modélisation moléculaire (DFT).

Mots clés : fluorescence, sondes de métaux lourds, plomb, cadmium, césium, calixarène, modélisation moléculaire, toxicologie, nucléaire, environnement.

Molecular engineering and fluorescence for the detection of toxic cations

Abstract :

This work is a part of the "Toxicologie Nucléaire Environnementale" program which aims at studying the effects on the living of heavy metals or radionuclides involved in nuclear industry. Most particularly, it deals with the design of new fluorescent sensors for the selective detection of Pb^{2+} , Cd^{2+} and Cs^+ in biological media.

Several fluorescent calixarenes possessing nitrogen atoms were synthesized and their properties as potential lead sensors were investigated. One of them could be used in experimental conditions close to biological media and new target compounds with amide functional groups were proposed.

Many approaches were considered for the design of selective fluorescent sensors for cadmium. On the basis of literature results, many chelating compounds incorporating sulfur atoms were synthesized but showed no significant affinity towards cadmium. On the opposite, compounds functionalized with several pyridin-2'-yl-1,2,3-triazol fluorescent moieties linked to a β -cyclodextrin or a calix[4]arene showed good affinity for cadmium in methanol, but the selectivity was found to be insufficient. In contrast, very satisfying results in terms of both selectivity and sensitivity could be obtained with the commercial calcium sensor Rhod-5N in an aqueous medium at neutral pH.

Lastly, micromolar detection limits for the selective detection of caesium were reached in an aqueous medium at neutral pH thanks to a new sulfonated fluorescent calixarene with two appended crown-ethers. An original complexation mechanism was proposed and validated by molecular modelling (DFT).

Keywords : fluorescence, heavy metals sensors, lead, cadmium, caesium, calixarene, molecular modelling, toxicology, nuclear, environment.