



HAL
open science

Synthèse et étude de ligands redox pour le relargage de calcium contrôlé électrochimiquement

Anne-Sophie Lefevre-Lambert

► **To cite this version:**

Anne-Sophie Lefevre-Lambert. Synthèse et étude de ligands redox pour le relargage de calcium contrôlé électrochimiquement. Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2012. Français. NNT : 2012PA066030 . tel-00833302

HAL Id: tel-00833302

<https://theses.hal.science/tel-00833302>

Submitted on 12 Jun 2013

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.

**THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité

Chimie Physique et Chimie Analytique (Ecole doctorale 388)

Présentée par

Mme Anne-Sophie LEFÈVRE-LAMBERT

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse :

Synthèse et étude de ligands redox

pour le relargage de calcium contrôlé électrochimiquement

soutenue le 27 février 2012

devant le jury composé de :

Mme Kathleen Chane-Ching (DR CNRS)

Rapporteur

Mme Sabine Szunerits (PR Lille)

Rapporteur

M. Didier Devilliers (PR UMPC)

Examineur

Mme Clotilde Policar (PR ENS)

Examineur

M. Christian Amatore (DR CNRS)

Directeur de thèse

M. Bernd Schöllhorn (PR Paris Diderot)

Codirecteur de thèse

Remerciements

Tout d'abord, je remercie sincèrement Christian Amatore pour avoir accepté de m'accueillir dans son laboratoire, pour son soutien tout au long de cette thèse, et pour nos discussions pas toujours scientifiques mais très souvent pimentées d'anecdotes.

Je remercie également « Herr Professor Doktor » Bernd Schöllhorn pour son aide active lors de la recherche de financement et pour avoir dirigé cette thèse avec bonne humeur et enthousiasme.

Je tiens beaucoup à remercier tous ceux qui ont contribué à ce travail :

- Emmanuel Maisonhaute pour ses explications et son aide précieuse en électrochimie
- Leïla Boubekeur-Lecaque pour ses conseils judicieux en synthèse et sa contribution très importante à la recherche bibliographique
- Grégory March pour tout le travail accompli ensemble, mais aussi pour nos longues discussions parfois scientifiques, parfois non, mais toujours passionnantes, et pour son soutien dans les moments difficiles.

Mes remerciements vont aussi à Kathleen Moineau Chane-Ching et Sabine Szunerits qui ont accepté la lourde tâche de rapporteur, ainsi qu'à Didier Devilliers qui a bien voulu être l'indispensable représentant de l'UPMC dans ce jury, et à Clotilde Policar qui a accepté d'examiner mon travail.

Ce travail n'aurait pu être effectué sans financement : je suis donc très reconnaissante à Ludovic Jullien et Jean-Bernard Baudin d'avoir bien voulu me recruter comme agrégée préparatrice au département de chimie de l'ENS.

Cette thèse n'aurait pas eu la même saveur si je n'avais pas été entourée de collègues exceptionnels : un énorme merci aux permanents de l'équipe, en particulier à « son Eminence » Eric Labbé et Olivier Buriez, grands chefs du R4, et un immense merci aux doctorants, post-doctorants et stagiaires pour tout ce que nous avons partagé. J'ai une pensée particulière pour les stagiaires que j'ai encadrés ou avec qui j'ai travaillé : Nadra, François, Yves et Filippo.

Un grand merci également à l'ensemble de mes collègues enseignants, grâce auxquels la charge d'enseignement a été un plaisir.

Toute ma gratitude va à Jacques Leroy, « SLF » comme il le dit lui-même, qui a égayé mes fins d'après-midi, mais qui a aussi su donner d'excellents conseils pour résoudre certains problèmes de synthèse, et qui a été relecteur très attentif de ce manuscrit.

Enfin, je remercie très chaleureusement mes amis, en particulier Corinne qui a su me faire accepter mes limites et me redonner confiance en mes moyens dans une période difficile, et qui a continué et continue à me soutenir, ma famille pour m'avoir supporté pendant ces trop longues années, et mon mari, Geoffroy, qui a été et est toujours le meilleur de mes soutiens et source infinie de réconfort et d'amour malgré les aléas de la vie.

Table des matières

Abréviations	9
Principaux ligands obtenus.....	11
Introduction générale	13
Chapitre I : Etat de l'art ; conception des molécules-cibles.....	15
I) Relargage de cations par induction photochimique	15
II) Capture et relargage de cations par induction électrochimique	17
1) Principe et définitions	17
2) Historique	19
3) Conclusion.....	26
III) Conception des molécules-cibles	27
1) Choix du ligand	27
2) Choix du centre redox.....	29
3) Choix de l'espaceur	30
4) Choix de la fonction d'ancrage	31
5) Elaboration de stratégies de synthèse.....	33
Conclusion	35
Chapitre II : Elaboration de ligands fondés sur les dérivés de l'aza- éther-couronne N-15-C-5.	37
I) Synthèse	37
1) Préparation du composé 01.....	37
2) Synthèse de composés dérivés de 01	39
II) Etudes électrochimiques	40
1) En milieu organique (acétonitrile).....	40
2) En milieu aqueux.....	46
Conclusion	47
Chapitre III : Dérivés de l'imino-di-acétate	49
I) Synthèse	49
1) Préparation du composé 06.....	49
2) Préparation d'autres dérivés.....	50
II) Etudes	51
1) En milieu organique.....	51

2) En milieu aqueux.....	54
Conclusion	59
Chapitre IV : dérivés de type « demi-BAPTA ».....	61
I) Synthèse	62
1) Elaboration de la stratégie de synthèse	62
2) Synthèse du précurseur nitré 12	63
3) Synthèse de dérivés de type « demi-BAPTA ».....	64
II) Etudes en solution	67
1) Caractérisation du système : étude sans cations	67
2) Etudes en milieu aqueux en présence de cations	77
3) Etudes en présence d'un ligand compétiteur : l'EGTA.....	88
III) Vers un système en phase adsorbée	103
1) Préparation d'un thiol portant un azoture et fonctionnalisation d'électrode	103
2) Milieu organique : validation.....	104
3) Milieu aqueux : perspectives	105
Conclusion	106
Chapitre V : Dérivés de BAPTA	109
I) Synthèse	109
1) Etude bibliographique	109
2) Elaboration de stratégies de synthèse.....	110
3) Synthèse de dérivés	111
II) Premières études en solution.....	116
1) Spectrophotométrie UV-visible.....	116
2) Electrochimie.....	118
Conclusion et perspectives	124
Conclusion générale et perspectives	127
Annexe 1 : Synthèse et étude de fils moléculaires par voltammétrie cyclique ultrarapide et STM-BJ.....	131
I) Principe des méthodes d'études.....	131
1) Voltammétrie cyclique ultrarapide	131
2) STM-BJ.....	132
II) Synthèse de fils moléculaires basés sur une phénylènediamine.....	133
1) Conception du système	133

2) Synthèse.....	134
III) Résultats	135
Annexe 2 : Partie expérimentale	145
I) Généralités.....	145
1) Synthèse.....	145
2) Etudes.....	145
II) Synthèse.....	146
1) Préparation de dérivés de l'aza-éther-couronne <i>N-15-C-5</i>	146
2) Préparation de dérivés de l'IDA	153
3) Préparation de dérivés de type « demi-BAPTA »	163
4) Préparation de dérivés de BAPTA	176
5) Préparation des molécules-modèles.....	192
6) Préparation d'auxiliaires pour le greffage sur électrode.....	196
7) Préparation d'un composé utilisé comme fil moléculaire.....	202
III) Méthodes de traitement employées en spectrophotométrie UV-visible ...	206
1) Méthode de Benesi-Hildebrand	206
2) Méthode de Hill	207
Références bibliographiques.....	209

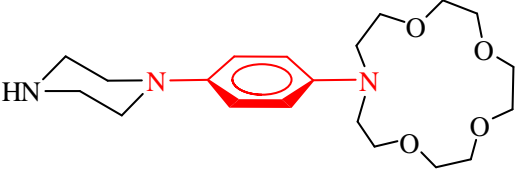
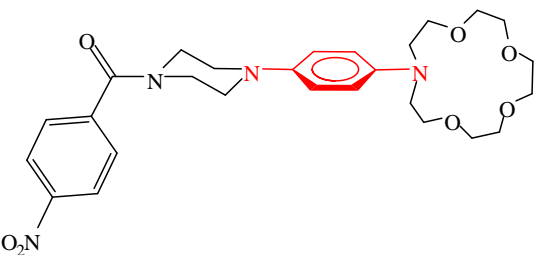
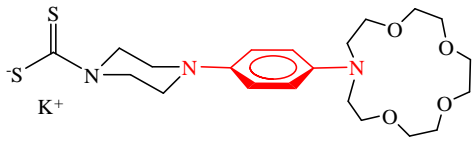
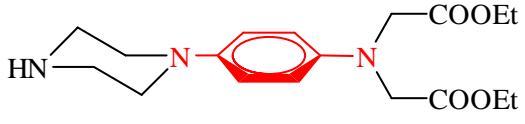
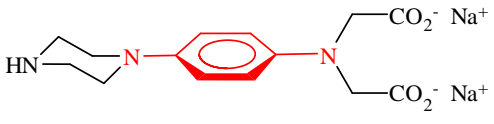
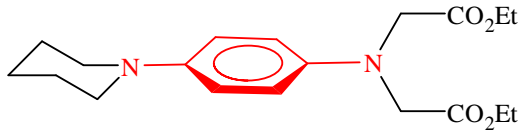
Abréviations

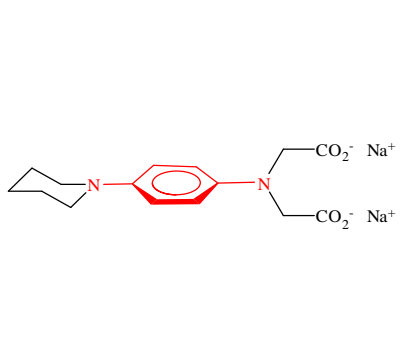
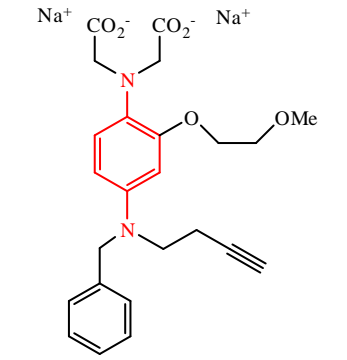
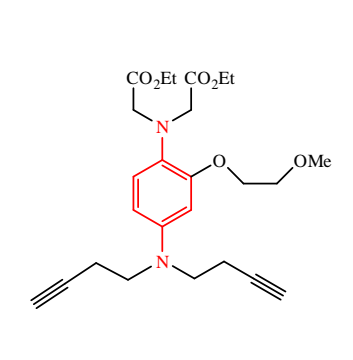
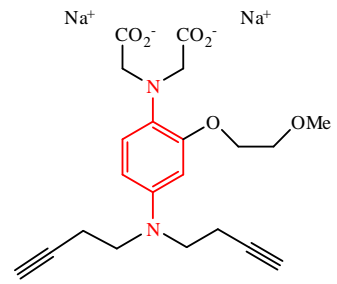
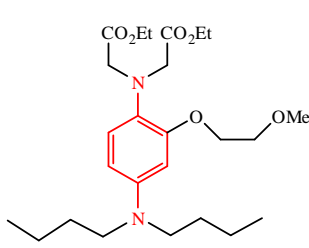
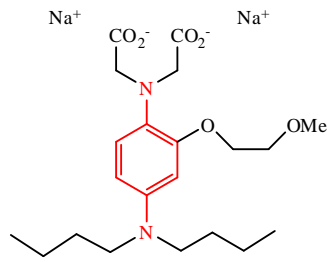
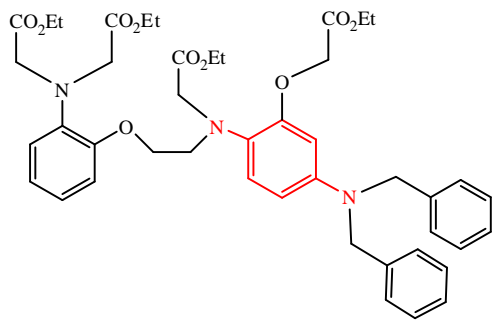
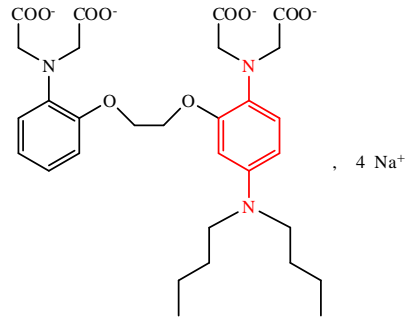
ACN	acétonitrile
AcOH	acide éthanoïque
APTRA	aminophénoxy- <i>N,N,O</i> -triacétate
ATR	attenuated total reflectance
BAPTA	1,2-bis(<i>ortho</i> -aminophénoxy)éthane- <i>N,N,N',N'</i> -tétraacétate
CCM	chromatographie sur couche mince
CE	contre-électrode
CI	ionisation chimique
DMAP	<i>para</i> -diméthylaminopyridine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
ECS (anglais : SCE)	électrode au calomel saturé (anglais : saturated calomel electrode)
EDTA	éthylènediaminetétraacétate
EGTA	éthylèneglycolbis(β -aminoéthyléther)- <i>N,N,N',N'</i> -tétraacétate
EI	impact électronique
EtOH	éthanol
FAB	fast atom bombardment
GC	carbone vitreux
GCCI	chromatographie en phase gaz couplée à une ionisation chimique
IDA	iminodiacétate
IR	infrarouge
MeOH	méthanol
MOPS	acide 3-(<i>N</i> -morpholino)propanesulfonique
MS	spectrométrie de masse
MsCl	chlorure de mésyle
Ref	électrode de référence

Abréviations

RMN	spectrométrie de résonance magnétique nucléaire
SAM	monocouche auto-assemblée (anglais : self assembled monolayer)
STM	microscopie à effet tunnel
STM-BJ	scanning tunneling microscopy – break junction
TBTA	tris-[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amine
THF	tétrahydrofurane
TMPD	tétraméthylphénylènediamine
TRIS	trishydroxyméthylaminométhane (2-amino-2-hydroxyméthylpropane-1,3-diol)
TTF	tétrathiafulvalène
UV	ultraviolet
WE	électrode de travail

Principaux ligands obtenus

 <p style="text-align: center;">01</p> <p>13-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)-1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane</p>	 <p style="text-align: center;">03</p> <p>(4-(4-(1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane-13-yl)phényl)pipérazin-1-yl)(4-nitrophényl)méthanone</p>
 <p style="text-align: center;">04</p> <p>4-(4-(1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane-13-yl)phényl)pipérazine-1-carbodithioate de potassium</p>	 <p style="text-align: center;">06</p> <p>2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)azanediyl)diacétate de diéthyle</p>
 <p style="text-align: center;">07</p> <p>2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)azanediyl)diacétate de sodium</p>	 <p style="text-align: center;">09</p> <p>2,2'-(4-(pipéridin-1-yl)phényl)azanediyl)diacétate de diéthyle</p>

 <p style="text-align: center;">10</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(4-(pipéridin-1-yl) phényl)azanediyldiacétate de sodium</p>	 <p style="text-align: center;">22</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(4-(benzyl(but-3-ynyl) amino)-2-(2-méthoxyéthoxy) phényl)azanediyldiacétate de sodium</p>	 <p style="text-align: center;">24</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(4-(dibut-3-ynylamino)-2- (2-méthoxyéthoxy) phényl)azanediyldiacétate de diéthyle</p>
 <p style="text-align: center;">25</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(4-(dibut-3-ynylamino)-2-(2- méthoxyéthoxy) phényl)azanediyldiacétate de sodium</p>	 <p style="text-align: center;">26</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2- méthoxyéthoxy) phényl)azanediyldiacétate de diéthyle</p>	 <p style="text-align: center;">27</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2- méthoxyéthoxy) phényl)azanediyldiacétate de sodium</p>
 <p style="text-align: center;">40</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(2-(2-((4-(1,3-diphénylpropan-2-yl)-2-(2- éthoxy-2-oxoéthoxy)phényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl) amino)éthoxy)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle</p>		 <p style="text-align: center;">43</p> <p style="text-align: center;">2,2'-(2-(2-(2-(bis(carboxylatométhyl) amino)- 5-(dibutylamino)phénoxy) éthoxy) phényl)azanediyldiacétate de sodium</p>

Introduction générale

Les cellules des organismes vivants utilisent une grande variété de messagers chimiques pour échanger des informations, ou pour activer ou désactiver une fonction biologique. Ces processus sont régulés par des variations de concentration de ces messagers chimiques. Ces derniers peuvent être des molécules organiques plus ou moins complexes, mais aussi des cations métalliques. Les cations métalliques sont les plus simples des messagers chimiques, et sont impliqués dans le contrôle de nombreux processus biologiques. ¹ Parmi ces cations chargés de transmettre une information, le cation calcium Ca^{2+} est le plus important. ²

En effet, le cation calcium est à lui seul impliqué dans une grande variété de processus biologiques. L'importance du rôle du calcium dans les cellules a été pour la première fois mise en évidence à la fin du dix-neuvième siècle par Ringer, ³⁻⁵ et a été confirmée par de nouvelles expériences entre 1940 et 1970. Il est maintenant prouvé que des variations de concentration intracellulaire en calcium sont impliquées dans le contrôle d'un large éventail de cellules ou de fonctions cellulaires, comme la contraction musculaire, la sécrétion de neurotransmetteurs ou d'hormones, la transcription génétique, la mobilité cellulaire (non-musculaire), la mort cellulaire, l'activation de chaînes ioniques, l'activité d'enzymes comme des kinases ou des phosphatases, et bien d'autres encore. ⁶⁻¹⁰ Le plus souvent, ce n'est pas le cation Ca^{2+} libre qui est impliqué dans ces processus, mais des complexes de calcium. Quelques-uns de ces processus sont détaillés ci-dessous.

Le calcium joue plusieurs rôles au niveau des terminaisons nerveuses. ⁶⁻¹⁰ La transmission de l'information dans une synapse rapide du système nerveux central est achevée en moins de 10 millisecondes. L'arrivée des potentiels d'action stimule l'entrée de Ca^{2+} dans les chaînes présynaptiques, phénomène très rapide (inférieur à la centaine de microsecondes) et très localisé puisque limité au volume adjacent à la membrane plasmique. Cette augmentation brutale et locale de la concentration en calcium provoque la fusion des vésicules synaptiques, contenant les neurotransmetteurs, se trouvant à proximité avec la membrane plasmique, et donc la libération des neurotransmetteurs dans l'espace synaptique. En outre, le calcium a également de nombreuses fonctions postsynaptiques. Entre autres, des modifications locales de concentration en calcium, qui peuvent durer quelques dizaines à quelques centaines de millisecondes, engendrent des modifications de la synapse.

De nombreuses autres cellules utilisent le calcium comme déclencheur de la sécrétion de substances importantes, comme des hormones. ⁶⁻¹⁰ L'émission d'insuline par les cellules du pancréas en est un exemple.

Le calcium est également impliqué dans des processus de mouvement. ⁶⁻¹⁰ La contraction musculaire est en effet contrôlée par des fluctuations de la concentration en calcium intracellulaire. Mais le calcium est également utilisé par certaines cellules pour se déplacer. Par exemple, les globules blancs se déplacent grâce à un système moléculaire régulé par Ca^{2+} . Des gradients de concentration en calcium permettent aussi de diriger les cônes de croissance des axones et dendrites en développement vers leurs cibles.

Pour l'ensemble de ces processus, la cellule doit réguler sa concentration en calcium en s'approvisionnant ou en relargant dans le milieu extracellulaire. ⁶⁻¹⁰ Ceci se fait grâce à divers modes de transport, comme les canaux ioniques, dont certains sont sensibles à la pression osmotique. Il est

donc possible d'induire une modification de la concentration intracellulaire en calcium en modifiant la concentration extracellulaire en calcium au voisinage immédiat de la cellule. Par ailleurs, il est très intéressant d'observer comment une cellule réagit à une perturbation extérieure, telle qu'une variation brutale de la concentration en calcium. Ces raisons nous ont amenés à étudier le relargage de calcium.

Il est à noter que la concentration intracellulaire en calcium est d'environ 100 nmol.L^{-1} , alors que celle en magnésium est d'environ 1 mmol.L^{-1} , celle en potassium d'environ 120 mmol.L^{-1} et celle en sodium d'environ 13 mmol.L^{-1} . L'étude du relargage de calcium demande donc la préparation de ligands sélectifs pour le calcium en présence des autres cations compétiteurs.

Il existe déjà de nombreux systèmes permettant de modifier la concentration en calcium du milieu extra- ou intracellulaire. Ces systèmes sont à commande photochimique ou fluorescente, ce qui limite les études aux milieux transparents, soit des cellules uniques ou des organismes simples et de très petite taille. Pour essayer de pallier ce problème, nous souhaitons développer des systèmes à commande électrochimique, activables par modification du potentiel d'une électrode située à proximité du système étudié. Une fois ces systèmes obtenus, il est envisageable de les greffer à la surface de l'électrode, et de réduire ainsi très fortement la contamination du milieu. En particulier, une ultramicroélectrode modifiée par ce type de système serait un outil très puissant pour des études *in vivo*. Il existe déjà quelques exemples de systèmes de relargage du calcium à commande électrochimique, mais uniquement en milieu organique : ce phénomène n'a donc jamais été mis en évidence en milieu aqueux. Le premier chapitre, après une étude bibliographique illustrant les principaux systèmes de détection et relargage du calcium, à commande photochimique ou électrochimique, présente la conception des molécules-cibles. Les quatre chapitres suivants présentent chacun une famille de molécules-cibles, tout d'abord la synthèse des dérivés, puis les résultats obtenus lors d'études en milieu organique ou en milieu aqueux tamponné ou non, et les limites du système, justifiant et orientant la préparation des dérivés suivants. Enfin nous concluons et ouvrons des perspectives d'études et d'applications.

Chapitre I : Etat de l’art ; conception des molécules-cibles

Les concepts de la chimie supramoléculaire ont permis le développement de nombreux capteurs de plus en plus sélectifs et sensibles.¹¹⁻¹³ Un capteur est l’association d’une partie « hôte », permettant la reconnaissance sélective d’un « invité », couplée à un système « d’alarme » (transducteur), possédant une propriété physico-chimique facilement mesurable et affectée par la présence d’un « invité » dans la partie « hôte ». Dans le cas de la détection de cations métalliques, l’« hôte » est un ligand sélectif, et le système « d’alarme » peut être par exemple une chaîne fluorescente,^{14, 15} ou un groupe redox. Dans le cas d’un composé fluorescent, la complexation d’un « invité » provoque une modification de la répartition de la densité électronique, modifiant les propriétés de fluorescence de l’« hôte ». Dans le cas d’un composé à commande redox, la présence d’un « invité » modifie le potentiel redox de l’« hôte », rendant possible la détection. Mais, dans le cas de capteurs redox, l’activation de la commande externe permet d’induire une modification de la densité électronique, modifiant ainsi l’affinité de l’« hôte » pour l’« invité ». Cette modification d’affinité devrait permettre de contrôler la capture ou le relargage de l’« invité ». Ce type de processus a été mis en évidence avec des composés redox photoactivables dès les années 1980, puis plus tardivement avec des composés à commande électrochimique.

I) Relargage de cations par induction photochimique

Les premiers systèmes permettant le relargage de cations sont des systèmes activés par photochimie. On se limitera ici à quelques exemples illustrant le relargage de calcium.

Les premiers systèmes étudiés sont des composés ayant une partie ligand portant un substituant photoconvertible. Le premier dérivé de ce type a été préparé et étudié par Tsien *et al.* en 1986 :¹⁶ il s’agit d’un tétraanion 1,2-bis(*ortho*-aminophénoxy)éthane-*N,N,N',N'*-tétraacétate, appelé BAPTA, substitué par un groupe électrodonneur. Après optimisation par modification du groupe électrodonneur, en 1988, Tsien et son équipe ont proposé un composé de structure similaire,¹⁷ présenté en figure I-01. Ce groupe, enrichissant le ligand en densité électronique, rend la complexation du calcium très favorable. Par irradiation, le groupe substituant est converti en groupe électroattracteur par transfert intramoléculaire d’un atome d’oxygène suivi d’une déshydratation, ce qui appauvrit le ligand en densité électronique. Ceci se traduit par une diminution de la constante d’affinité du ligand pour le calcium (d’un facteur environ 50), donc par le relargage partiel du calcium dans le milieu.

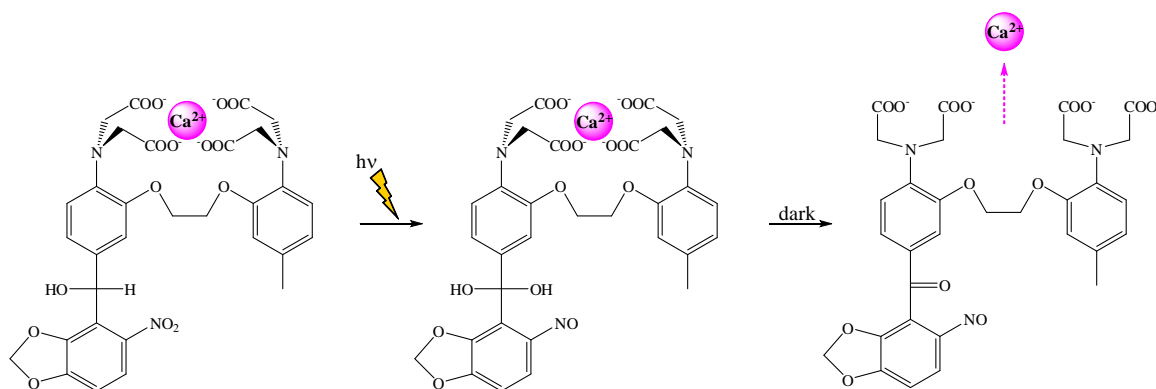


Figure I-01 : système pour le relargage de cations induit par photoconversion, proposé par Tsien et al.

Il est à noter que le remplacement du groupe électrodonneur substituant le ligand BAPTA par un groupe électroattracteur également photosensible permet l’obtention d’espèces piégeant le calcium après photoactivation. Un exemple d’un composé ayant ce type de propriété, préparé par Tsien *et al.* en 1989¹⁸ est présenté en figure I-02. Le groupe substituant électroattracteur appauvrit le ligand BAPTA en densité électronique, défavorisant la complexation du calcium. Lors de l’irradiation, ce groupe est converti en un groupe électrodonneur par photolyse avec départ de diazote suivie d’une hydratation, enrichissant le ligand en densité électronique. Ceci se traduit par une augmentation de la constante d’affinité du ligand pour le calcium (d’un facteur environ 30), donc par la capture du calcium libre dans le milieu.

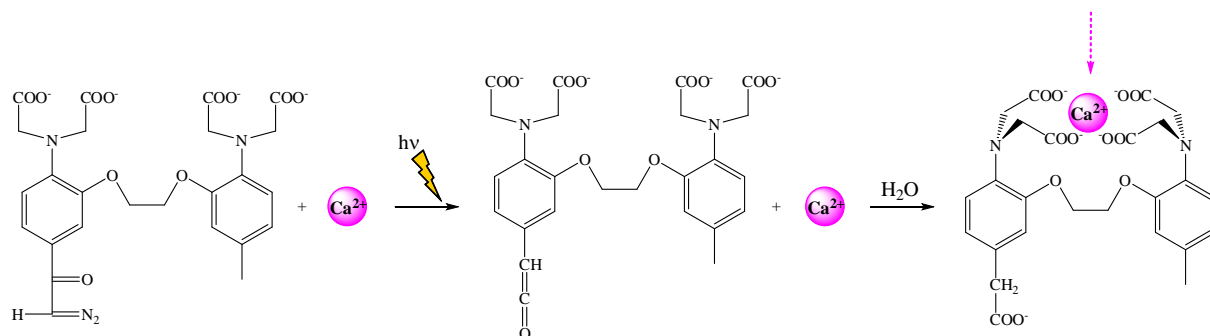


Figure I-02 : système pour la capture de calcium photoinduite, proposé par Tsien *et al.*

Ces systèmes ont l’avantage d’être solubles dans l’eau et non-toxiques, donc potentiellement biocompatibles. Cependant, même si la variation d’affinité du ligand pour le calcium est significative, elle n’est pas assez importante : une grande partie du calcium reste donc complexée après irradiation ou est déjà complexée avant irradiation. De plus, la photoconversion de ces systèmes, donc le relargage ou la capture de cation, est irréversible.

Pour résoudre le premier problème soulevé, à savoir la décomplexation incomplète du calcium, il a été proposé de nombreux composés pour lesquels, lors de l’irradiation, le ligand chélate est rompu par photolyse. L’un des exemples les plus récents a été proposé en 2006 par Ellis-Davies *et al.* (*cf.* figure I-03).¹⁹

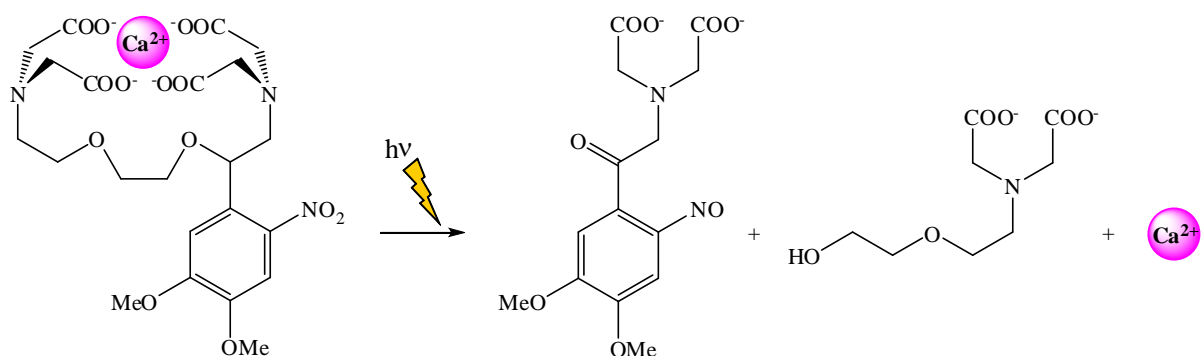


Figure I-03 : système pour le relargage de cations induit par photolyse, proposé par Ellis-Davies *et al.*

Ce composé présente un coefficient d’absorbance molaire important pour une longueur d’onde de 350 nm, ce qui permet d’obtenir un relargage de calcium quasi-quantitatif pour une irradiation relativement faible par rapport aux dérivés obtenus précédemment. Ce dérivé est donc un système de choix pour les études *in vivo* puisque le fait d’abaisser la quantité d’énergie nécessaire au relargage permet de minimiser l’endommagement de tissus vivants par la lumière. Cependant, ce système n’est pas non plus réversible.

Pour obtenir des systèmes réversibles, il est nécessaire de préparer des composés photoactivables sans rupture de liaisons chimiques, soit des systèmes activables par transfert de charge photoinduit. C’est le cas du dérivé d’aza-éther-couronne préparé par Martin *et al.*,²⁰ présenté en figure I-04. Lors de l’irradiation, ce composé passe à un état excité pour lequel la répartition des électrons est modifiée de telle sorte qu’une charge partielle positive apparaît sur l’azote de l’aza-éther-couronne. Par répulsion électrostatique, le calcium est alors éjecté hors de la cavité du ligand. Néanmoins, la durée de vie de l’état excité étant très courte, lorsque le système revient à l’état fondamental, le cation est toujours au voisinage du ligand et est donc immédiatement recomplexé.

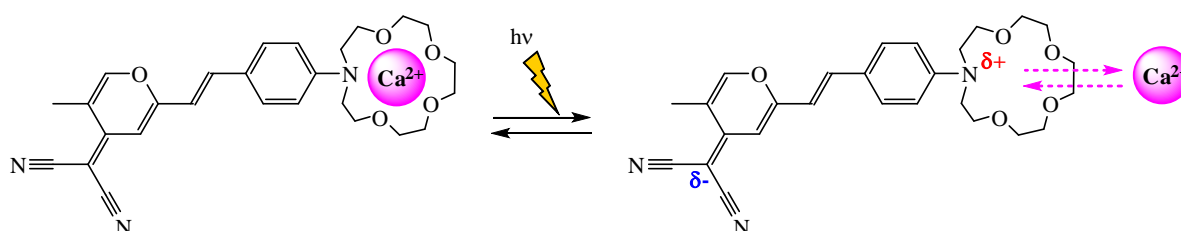


Figure I-04 : système pour le relargage de cations induit par photoactivation, proposé par Martin et al.

Il serait envisageable de maintenir le système à l’état excité en utilisant une irradiation continue, mais les dommages cellulaires seraient considérables, rendant toute utilisation *in vivo* de ce système impossible.

De plus, l’emploi de systèmes photo-activables limite leur champ d’application à des milieux transparents aux longueurs d’onde d’excitation. Ils sont donc utilisables pour des études sur cellule unique, mais il est difficile de mener des études sur des organismes vivants complexes avec ces dérivés. L’électrochimie permet, grâce à l’utilisation d’ultramicroélectrodes, d’appliquer un potentiel choisi avec un excellent contrôle spatiotemporel, que ce soit en solution, au voisinage d’une cellule unique, ou au sein d’un organisme vivant plus complexe.

II) Capture et relargage de cations par induction électrochimique

1) Principe et définitions

Le principe d’un capteur de cations avec commande redox est présenté en figure I-05.

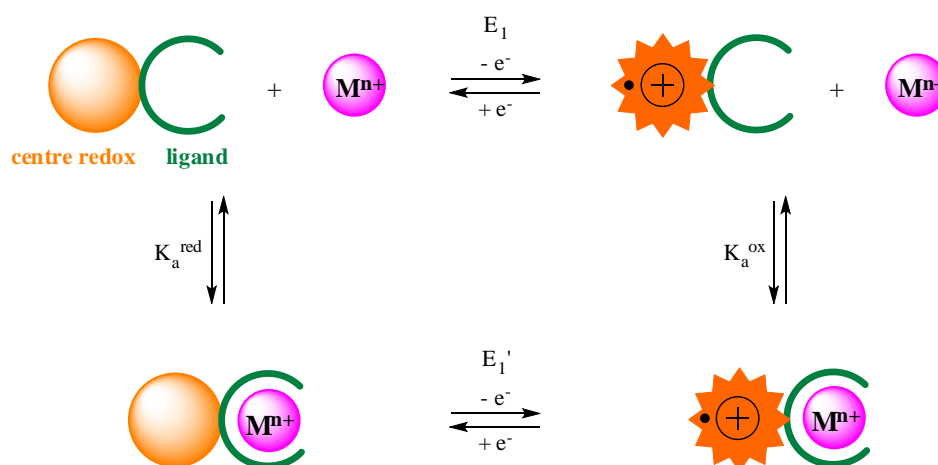


Figure I-05 : principe d’un capteur de cations à commande redox.

On peut alors définir deux constantes d’association (ou de dissociation), l’une caractérisant l’affinité du ligand réduit pour un cation donné, notée K_a^{red} (ou K_d^{red}), l’autre caractérisant l’affinité du ligand oxydé pour ce cation, notée K_a^{ox} (ou K_d^{ox}). Dans les conditions de nos études, l’activité d’un composé en solution peut être assimilée à sa concentration. Soient $[M^{n+}]$ la concentration en cation métallique, $[L_{\text{red}}]$ la concentration en ligand réduit, $[L_{\text{red}}M]$ la concentration en complexe ligand réduit-cation, $[L_{\text{ox}}]$ la concentration en ligand oxydé et $[L_{\text{ox}}M]$ la concentration en complexe ligand oxydé-cation. Les deux constantes d’association s’écrivent alors :

$$K_a^{\text{red}} = \frac{1}{K_d^{\text{red}}} = \frac{[L_{\text{red}}M]}{[L_{\text{red}}][M^{n+}]}$$

$$K_a^{\text{ox}} = \frac{1}{K_d^{\text{ox}}} = \frac{[L_{\text{ox}}M]}{[L_{\text{ox}}][M^{n+}]}$$

On peut également définir pour le ligand libre le potentiel standard du couple redox E_1^0 , le potentiel de vague anodique E_1^a correspondant au potentiel maximum atteint lors de l’oxydation du ligand, le potentiel de vague cathodique E_1^c correspondant au potentiel minimum atteint lors de la réduction du ligand, ainsi que le potentiel de demi-vague associé $E_1^{1/2}$ défini par :

$$E_1^{1/2} = \frac{E_1^a + E_1^c}{2}$$

On peut définir les mêmes grandeurs pour le ligand complexé, qui seront notées respectivement $E_1^{0'}$, $E_1^{a'}$, $E_1^{c'}$ et $E_1^{1/2'}$. Dans le cas d’un ligand pouvant subir plusieurs oxydations successives, les potentiels associés au nième couple redox seront notés E_n . D’après la loi de Nernst, le potentiel E en un point donné s’écrit :

$$E = E_1^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[L_{\text{ox}}]}{[L_{\text{red}}]} = E_1^{0'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[L_{\text{ox}}M]}{[L_{\text{red}}M]}$$

où les concentrations sont celles prévalant à cet endroit, et avec R la constante des gaz parfaits, T la température exprimée en kelvin, n le nombre d’électrons échangés et F la constante de Faraday.

On en déduit :

$$E_1^{0'} - E_1^0 = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[L_{\text{ox}}][L_{\text{red}}M]}{[L_{\text{red}}][L_{\text{ox}}M]}$$

Dans la plupart des cas, les coefficients de diffusion des deux espèces du couple redox étant voisins, l’écart entre le potentiel standard et le potentiel de demi-vague d’un couple redox est alors très faible (de l’ordre de quelques microvolts, soit inférieur à l’erreur expérimentale), et on peut donc considérer que ces deux potentiels sont égaux. On obtient alors :

$$E_1^{1/2'} - E_1^{1/2} = \frac{RT}{nF} \ln \frac{K_a^{\text{red}}}{K_a^{\text{ox}}}$$

La différence entre les potentiels de demi-vague du ligand libre et du complexe reflète donc la modification de la constante d’affinité du ligand lors du changement de degré d’oxydation.

Néanmoins, expérimentalement il a été constaté deux comportements limites : le premier est le comportement attendu, disparition du signal correspondant au ligand libre et apparition concomitante

du signal correspondant à l’espèce complexée. Le second se caractérise par un déplacement progressif du signal au fur et à mesure que la concentration en cation augmente, d’une position initiale correspondant au ligand libre, à une position finale caractérisant le complexe. Gokel, Echegoyen, Kaifer *et al.* ont proposé en 1988 une rationalisation de ces comportements grâce à des techniques de simulation.²¹ Ils ont alors montré que pour observer deux vagues distinctes, il est nécessaire d’avoir un système à l’état réduit ayant une constante d’affinité K_a^{red} suffisamment élevée (de l’ordre de 10^4), ainsi qu’une modification de l’affinité du ligand importante lors du changement de degré d’oxydation du ligand (rapport entre les constantes d’affinité supérieur à 1 000). A l’inverse, si K_a^{red} est faible (inférieure à 1), le système présentera un comportement de type déplacement de vague. Pour les valeurs intermédiaires de K_a^{red} , l’un ou l’autre de ces deux comportements limites peut être observé, selon le composé étudié et son environnement.

2) Historique

Les premiers ligands fonctionnalisés avec un centre redox ont été des macrocycles de type éther-couronne. Ces ligands ont été très largement étudiés, couplés à différents centres redox. Quelques exemples de ligands combinés avec les centres redox les plus fréquemment utilisés sont présentés ici.

a) Premiers exemples : thiols et disulfures²²

Le premier exemple connu de capteur de cation aux propriétés modulables par oxydoréduction a été publié en 1982 par Shinkai *et al.* :²³ il s’agit d’un éther-couronne portant une fonction thiol. Par oxydation du thiol en disulfure, le dimère a pu être également isolé (*cf.* figure I-06).

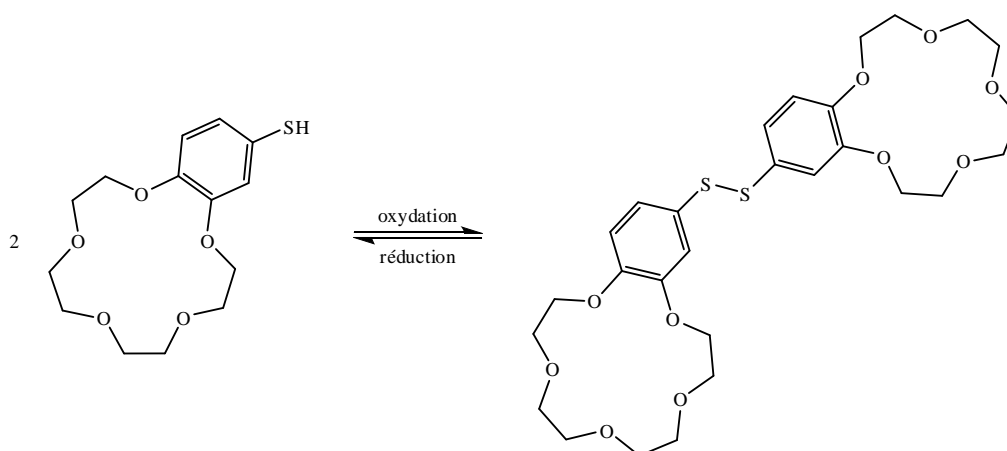


Figure I-06 : capteur de cation à propriétés modulables par oxydoréduction, proposé par Shinkai *et al.*

Le dimère présente des propriétés de ligand pour les alcalins très proches de celles de l’éther-couronne 15-C-5, ce qui exclut un mécanisme coopératif entre les deux macrocycles, tandis que le monomère est un meilleur ligand. Le gain d’affinité pour les cations alcalins est cependant très modéré.

b) Nitrobenzène^{22, 24}

Les groupes d’Echegoyen et Gokel ont été les premiers à étudier et mettre en évidence l’intérêt des réactions à l’électrode pour moduler fortement l’affinité pour des cations de ligands macrocycliques réductibles. Leur premier système, publié en 1983, est un éther-couronne 15-C-5 portant une chaîne nitrobenzène (*cf.* figure I-07), qui a été étudié par voltammétrie cyclique^{25, 26}.

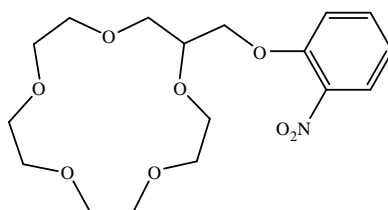


Figure I-07 : Composé préparé par les groupes d'Echegoyen et Gokel en 1983

En solution dans l’acétonitrile, ce composé est réduit réversiblement en radical-anion, avec une valeur de potentiel de demi-vague de -1,28 V/ECS. En présence de cation sodium, une nouvelle vague de réduction réversible apparaît, avec une valeur de potentiel de demi-vague de -1,11 V/ECS, soit une modification du potentiel de demi-vague de 0,17 V/ECS. Lorsqu’un équivalent de Na⁺ a été introduit, seule cette nouvelle vague est observée, ce qui montre que le ligand a une très forte affinité pour le cation sodium. La présence d’un cation dans l’éther-couronne rend plus favorable la formation d’une charge négative à proximité : la réduction de l’extrémité nitrobenzène est donc facilitée. En contrepartie, la présence d’une charge négative au voisinage du ligand contribue à stabiliser un cation dans la sphère de coordination du ligand : les auteurs ont pu montrer que le radical-anion présente une affinité pour Na⁺ 750 fois plus grande que celle de l’espèce neutre pourtant déjà élevée. De nombreux autres composés couplant un ligand macrocyclique à un nitrobenzène ont été préparés par ces deux groupes de recherche, et étudiés comme ligands pour les alcalins.^{27, 28} En particulier, un gain en flexibilité, donc en efficacité, a été obtenu en utilisant un aza-éther-couronne, et en greffant la chaîne latérale réductible sur l’azote du cycle.²⁹ En revanche, il a été mis en évidence que la réduction du ligand provoque la perte de la sélectivité observée avec le ligand neutre : ceci montre que les facteurs électrostatiques jouent un rôle majeur dans la stabilisation des complexes avec la forme réduite du ligand considéré.³⁰ Pour cette raison, l’utilisation du nitrobenzène comme centre redox dans ce type d’espèces a été rapidement abandonnée.

c) Quinones et dérivés^{22, 24}

Dès 1981, des dérivés couplant un macrocyle de type éther-couronne à une quinone ont été préparés par Sugihara *et al.*³¹ Pour l’un d’entre eux, présenté en figure I-08, il a été montré que l’espèce hydroquinone présente une affinité pour K⁺ supérieure à la forme quinone, laissant penser que l’un des oxygènes de l’hydroquinone serait impliqué dans la coordination du potassium, alors que ce ne serait pas le cas pour les oxygènes de la quinone.

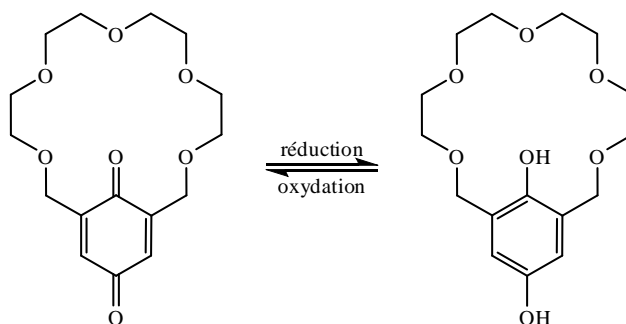


Figure I-08 : composé couplant un macrocyle à une quinone, préparé par Sugihara et al.

Cependant, ce composé n’avait pas été étudié par voltammétrie cyclique par ce groupe japonais. En 1984, le groupe de Cooper a préparé et étudié un composé très similaire à celui présenté en figure I-08 : la seule modification est la présence de deux groupes méthyles sur les deux positions vacantes du cycle aromatique.³² Ce groupe de recherche a mis en évidence l’apparition d’une nouvelle vague de

réduction de la quinone en radical anion semiquinone à un potentiel plus élevé en présence de cations alcalins. La différence de potentiel entre la vague de réduction de l’espèce libre et celle du complexe étant dépendant de la nature du cation (50 mV pour Li^+ , 120 mV pour Na^+ , 130 mV pour K^+), la sélectivité pour certains cations est conservée : plus le cation est lié fortement, plus l’apparition d’une charge négative, donc la réduction de la quinone, est favorisée. En effet le système présenté ici a une taille proche de l’éther-couronne 18-C-6, sélectif pour le potassium. Des études complémentaires, en particulier l’obtention de structures cristallographiques, ont permis de montrer que l’un des oxygènes du centre redox est impliqué dans la chélation du métal, indépendamment du degré d’oxydation de la quinone. Cependant, l’interaction métal-semiquinone est, grâce aux interactions électrostatiques, plus importante que l’interaction métal-quinone, d’où une meilleure affinité pour les cations alcalins de la forme réduite semiquinone.³³

Les groupes de Gokel et d’Echegoyen ont très largement contribué au développement de ligands couplés à des dérivés de quinones. Entres autres, les deux composés présentés en figure I-09, dérivés de l’anthraquinone, ont été préparés et étudiés.³⁴

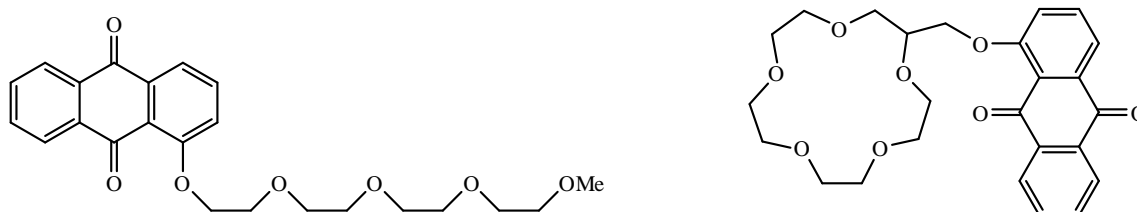


Figure I-09 : deux exemples de composés préparés et étudiés par les groupes de Gokel et Echegoyen

Le dérivé de gauche (figure I-09) est un ligand polyéther non cyclique : son affinité pour les cations alcalins est donc moindre que celle de l’éther-couronne correspondant. Mais le centre redox est directement lié au ligand : l’influence de la complexation sur l’allure des voltammogrammes est donc plus marquée que dans le cas du dérivé de droite. Ces deux dérivés présentent deux réductions monoélectroniques réversibles successives, permettant l’obtention des radicaux anions et des dianions correspondants. Il a donc été possible de déterminer les constantes d’affinités des formes neutre, radical anion et dianion pour différents cations alcalins : comme attendu, pour chacun de ces composés, la forme dianionique présente la meilleure affinité, tandis que la forme neutre est le moins bon ligand. La sélectivité pour certains alcalins est quant à elle assurée par la longueur des chaînes. Des chaînes courtes assurent une bonne sélectivité pour Li^+ , des chaînes moyennes (comme sur les exemples présentés ici) une bonne sélectivité pour Na^+ et K^+ . Il est à noter que les dérivés présentés ici ont été par la suite utilisés pour le transport de cations alcalins :³⁵ une phase aqueuse contenant un cation alcalin et une phase aqueuse pure sont séparées par une phase organique contenant le ligand. Dans la phase aqueuse contenant l’alcalin est appliqué un potentiel permettant la réduction du ligand, tandis que dans la phase aqueuse pure est appliqué un potentiel permettant l’oxydation du ligand. Au cours du temps, il a été observé un transfert des cations alcalins vers la phase aqueuse initialement pure. En effet, la réduction du ligand augmente son affinité pour les alcalins, favorisant la formation du complexe dans la phase aqueuse contenant les cations. Le complexe neutre et peu lipophile peut alors migrer à travers la phase organique jusqu’à la phase aqueuse initialement pure, où le ligand est réoxydé. Ceci s’accompagne d’une baisse d’affinité du ligand pour les cations alcalins, qui se traduit par une décomplexation partielle et une libération de cations dans le milieu. Ce transport de cations met donc en jeu un mécanisme de capture à la source, et un mécanisme de relargage à la fin. Mais ce dernier mécanisme n’a pas été clairement identifié ni étudié par les auteurs.

De nombreux autres ligands couplés à un centre redox de type quinone ont été préparés.³⁶ En particulier, des ligands de type calixarène dans lesquels un ou plusieurs noyaux aromatiques sont remplacés par des quinones ont été synthétisés et étudiés par le groupe d’Echegoyen.³⁷ Ces dérivés ont des propriétés similaires à celles des autres ligands couplés à une quinone, à savoir que l’affinité du ligand pour le cation augmente lors de la réduction du centre redox.

d) Ferrocène^{12, 22, 24}

Les premiers composés couplant un ferrocène à un ligand macrocyclique ont été préparés par Vögtle *et al.*³⁸ en 1979, puis par Hall *et al.*³⁹ en 1983. Mais ce n’est qu’en 1986, dans le groupe de Saji, qu’un composé de ce type a été étudié comme ligand dont l’affinité est modulable par oxydoréduction (cf. figure I-10).⁴⁰

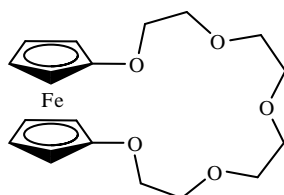


Figure I-10 : composé étudié par Saji comme ligand à affinité modulable par électrochimie

Le voltammogramme de ce composé seul en solution dans le dichlorométhane présente une vague d’oxydation monoélectronique réversible, correspondant à l’oxydation du ferrocène en ferricinium. En présence de différents cations alcalins, cette vague d’oxydation disparaît au profit d’une nouvelle vague d’oxydation monoélectronique réversible, avec un potentiel de demi-vague plus élevé (+ 170 mV en présence de Na⁺, + 110 mV en présence de Li⁺). Ces différences de potentiel d’oxydation entre le ligand libre et le complexe reflètent la diminution d’affinité du ligand lors de son oxydation. Dans le cas du sodium, l’affinité du ligand est abaissée d’un facteur environ 740 lors de l’oxydation du ferrocène. Dans le cas du lithium, ce facteur est d’environ 70. La même année, ce même groupe a appliqué ce système au transport de cations :⁴¹ grâce à un système similaire à celui utilisé par Echegoyen *et al* avec des dérivés de quinones, Saji *et al.* ont pu transférer des cations sodium d’une phase aqueuse saline vers une autre phase aqueuse sans sodium, à travers une phase organique contenant le ligand.

Les recherches sur les ligands macrocycliques couplés à un ferrocène se sont ensuite accélérées. Par exemple, le groupe de Hall⁴² a étudié un des composés préparés par Vögtle *et al.*, puis le groupe de Gokel⁴³ a fait de même sur un autre des composés préparés par Vögtle *et al.* (cf. figure I-11).

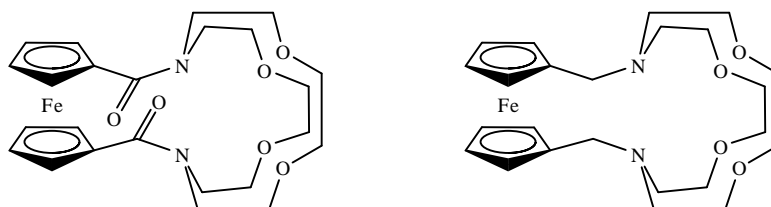


Figure I-11 : ligands préparés par Vögtle *et al.* et étudiés par Hall *et al.* (diamide) et Gokel *et al.* (diamine)

Les études du composé diamide par le groupe de Hall ont mis en évidence la détection par ce système de nombreux cations métalliques di- ou trivalents (Be²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺, Eu³⁺, Tb³⁺, Dy³⁺), avec apparition d’un nouveau couple redox avec un potentiel de demi-vague plus élevé lors de l’ajout de différents cations métalliques. Un résultat surprenant a été obtenu en présence de béryllium : lors de l’oxydation du ligand on observe l’apparition d’une nouvelle vague d’oxydation avec un potentiel

anodique plus élevé, mais lors de la réduction, on observe une vague cathodique au même potentiel que la vague cathodique du ligand seul. Les auteurs expliquent ce résultat par une décomplexation rapide du béryllium après l’oxydation du ligand, ce qui justifie qu’on observe ensuite la réduction du ligand libre si le béryllium est recomplexé lentement. Ce comportement particulier a permis de mettre en évidence un phénomène de relargage de cation sans mettre en œuvre de phénomène de transport d’une phase à une autre. Par ailleurs, Hall *et al.* ont montré que pour ce système, la constante d’affinité de la forme oxydée du ligand K_a^{ox} est directement corrélée à la densité de charge du cation considéré : plus le cation a une densité de charge élevée, plus cette constante d’affinité K_a^{ox} est faible, donc plus la dissociation du complexe lors de l’oxydation du ligand est probable. En effet, le cation Be^{2+} est celui ayant la plus forte densité de charge.

Les études du composé diamine par le groupe de Gokel en présence de Li^+ , Na^+ , K^+ et Ca^{2+} ont montré des résultats similaires à ceux obtenus par Hall *et al.* sur le composé diamide, avec toutefois des différences de potentiel de demi-vague entre ligand libre et ligand complexé supérieures à celles observées avec le système diamide pour le calcium. Ceci est attribué au fait que le ligand diamine possède plus de degrés de liberté conformationnelle, permettant ainsi une meilleure chélation du cation par la forme réduite du ligand : la diminution d’affinité du ligand lors de son oxydation est alors plus marquée, d’où une différence de potentiel de demi-vague plus importante.

Le groupe de Beer a également mené de nombreuses études sur les composés associant un ligand macrocyclique et un ferrocène^{12, 44}. L’un des apports majeurs de ce groupe de recherche concerne la communication entre le centre redox et le ligand. Pour les premiers systèmes dont une partie a été présentée ici, la communication entre le centre redox et le ligand se fait par des interactions électrostatiques à travers l’espace. Beer *et al.* ont alors proposé des systèmes possédant un lien conjugué entre le centre redox et le ligand, afin que la communication entre les deux se fasse à travers le système de liaisons π du composé. Les premiers exemples de tels composés sont présentés en figure I-12.^{45, 46}

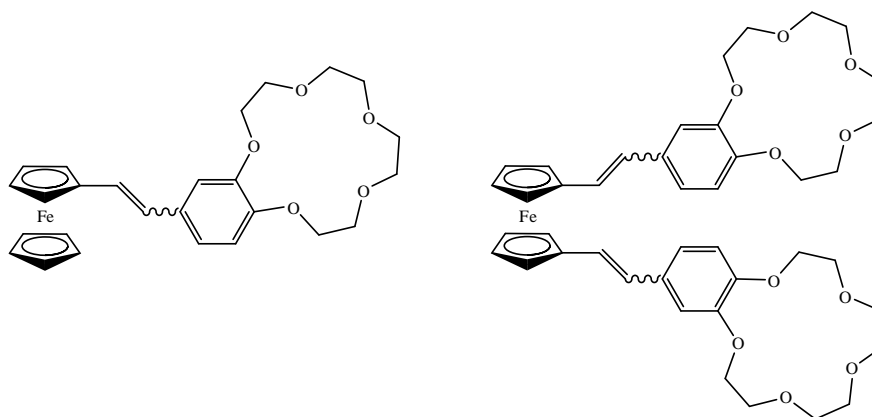


Figure I-12 : composés possédant un lien conjugué entre le centre redox et le ligand, préparés par Beer et al

Les études du ligand de gauche ont mis en évidence un déplacement de la vague d’oxydation du ferrocène vers les plus hauts potentiels en présence de différents cations alcalins ou alcalino-terreux. En effet, la complexation d’un cation par l’éter-couronne appauvrit en électrons le ferrocène, rendant plus difficile son oxydation. Cet effet est d’autant plus marqué que la densité de charge du cation complexé est élevée, ce que confirme l’expérience : le déplacement maximal est obtenu avec Mg^{2+} . L’isolation de complexes avec le ligand de gauche a permis, grâce à des techniques de spectroscopie de masse, de mettre en évidence la formation d’un complexe « sandwich » en présence de potassium, formé par deux ligands et un cation K^+ . Pour cette raison le ligand de droite a été préparé, et comme

attendu il s'est révélé être très sélectif pour les cations K^+ grâce à sa cavité de taille parfaitement adaptée à celle du cation potassium.

Le groupe de Beer a également préparé des dérivés de ferrocène portant un ou deux cycles aza-éther-couronne, ⁴⁷ ainsi que des dérivés avec un lien réduit au cycle benzénique entre le ferrocène et le macrocycle : ⁴⁸ dans un cas comme dans l'autre, les études en voltammétrie cyclique ont montré le comportement attendu, soit un déplacement anodique de la vague d'oxydation du ferrocène en présence de cations sodium ou potassium.

Ce même groupe de recherche a également préparé des composés associant ferrocène et cycle aza-thioéther-couronne. ⁴⁹ Ces dérivés se sont avérés être de très bons complexants du cuivre. Les études par voltammétrie cyclique ont mis en évidence un déplacement anodique de la vague d'oxydation du ferrocène en présence de Cu^{2+} , et le balayage vers les potentiels négatifs a permis d'observer la vague quasi-réversible de réduction du cuivre (II) en cuivre (I).

En 1992, Fabbrizzi *et al.* ont présenté le premier ligand dont l'affinité pour un cation est augmenté lors de l'oxydation. ⁵⁰ Les dérivés étudiés par cette équipe sont présentés en figure I-13.

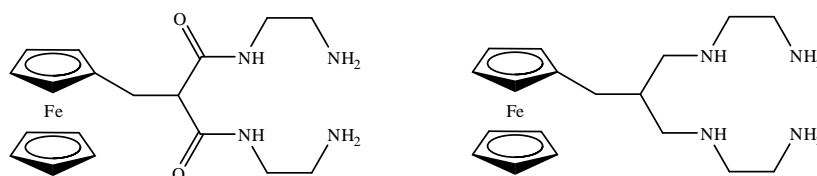


Figure I-13 : composés préparés et étudiés par Fabbrizzi *et al.*

Le dérivé diamide présente un déplacement cathodique de la vague d'oxydation du ferrocène en présence de nickel (II). Ce comportement particulier est attribué au fait que la complexation de Ni^{2+} par ce ligand s'accompagne de la déprotonation des azotes des fonctions amide. La double charge négative qui en résulte n'est pas complètement compensée par le cation nickel, ce qui facilite l'oxydation du ferrocène en ferricinium. L'étude du composé analogue diamine a permis de valider ce mécanisme : en effet, ce composé présente le comportement classique des capteurs de cations en présence de Ni^{2+} , à savoir un déplacement anodique de la vague d'oxydation du ferrocène. Un autre ligand possédant un ferrocène et présentant ce comportement atypique d'augmentation de l'affinité pour un cation lors de l'oxydation a été présenté par le groupe de Beer l'année suivante. ⁵¹

Beer *et al.* ont également préparé des ligands macrocycliques associant quatre unités ferrocène et quatre macrocycles éther-couronne. ^{52, 53} Les études électrochimiques ont confirmé l'équivalence des quatre unités ferrocène. Outre les sites ligands des macrocycles éther-couronne, ces composés possèdent une cavité centrale qui peut également recevoir un « invité ». Ces composés sont donc des récepteurs multisites qui peuvent lier des espèces différentes selon le site de chélation, espèces qui ne sont pas nécessairement des cations métalliques, montrant ainsi la faisabilité de ce type de ligands pour des « invités » autres que des cations métalliques. Ce même groupe de recherche a aussi préparé des dérivés de di- ou triazaéther-couronne portant deux ou trois unités ferrocène ou anthraquinone. ⁵⁴ Les études électrochimiques de ces composés ont montré une très bonne sélectivité pour le cation ammonium. Suite à ces premières études, il est à noter que de nombreux autres systèmes supramoléculaires à commande redox ont été préparés et étudiés dans le but de détecter des molécules neutres, des cations non-métalliques ou des anions. ²⁴

Les études présentées jusqu'ici ont toutes été menées en solvant organique. Or, pour des applications biologiques, il est crucial de préparer des systèmes efficaces en milieu biocompatible,

c’est-à-dire aqueux. Kaifer, Gokel *et al.*, en 1992, ont réétudié le composé présenté à droite en figure I-11.^{55, 56} Les études électrochimiques en milieu aqueux de ce dérivé ont montré l’apparition d’une nouvelle vague d’oxydation réversible à un potentiel plus élevé en présence de cations argent, mettant en évidence pour la première fois la capture d’un cation avec détection électrochimique en milieu aqueux.

D’autres métallocènes ont également été utilisés dans des ligands à activité redox. Entre autres, des ruthénocènes ont été préparés par le groupe de Beer,⁴⁴ et Plenio *et al.* ont préparé et étudié des aminocobaltocènes et leurs analogues ferrocéniques.⁵⁷

Des ligands à activité redox couplant un ferrocène à un ligand de nature autre que macrocyclique ont aussi préparés et étudiés. Par exemple le groupe de Bryce a préparé des dérivés couplant un ferrocène à des substituants oxazoline ou imine, et a prouvé par voltammétrie cyclique que ce sont de bons capteurs de cations en milieu acétonitrile.⁵⁸

e) Phénylènediamine

Les phénylènediamines ont été utilisées comme structures centrales dans des ligands polydentates depuis la fin des années 1950 et pendant toute la seconde moitié du vingtième siècle ;⁵⁹ en particulier, la famille des bases de Schiff est une famille de ligands basés sur une *ortho*-phénylènediamine. Cependant, l’application de ligands dérivés de phénylènediamine à la détection électrochimique de cations est beaucoup plus récente. Parmi les premiers exemples de tels systèmes figurent les dérivés préparés et étudiés par Pearson et son équipe (*cf.* figure I-14).⁶⁰⁻⁶²

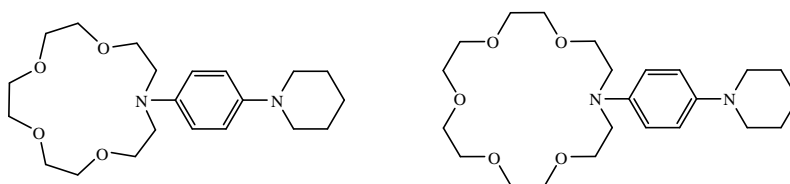


Figure I-14 : composés préparés et étudiés par Pearson *et al.*

Les études par fluorescence et voltammétrie cyclique ont montré que ces deux dérivés sont des systèmes de détection de cations sélectifs et efficaces, avec deux modes de détection envisageables. Plus particulièrement, lors des études électrochimiques, il a été constaté que la présence d’un cation alcalin (donc monovalent) provoque un déplacement anodique progressif de la vague d’oxydation réversible de la phénylènediamine en radical-cation, déplacement d’autant plus important que la concentration en cation est élevée. En revanche, la présence d’un cation alcalino-terreux (donc divalent) provoque la disparition progressive de la vague d’oxydation réversible correspondant à l’espèce libre, et l’apparition concomitante d’une nouvelle vague d’oxydation réversible à un potentiel plus élevé, correspondant au complexe. Ceci montre que les composés préparés par Pearson *et al.* reconnaissent les cations monovalents et divalents, mais présentent une bonne sélectivité pour les cations divalents.

Deux autres composés, associant un aza-éther-couronne à un carbazole via une phénylènediamine ont été préparés et étudiés par le groupe de Lapouyade (*cf.* figure I-15).⁶³

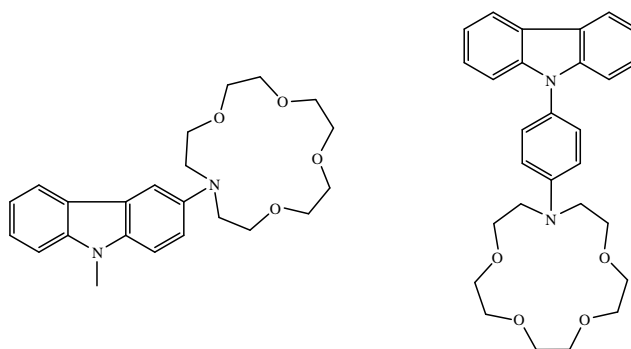


Figure I-15 : composés étudiés par Lapouyade et al.

Ce groupe a obtenu des résultats similaires à ceux de Pearson, à savoir un déplacement progressif de la vague d'oxydation réversible de la phénylènediamine en radical-cation lors d'ajouts de cation sodium, pour ces deux dérivés. Mais il a également été constaté que la seconde vague d'oxydation de la phénylènediamine, réversible pour le composé de gauche mais pas pour celui de droite, correspondant à la conversion du radical-cation en dication, n'est pas affectée par la présence de Na^+ , prouvant ainsi que le cation n'est plus complexé lors de ce processus électrochimique, et a été relargué dans le milieu après la première oxydation du ligand.

Un composé très similaire à ceux préparés par Pearson *et al.*, présenté en figure I-16, a été étudié par le groupe de De Backer en 2008.⁶⁴

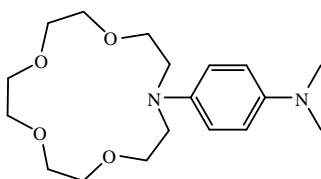


Figure I-16 : composé étudié par De Backer et al.

Ce groupe a obtenu des résultats similaires à ceux de Lapouyade *et al.*, à savoir un déplacement progressif de la vague d'oxydation réversible de la phénylènediamine en radical-cation lors d'ajouts de cation lithium, et la non-modification de la seconde vague d'oxydation réversible de la phénylènediamine, correspondant à la conversion du radical-cation en dication, par la présence de Li^+ , mettant ainsi en évidence le relargage du cation. Ce phénomène de relargage a été ensuite confirmé par des études en spectroscopie infrarouge.

3) Conclusion

Le phénomène de relargage de cations contrôlé électrochimiquement a déjà été observé, mais il reste assez peu étudié. Pourtant de nombreuses applications, notamment la création de sauts de concentration en un cation donné au voisinage d'une cellule, sont envisageables. Néanmoins, pour ce faire, il est indispensable d'obtenir ce phénomène de relargage en milieu biocompatible. Or il n'existe aucun exemple dans la littérature de ce type de phénomène en milieu aqueux. Nous nous proposons donc de préparer et étudier différents dérivés possédant un centre redox étroitement couplé à un ligand, afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors du relargage de cation, et de mettre en évidence ce phénomène en milieu aqueux. Le calcium étant impliqué dans de nombreux processus biologiques, nous avons plus spécifiquement ciblé ce cation lors de nos études.

III) Conception des molécules-cibles

La conception des molécules-cibles doit tenir compte à la fois des propriétés de relargage de cation visées et de la compatibilité du système avec les conditions physiologiques, donc avec un milieu aqueux tamponné.

Pour élaborer des composés en vue du relargage de cation, il est donc nécessaire d’associer :

- Un ligand (en vert sur la figure I-17), sélectif pour le cation ciblé, avec une constante d’affinité permettant de travailler dans la gamme des concentrations physiologiques
- Un centre redox (en orange sur la figure I-17), neutre à l’état réduit, chargé positivement lorsqu’il est oxydé, très étroitement lié au ligand.

Dans le but de diminuer les quantités de ligand utilisées et de minimiser la contamination du milieu par le ligand, il est souhaitable de pouvoir greffer le ligand à la surface d’une électrode et d’utiliser ensuite cette électrode modifiée. Pour cela, il est nécessaire d’introduire deux fonctionnalités supplémentaires :

- Un espaceur dont le rôle est d’assurer le transfert électronique entre l’électrode et le centre redox tout en évitant un couplage trop fort entre eux (en bleu sur la figure I-17)
- Une fonction d’ancrage, permettant le greffage à la surface de l’électrode (en rose sur la figure I-17).

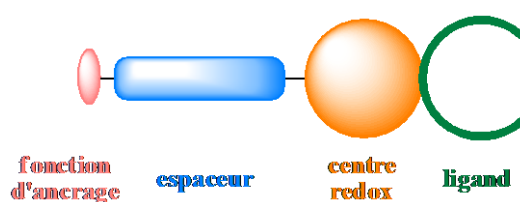


Figure I-17 : schéma de principe d’une molécule-cible

Pour chacune de ces quatre fonctionnalités, plusieurs possibilités sont envisageables.

1) Choix du ligand

Comme la plupart des cations métalliques bivalents, le cation calcium Ca^{2+} dans l’eau est très fortement solvaté. Par ailleurs la concentration physiologique en calcium est modulée autour de 10^{-6} mol.L⁻¹. Il est donc indispensable de préparer des dérivés ayant une forte constante d’affinité pour Ca^{2+} , et une haute sélectivité pour ce cation, notamment par rapport au cation magnésium Mg^{2+} , dont la concentration *in vivo* est de l’ordre de 10^{-3} mol.L⁻¹. De plus, la partie ligand devant être étroitement couplée au centre redox, il est indispensable que les ligands choisis soient facilement fonctionnalisables. Nous avons donc limité notre étude aux ligands possédant une amine secondaire, ou aux ligands possédant une fonction aniline. Les ligands ayant retenu notre attention sont présentés en figure I-18.

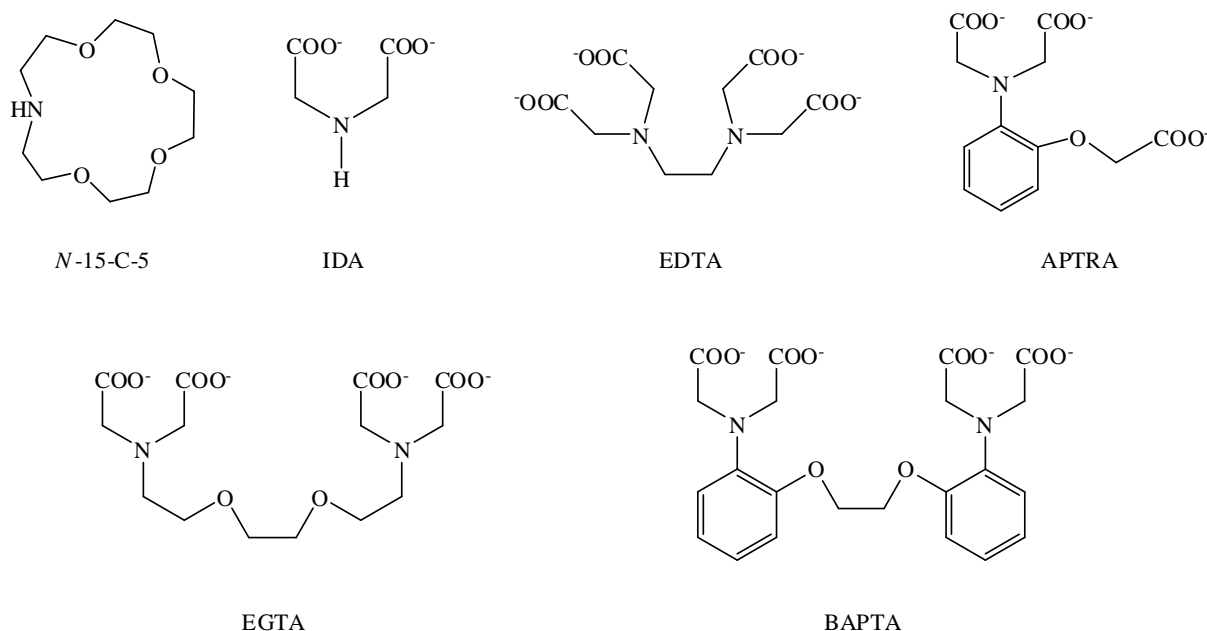


Figure I-18 : quelques ligands connus comme complexants de Ca^{2+}

Le ligand aza-éther-couronne (*N*-15-C-5) a une constante d'affinité pour Ca^{2+} de $1,7 \cdot 10^3$ en milieu méthanol/eau.^{65, 66} L'affinité de ce ligand est donc probablement trop faible pour des études en milieu aqueux. Cependant, ce ligand ayant déjà été couplé à différents centres redox, et les systèmes résultants utilisés comme capteurs de calcium ou pour le relargage de calcium, il a été utilisé pour les premières études réalisées au laboratoire afin d'étudier les mécanismes mis en jeu dans ces processus.

Le ligand iminodiacétate (IDA) a été retenu car il s'agit également d'une amine secondaire : on peut donc envisager une stratégie de synthèse pour coupler ce ligand à un centre redox similaire à celle utilisée avec le ligand *N*-15-C-5. Il présente une affinité pour Ca^{2+} dans l'eau légèrement plus élevée ($K_a \approx 2,2 \cdot 10^3$),⁶⁷ mais là encore, probablement trop faible. En revanche, l'IDA est connu pour être un très bon ligand des métaux de transition.

Le ligand éthylènediaminetétraacétate (EDTA) a une constante d'affinité pour Ca^{2+} de $2,3 \cdot 10^5$ en milieu aqueux.⁶⁸ Mais il n'est pas sélectif entre Mg^{2+} et Ca^{2+} . De plus, la fonctionnalisation de ce ligand n'est pas aisée. Ce ligand n'a donc pas été retenu pour les études ultérieures.

Le ligand éthylèneglycolbis(β-aminoéthyléther)-*N,N,N',N'*-tétraacétate (EGTA) a une constante d'affinité pour Ca^{2+} de $5,6 \cdot 10^6$ en milieu aqueux,⁶⁸ et il présente une très bonne sélectivité pour Ca^{2+} en présence de Mg^{2+} . En revanche, les $\text{p}K_a$ des deux fonctions amines étant de l'ordre de 9, l'affinité du ligand pour les cations métalliques varie fortement en fonction du pH lorsque celui-ci est proche de 7, c'est-à-dire dans la gamme de pH physiologique. De plus, la fonctionnalisation de ce ligand n'est pas aisée. Ce ligand n'a donc pas été retenu pour la conception des systèmes, mais sera utilisé pour les études par compétition entre ligands.

Le ligand 1,2-bis(*ortho*-aminophénoxy)éthane-*N,N,N',N'*-tétraacétate (BAPTA) a une constante d'affinité pour Ca^{2+} de $5,7 \cdot 10^6$ en milieu aqueux,^{68, 69} et les $\text{p}K_a$ des deux fonctions amines étant de l'ordre de 5-6, l'affinité du ligand pour les cations métalliques est quasi-indépendante du pH lorsque celui-ci est proche de 7, c'est-à-dire dans la gamme de pH physiologique. Des dérivés fonctionnalisés ont déjà été obtenus, par exemple par introduction d'un halogène ou d'un groupe nitré

par substitution électrophile aromatique. Les positions privilégiées pour ces réactions de S_EAr sont celles en *para* des azotes. Il est donc envisageable de coupler ce ligand à un centre redox.

Le ligand aminophénoxy-*N,N,O*-triacétate (APTRA) présente une affinité pour Ca^{2+} en milieu aqueux plus faible que le ligand BAPTA, mais il est plus facile à préparer et fonctionnaliser que le BAPTA. C’est pourquoi ce ligand a retenu notre attention. Afin de s’approcher le plus possible de la structure d’un « demi-BAPTA », un ligand dérivé de l’APTRA, le 2,2’-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate, sur lequel le groupe acide carboxylique de la chaîne oxygénée est remplacé par un éther méthylique, est envisageable.

2) Choix du centre redox

Le centre redox choisi doit être neutre à l’état réduit, et chargé positivement à l’état oxydé. Parmi l’ensemble des possibilités, deux centres redox ont plus spécifiquement retenu notre attention car ils ont déjà été employés dans des systèmes de détection de cation ou dans les premiers systèmes permettant le relargage de cations : le ferrocène et la phénylènediamine.

Il existe plusieurs familles de ligands fondés sur des phénylènediamines, ⁵⁹ mais jusqu’au début du vingt-et-unième siècle, la phénylènediamine a été très peu utilisée dans des systèmes de détection de cation. Depuis 2001, ce centre redox a permis de mettre en évidence le phénomène de relargage de cation, ^{63, 64} mais ce processus est resté peu étudié.

Afin de connaître de manière plus approfondie les propriétés de ce centre redox, nous avons étudié par voltammétrie cyclique un composé de référence commercial et bien décrit, la tétraméthylphénylènediamine (notée TMPD), ⁷⁰ dont le voltammogramme dans l’eau est présenté en figure I-19.

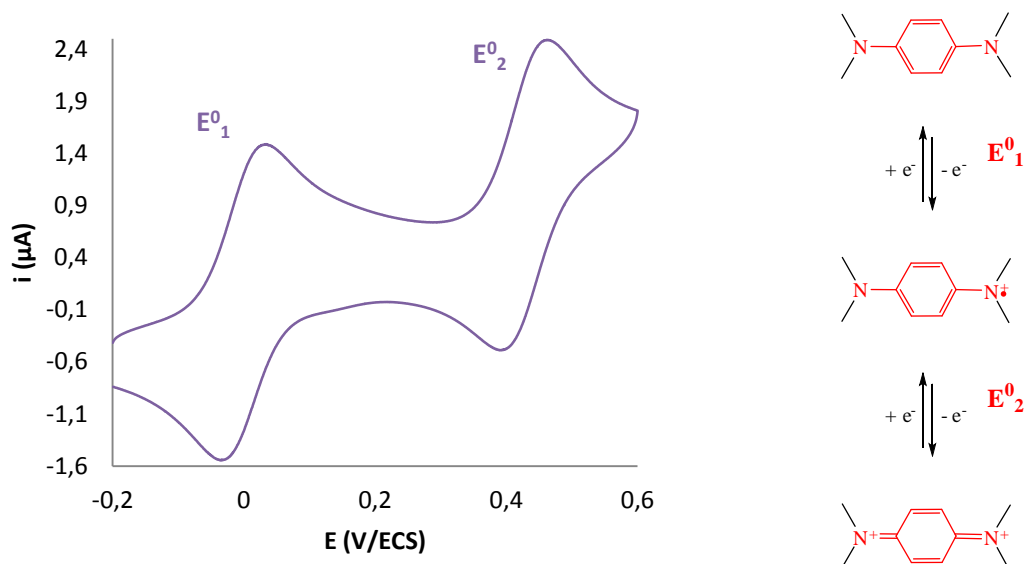


Figure I-19 : voltammogramme de la tétraméthylphénylènediamine 1 mmol.L^{-1} dans l’eau + $KCl \text{ } 0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$; vitesse de balayage 100 mV.s^{-1} . WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ce composé présente deux vagues successives d’oxydation monoélectroniques réversibles, notées E_1^0 et E_2^0 . Les potentiels caractéristiques de ce composé dans l’acétonitrile et dans l’eau sont résumés dans le tableau I-01. Pour chacune des vagues d’oxydation de ce composé, en milieu organique comme en solution aqueuse, l’écart de pic ΔE_p est proche de 59 mV, valeur caractéristique des systèmes

diffusionnels pour lesquels le transfert électronique est rapide et réversible. (Plus ce transfert d’électron est lent, plus l’écart entre les pics augmente.)

TMPD	1 ^{ère} vague d’oxydation E_1^0				2 ^{ème} vague d’oxydation E_2^0			
	E_p^a	E_p^c	$E^{1/2}$	ΔE_p	E_p^a	E_p^c	$E^{1/2}$	ΔE_p
acétonitrile	0,155 V	0,089 V	0,122 V	66 mV	0,732 V	0,664 V	0,698 V	68 mV
eau	0,035 V	-0,032 V	0,0015 V	67 mV	0,464 V	0,396 V	0,430 V	68 mV

Tableau I-01 : récapitulatif des potentiels caractéristiques de la TMPD par rapport à l’ECS dans l’acétonitrile + Bu_4NBF_4 0,1 mol.L⁻¹ et dans l’eau + KCL 0,2 mol.L⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Par ailleurs, les potentiels caractéristiques de chacune des vagues d’oxydation sont plus élevés dans l’acétonitrile que dans l’eau. Ceci est dû à la plus forte solvatation des espèces chargées dans l’eau. De plus, dans l’eau, la première oxydation intervient à un potentiel proche de 0 V/ECS. Or, en milieu physiologique, il n’y a pas d’espèces oxydables ou réductibles dans cette gamme de potentiels : Si on prépare un composé dont le potentiel d’oxydation se situe dans cette gamme, l’oxydation de ce dernier se fera de manière sélective, sans affecter le milieu.

Il existe davantage de systèmes fondés sur le ferrocène, les stratégies de synthèse sont donc plus nombreuses et bien connues, mais il n’est pas possible de préparer un composé dans lequel un ou plusieurs atomes de ce centre redox seraient aussi impliqués dans la chélation d’un alcalin ou d’un alcalino-terreux. Or la proximité directe du centre redox avec le ligand est une condition essentielle si l’on veut avoir une commande électrostatique forte. D’autres études menées au laboratoire ont d’ailleurs confirmé ce postulat : ⁷¹ un composé couplant un ligand BAPTA avec un ferrocène a été préparé, mais il a été montré qu’en raison d’un mauvais couplage électronique entre le centre redox et le ligand probablement lié en partie à la trop grande distance les séparant, les capacités de chélation de Ca^{2+} du ligand ne sont que très peu affectées par l’oxydation du ferrocène. De plus, le ferrocène ne présente qu’une seule oxydation monoélectronique : il ne serait donc pas possible de prouver un relargage de cation uniquement par des études électrochimiques.

Bien que moins connu que le ferrocène, le centre redox phénylènediamine présente trois avantages pour notre projet. Tout d’abord, il est possible d’envisager l’élaboration de composés dans lesquels l’un des azotes du centre redox est directement impliqué dans la chélation du cation. Ceci devrait assurer une excellente communication de l’information électrochimique au niveau du ligand, donc une forte modification de son affinité pour les cations lors du changement de degré d’oxydation du centre redox. En outre, dans l’eau, la première oxydation de ce centre redox a lieu à un potentiel proche de 0 V/ECS, ce qui est intéressant en vue d’applications biologiques. Enfin, la phénylènediamine présentant deux oxydations monoélectroniques successives, il devrait être possible de prouver un relargage de cation uniquement par des études électrochimiques. Nous avons donc retenu ce centre redox pour ce projet.

3) Choix de l’espaceur

L’espaceur doit permettre le transfert électronique entre le centre redox et l’électrode, tout en évitant un couplage total entre eux. En effet, si le centre redox était totalement couplé à l’électrode, il serait impossible d’observer les changements de degré d’oxydation du composé puisque l’électron ou le trou serait complètement délocalisé entre le centre redox et l’électrode. L’espaceur ne doit donc pas

être un groupe fortement conjugué. Cependant, plus ce groupe est long, plus le transfert électronique est ralenti. Un bon compromis est donc de choisir comme espaceur une chaîne alkyle ou polyéther comportant 2 à 6 atomes. Cette longueur de chaîne est suffisante pour éviter le fort couplage direct du centre redox avec l’électrode, et permet de conserver un transfert électronique relativement rapide entre les deux.

4) Choix de la fonction d’ancrage

Il existe de multiples possibilités pour greffer un composé organique à la surface d’une électrode. Entre autres, peuvent être envisagés la formation directe de monocouches autoassemblées (ou SAMs), le greffage covalent par réduction de diazonium ou d’amine secondaire, ou une réaction de « chimie-click » à la surface d’une électrode préalablement modifiée.

a) Monocouches autoassemblées

La formation de SAMs repose sur la très bonne affinité du soufre pour l’or : les dérivés soufrés se fixent spontanément par chimisorption *via* le soufre sur la surface d’une électrode d’or et s’autoorganisent en monocouche. Deux types de composés organiques soufrés peuvent être isolés assez facilement : les thiols (ou les disulfures) et les dithiocarbamates, et permettre l’obtention de SAMs.^{72, 73}

Pour préparer de tels dérivés, une stratégie de synthèse simple à mettre en œuvre est la fonctionnalisation d’une amine secondaire par substitution nucléophile. Les composés préparés en vue de la formation de SAMs doivent donc avoir une fonction amine secondaire en bout de chaîne.

Par ailleurs, il est possible de préparer des SAMs pures, constituées uniquement du composé électroactif, mais aussi des SAMs mixtes, pour lesquelles un alkylthiol non-électroactif est utilisé comme « diluant ». L’inconvénient d’une SAM mixte est que la concentration surfacique en composé actif est plus faible, donc le signal électrochimique est moins intense. Mais l’avantage d’utiliser un diluant est double. Tout d’abord les centres redox sont plus espacés, ils n’interagissent donc pas entre eux, le signal électrochimique est donc directement relié à un seul élément moléculaire sans effets coopératifs positifs ou négatifs. De plus, l’emploi d’un diluant permet d’obtenir une meilleure homogénéité de la phase adsorbée, donc une meilleure résolution du signal électrochimique.

L’intégrale du signal étant directement proportionnelle au nombre d’électrons transférés, on peut déterminer facilement le nombre de centres redox mis en jeu lors d’une expérience. Pour déterminer la concentration surfacique en composé actif à partir de cette donnée, il est indispensable de connaître la surface utile de l’électrode d’or. Pour ce faire, le dispositif présenté en figure I-20 a été mis au point au laboratoire.

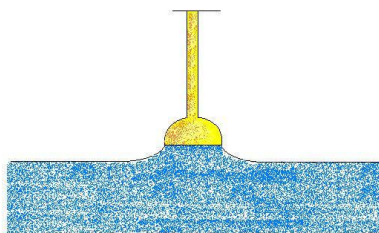


Figure I-20 : électrode d’or hémisphérique et ménisque de solution

Des électrodes hémisphériques sont préparées par polissage d’une boule d’or, puis, afin de limiter la surface utile au disque dont la surface est aisément mesurable, l’électrode est placée juste à la surface de la solution, de telle sorte qu’un ménisque se forme et que seul le disque soit en contact avec la solution.

b.) Greffage covalent

Une des méthodes les plus employées pour le greffage à la surface d’électrodes de carbone vitreux ou d’électrodes métalliques de manière covalente des composés est la réduction de sels de diazonium ou encore l’oxydation d’amines aromatiques ou secondaires.⁷⁴⁻⁷⁷ Le principe de greffage d’un dérivé diazonium par électrochimie est présenté en figure I-21. Un potentiel permettant la réduction de la fonction diazonium est imposé à l’électrode. Le transfert d’un électron au diazonium provoque le départ d’une molécule de diazote et la formation d’un radical aryle au voisinage de l’électrode sur laquelle il se greffe par formation d’une liaison covalente. L’inconvénient majeur de cette méthode est la formation de multicouches par réaction des radicaux aryles sur la couche déjà formée. Le contrôle de ce processus est impossible, à moins d’emcombrer très fortement les positions en *ortho* du groupe substituant X.⁷⁸ Un processus similaire peut être observé par voie chimique dans un liquide ionique.^{79, 80} Cette méthode a l’avantage de permettre d’obtenir une monocouche de manière plus sélective que par électrochimie, mais présente l’inconvénient de nécessiter l’emploi d’un liquide ionique.

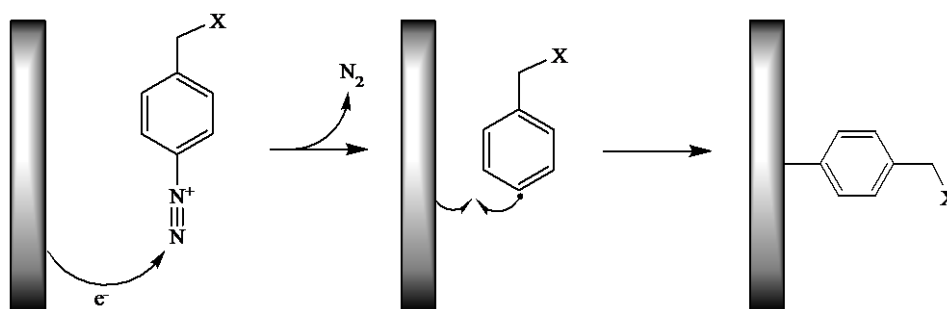


Figure I-21 : greffage d’un diazonium à la surface d’une électrode

De plus, la fonction diazonium étant très réactive, elle est peu compatible avec d’autres groupes fonctionnels. Il est donc nécessaire de procéder en deux étapes : le greffage d’un diazonium fonctionnalisé par un halogène en position benzylique, puis une réaction de substitution nucléophile avec le composé d’intérêt. Là encore, pour permettre cette réaction, le composé d’intérêt doit avoir un site fortement nucléophile tel qu’une fonction amine secondaire en bout de chaîne.

c.) « Chimie-click »

La « chimie-click » regroupe un ensemble de réactions faciles à mettre en œuvre, dans des conditions douces, stéréospécifiques et ayant de bons rendements.⁸¹ Parmi ces réactions, la plus connue d’entre elles a plus spécifiquement retenu notre attention : la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen d’un azoture sur un alcyne pour former un 1,2,3-triazole, réaction régiosélective si catalysée par le cuivre (I) et menant à la formation du cycle 1,4-substitué (cf. figure I-22).⁸²⁻⁸⁴

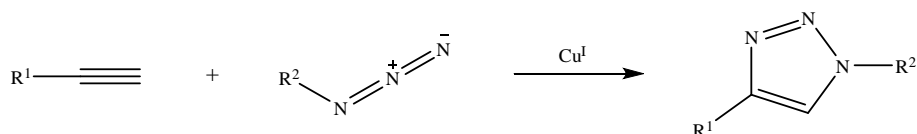


Figure I-22 : réaction de Huisgen entre un azoture et un alcyne, catalysée par le cuivre (I)

Récemment, il a été montré que cette réaction peut être effectuée à la surface d’une électrode modifiée par un thiol ou un diazonium portant l’un ou l’autre des deux groupes fonctionnels mis en jeu, et permettre ainsi de greffer un composé électroactif à la surface de l’électrode.^{85-88, 89, 90} Il est donc envisageable de préparer des ligands redox possédant une extrémité alcyne ou azoture en vue d’un greffage par « chimie-click » à la surface d’une électrode modifiée par un thiol ou un diazonium portant le groupe fonctionnel complémentaire.

5) Elaboration de stratégies de synthèse

Nous pouvons envisager deux classes de composés couplant un ligand à une phénylènediamine :

- une classe de composés pour lesquels le cycle aromatique de la phénylènediamine ne porte pas d’autres substituants que les deux atomes d’azote en positions 1,4, composés que nous qualifierons de dérivés de phénylènediamine non-substituée par la suite
- une classe de composés pour lesquels le cycle aromatique de la phénylènediamine porte un substituant supplémentaire *via* un atome d’oxygène, composés que nous qualifierons de dérivés de phénylènediamine substituée par la suite.



Figure I-23 : dérivé de phénylènediamine non-substitué à gauche ; dérivé de phénylènediamine substitué à droite*

La stratégie de synthèse de ces deux classes de composés sera très probablement différente, car la présence d’un substituant supplémentaire dans les dérivés de phénylènediamine substituée nécessite de particulariser sélectivement une position de plus, ce qui n’est pas envisageable avec certaines stratégies de synthèse.

a) Dérivés de phénylènediamine non-substituée

Un certain nombre de dérivés de phénylènediamine non-substituée ont déjà été préparés, en particulier un dérivé couplant une phénylènediamine à un aza-éther-couronne.⁹¹ La stratégie développée par Pearson *et al.* étant à ce jour la meilleure voie de synthèse connue pour des dérivés de phénylènediamine non substituée, nous nous sommes inspirés de leurs travaux pour élaborer une stratégie de synthèse plus générale, présentée sous forme de schéma rétrosynthétique en figure I-23.

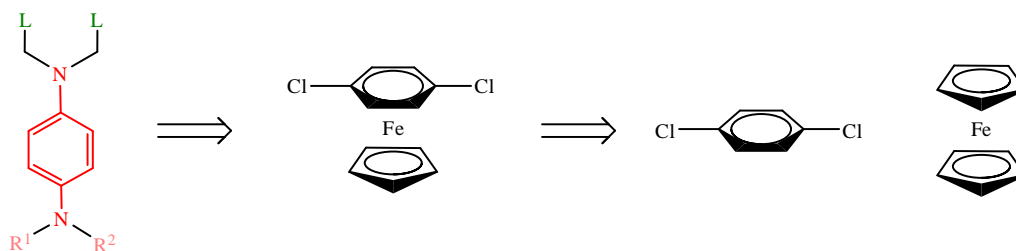


Figure I-23 : rétrosynthèse d’un dérivé de phénylènediamine non-substituée

Ces dérivés de phénylènediamine non-substituée pourraient être obtenus par substitutions nucléophiles successives des atomes de chlore du *para*-dichlorobenzène par des nucléophiles azotés, après activation du *para*-dichlorobenzène par formation d’un η -complexe. L’introduction des nucléophiles azotés par ordre de nucléophilie croissante devrait permettre d’obtenir des dérivés dissymétriques.

Cependant, si cette stratégie de synthèse devrait nous permettre d’isoler assez facilement des dérivés de phénylènediamine non-substituée, elle n’est pas adaptée pour préparer des dérivés de phénylènediamine substituée. En effet, il n’y a pas de formation d’un η -complexe avec le 1,2,4-trichlorobenzène, donc pas d’activation en vue de substitution nucléophile aromatique, ce qui rend ces réactions très difficiles à mener : il faudrait employer des conditions très dures, incompatibles avec bon nombre de groupes fonctionnels. Nous avons donc élaboré une autre stratégie de synthèse pour les dérivés de phénylènediamine substituée.

b) Dérivés de phénylènediamine substituée

La stratégie de synthèse élaborée pour la préparation de dérivés de phénylènediamine substituée est présentée sous forme de schéma rétrosynthétique en figure I-24.

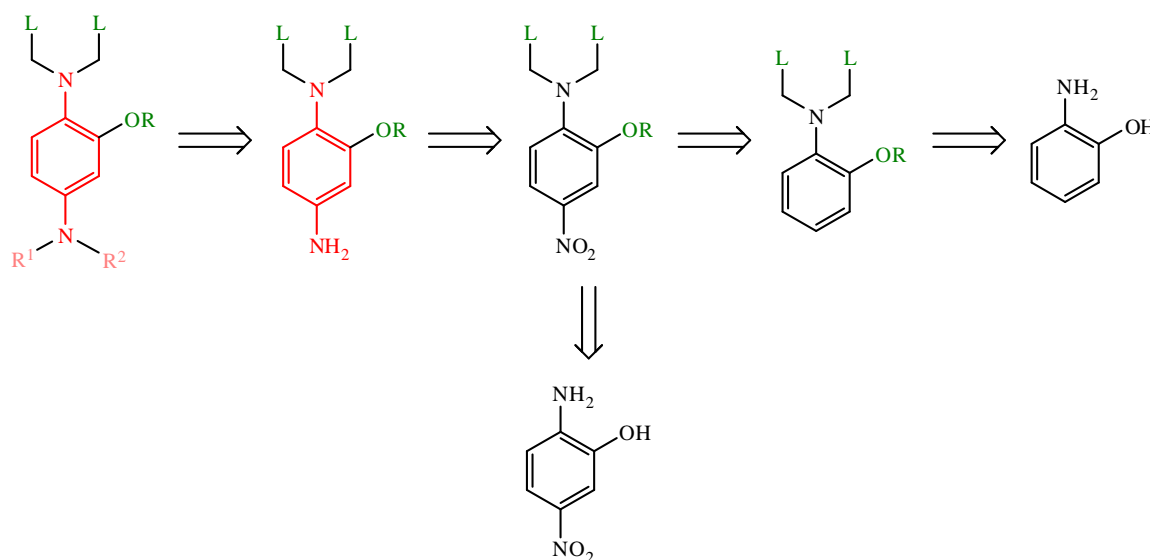


Figure I-24 : rétrosynthèse d’un dérivé de phénylènediamine substituée

Il est très difficile de discriminer des positions particulières sur un cycle aromatique. Il est donc nécessaire de choisir comme produit de départ un composé possédant un cycle aromatique portant déjà au moins un atome d’azote et un atome d’oxygène en bonne position. Au vu de cette contrainte, la molécule-cible pourrait être obtenue par fonctionnalisation, soit par une double alkylation, soit par une double amination réductrice, d’une aniline primaire elle-même issue du dérivé nitré correspondant. Ce dérivé nitré pourrait être obtenu de deux façons différentes. Il pourrait provenir d’une suite de réactions entre trois produits : le 2-amino-5-nitrophénol, et deux dérivés ayant une fonction nucléofuge. Il pourrait également être issu de la nitration du précurseur correspondant, lui-même obtenu par une suite de réactions entre trois produits : le 2-aminophénol et deux dérivés ayant une fonction nucléofuge.

Conclusion

Le relargage de cations alcalins et alcalinoterreux contrôlé par photochimie a été très étudié et est à l’heure actuelle la méthode de choix pour modifier localement la concentration d’un cation donné. Mais ces méthodes présentent deux inconvénients : celles exploitables facilement pour des études *in vivo* sont irréversibles, et l’utilisation de lumière, d’une part, limite leur application aux milieux transparents aux longueurs d’onde employées, et surtout d’autre part, peut induire des dommages à un tissu vivant en cas de forte intensité.

En revanche, le relargage de cations contrôlé par électrochimie, bien que connu puisque son principe est l’inverse de celui de capteurs redox, a été très peu étudié. En particulier, les mécanismes mis en jeu n’ont pas été déterminés, et ce phénomène n’a été observé qu’en milieu organique. Nous nous proposons donc de préparer et étudier différents dérivés de phénylènediamine étroitement couplée à un ligand, afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors du relargage de cation, et de mettre en évidence ce phénomène en milieu aqueux. Le calcium étant impliqué dans de nombreux processus biologiques, nous avons plus spécifiquement ciblé ce cation lors de nos études, restreignant le choix des ligands à l’aza-éther-couronne *N*-15-C-5, l’iminodiacétate, le 2,2’-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate (ou « demi-BAPTA ») et le BAPTA. Nous avons commencé par synthétiser et étudier des ligands dérivés de l’aza-éther-couronne *N*-15-C-5, puisque c’est avec de tels systèmes que le relargage de cations contrôlé par électrochimie a été mis en évidence.

Chapitre II : Elaboration de ligands fondés sur les dérivés de l'aza-éther-couronne *N-15-C-5*. *

Le ligand aza-éther-couronne *N-15-C-5*, présenté figure II-01, présente une bonne affinité pour les cations sodium ($\log K = 3,41$ dans un mélange méthanol/eau 95/5 contenant $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de chlorure de tétraméthylammonium), potassium ($\log K = 2,90$) et calcium ($\log K = 3,24$).^{65, 66}

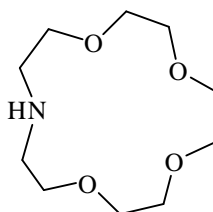


Figure II-01 : ligand *N*-aza-éther-couronne 15-C-5

De plus, ainsi qu'il a été vu au chapitre I, des composés avec ce ligand couplé à une phénylènediamine, ont déjà été synthétisés et étudiés. Lapouyade et son équipe ont préparé plusieurs composés de ce type,^{63, 93} dont l'un est parmi les premiers exemples connus de système permettant le relargage de calcium contrôlé électrochimiquement en solvant organique.⁶³ Le dérivé **01**, présenté en figure II-02, a déjà été préparé par Pearson *et al.* et a été étudié comme capteur électrochimique de calcium.^{60-62, 91} Le composé **01** ainsi que quelques dérivés ont été isolés au laboratoire, et étudiés comme systèmes pour le relargage de cations.

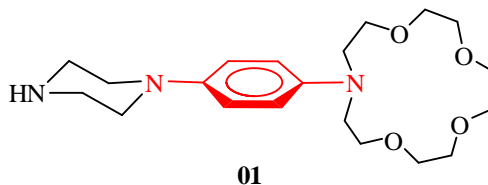


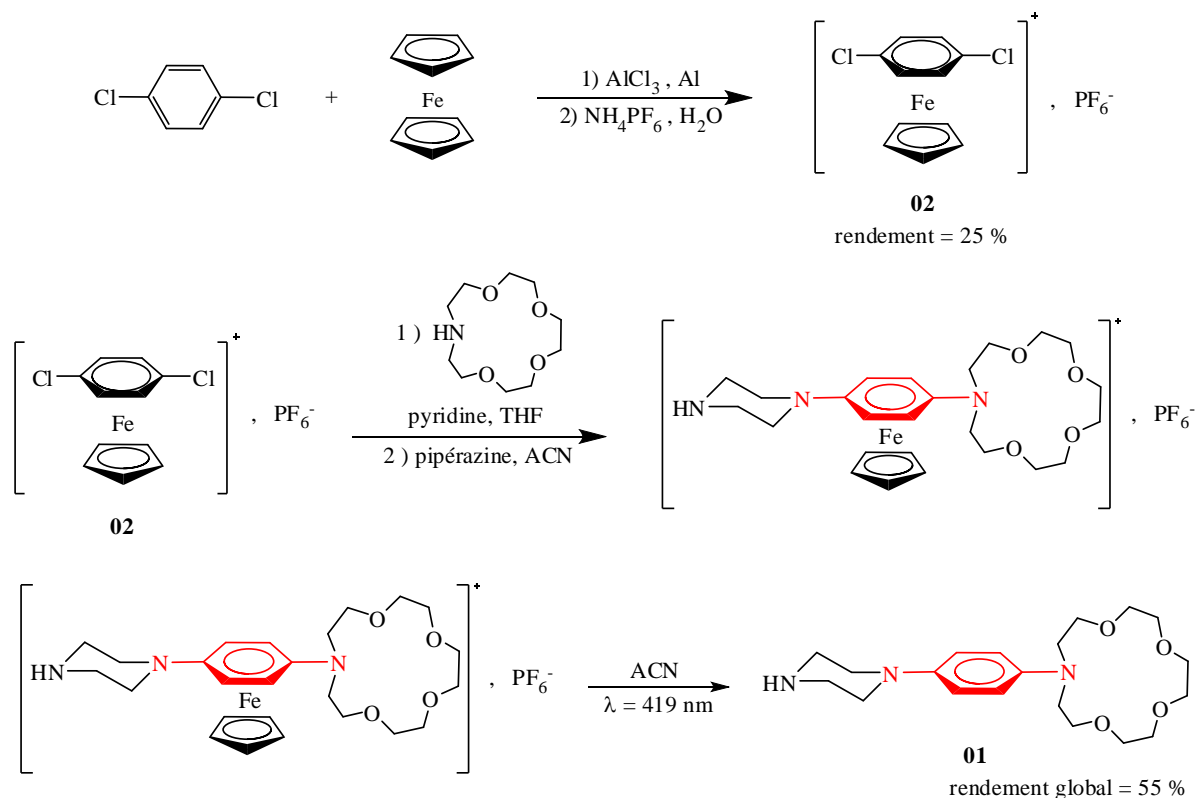
Figure II-02 : composé **01**

I) Synthèse

1) Préparation du composé **01**

Ce dérivé a été isolé pour la première fois par Pearson et son équipe.⁹¹ Leur stratégie de synthèse est présentée en figure II-03.

* Une grande partie des résultats présentés ici ont été obtenus par Damiano Genovese et ont fait l'objet d'une publication.⁹² Les autres résultats ont été obtenus lors de cette thèse, avec l'aide de Philippe Fortgang pour les études électrochimiques.


 Figure II-03 : stratégie de synthèse du composé **01**

Le *para*-dichlorobenzène est activé par formation d'un complexe η^6 de fer(II). Pearson *et al.* préparent ce complexe en chauffant un mélange de *para*-dichlorobenzène et de ferrocène dans le *n*-hexane, en présence d'aluminium en poudre et de chlorure d'aluminium, à 55°C pendant 8 heures puis à 95°C pendant 8 heures supplémentaires. Après extraction, le complexe est précipité sous forme d'une poudre jaune dans la phase aqueuse par remplacement du contre-anion chlorure par un anion hexafluorophosphate, et isolé avec un rendement de 35 %.

Au laboratoire, une méthode plus rapide utilisant les microondes a été développée. Les réactifs (*para*-dichlorobenzène et ferrocène) ont été mis en solution dans le 1,2,4-trichlorobenzène. Après ajout d'aluminium en poudre et de chlorure d'aluminium, le milieu réactionnel, surmonté d'un verre de montre contenant de la carboglace, a été exposé 7 minutes à des microondes de puissance moyenne (environ 400 W). Après un traitement du milieu réactionnel similaire à celui réalisé par Pearson *et al.*, le complexe η^6 **02** a été isolé sous forme d'une poudre jaune avec un rendement de 25 %. Le rendement obtenu par notre stratégie est légèrement inférieur à celui obtenu par Pearson, mais le gain de temps considérable justifie pour nous le recours aux microondes.

Les étapes de synthèse suivantes ont été reproduites d'après Pearson *et al.* sans modification majeure. Le complexe η^6 **02** est photosensible, ce qui impose de mener la suite de la synthèse à l'abri de la lumière. Mais sa formation rend possible, grâce à l'activation électrophile du *para*-dichlorobenzène, la substitution nucléophile aromatique S_NAr , *via* un mécanisme de type addition-élimination, des deux chlores par des nucléophiles azotés. L'isolation de composés dissymétriques est possible car la substitution du premier chlore désactive partiellement la seconde position chlorée. Le composé azoté le moins nucléophile, ici l'aza-éther-couronne, est ajouté en premier : ce composé n'est pas assez nucléophile pour réagir sur le second atome de chlore. L'avancée des réactions de S_NAr des chlores par les dérivés azotés est suivie par RMN. Lorsque la substitution du premier atome de chlore par le premier nucléophile azoté est complète, le second nucléophile azoté, ici la pipérazine, est ajouté

in situ. Lorsque la seconde S_NAr est terminée, le milieu réactionnel est dilué par ajout de solvant, ici l'acétonitrile, et la solution résultante est exposée 6 heures à un rayonnement ultra-violet de longueur d'onde $\lambda = 419$ nm, afin de réaliser la photolyse du complexe η^6 . Les sels de fer précipitent lors de la photolyse et sont éliminés par filtration. Après purification, le composé **01** est isolé sous forme d'une poudre beige avec un rendement global sur les trois étapes de 55 %.

2) Synthèse de composés dérivés de 01

a) Protection de l'azote terminal par amidification

L'azote secondaire de l'extrémité pipérazine peut poser problème lors des études électrochimiques en solution. En effet, les amines sont oxydables, et dans le cas d'une amine primaire ou secondaire, cette oxydation est irréversible. Il est donc préférable de transformer cet azote secondaire en azote tertiaire afin de s'affranchir de ce risque et d'avoir la fenêtre de potentiel la plus large possible pour les études électrochimiques ultérieures. Pour cela, le composé **01** a été transformé en amide avec le chlorure de 4-nitrobenzoyl en milieu basique, pour donner, après traitement et purification, le composé **03** sous forme d'un solide jaune-brun (*cf.* figure II-04).

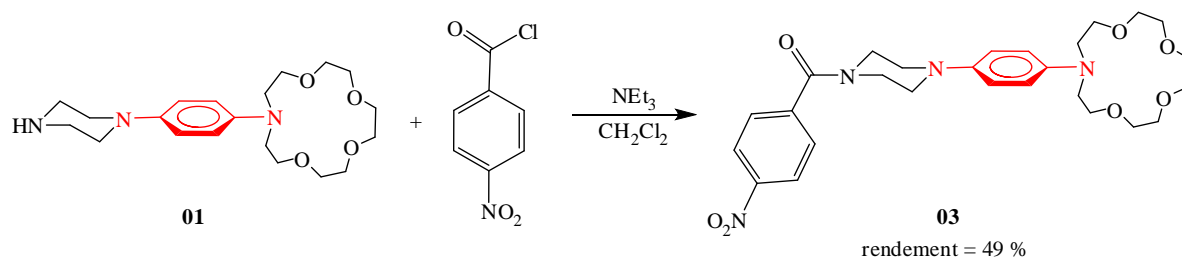


Figure II-04 : Obtention du composé **03** par amidification de **01**

b) Dérivés soufrés

L'azote terminal de la pipérazine peut également nous permettre, après modification, d'envisager le greffage sur électrode du composé. Pour cela, nous avons préparé des dérivés soufrés, dans le but ultérieur d'obtenir des SAMs sur électrode d'or.

Le dithiocarbamate de potassium dérivé du composé **01** est obtenu par réaction du disulfure de carbone en milieu basique sur l'azote secondaire de l'extrémité pipérazine (*cf.* figure II-05). Alors que la formation des acides dithiocarbamiques est très défavorable, le fait de se placer en conditions basiques permet d'isoler le dithiocarbamate de potassium **04** avec un excellent rendement⁹⁴.

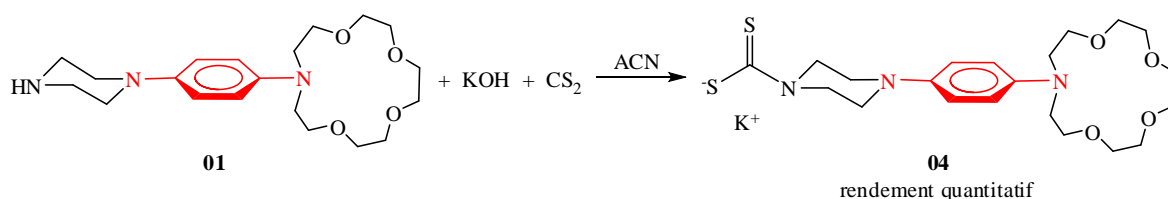


Figure II-05 : synthèse du dérivé **04**

L'éthanethiol dérivé de la molécule **01** est obtenu par réaction de substitution nucléophile de l'azote secondaire de l'extrémité pipérazine de ce composé sur le thiirane, réaction favorisée

thermodynamiquement par l'ouverture du cycle tendu du thiirane (cf. figure II-06).⁹⁵ Après traitement, l'éthanethiol désiré **05** est isolé sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 61 %.

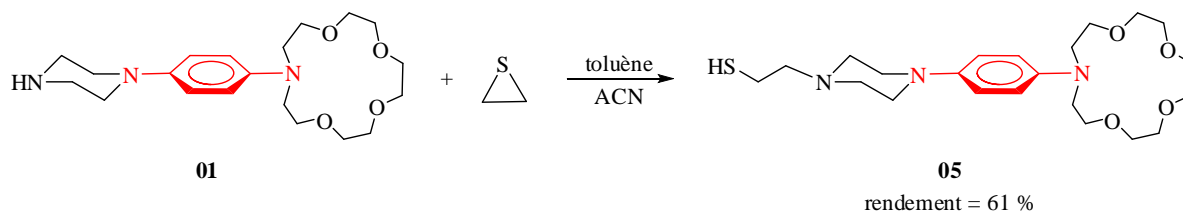


Figure II-06 : synthèse du dérivé **05**

II) Etudes électrochimiques

1) En milieu organique (acétonitrile)

a) En solution

i) Composé **03** seul

Le voltammogramme du composé **03** en solution dans l'acétonitrile est présenté en figure II-07. Ce composé présente un comportement électrochimique caractéristique des dérivés de phénylènediamine : il subit deux oxydations successives, chacune monoélectronique, et réversibles. L'écart de 83 mV entre les pics d'oxydation et les pics de réduction correspondants, écart proche de l'idéalité (59 mV), indique qu'à la vitesse de balayage de 1 V/s, le transfert électronique entre le système redox et l'électrode est rapide.

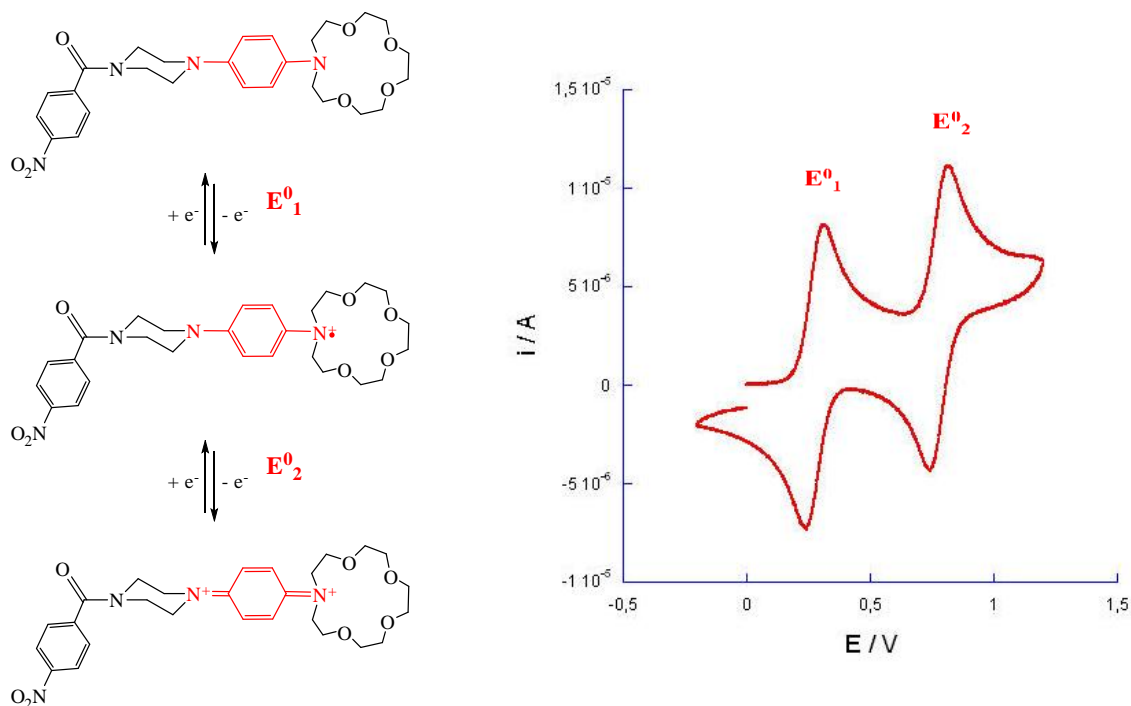


Figure II-07 : voltammogramme du composé **03**, 2 mmol.L⁻¹ en solution dans l'acétonitrile + Bu₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Le tableau II-01 présente les valeurs de potentiel de pics et de potentiels de demi-pics par rapport à

l'ECS pour le composé **03** et la tétraméthylphénylènediamine (TMPD) dans l'acétonitrile en présence de tétrabutylammonium de tétrafluoroborate à 0,1 mol.L⁻¹.

Composé	1 ^{ère} vague d'oxydation E ⁰ ₁				2 ^{ème} vague d'oxydation E ⁰ ₂			
	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p
TMPD	0,155 V	0,089 V	0,122 V	66 mV	0,732 V	0,664 V	0,698 V	68 mV
03	0,323 V	0,240 V	0,282 V	83 mV	0,826	0,743 V	0,785 V	83 mV

Tableau II-01 : comparatif des potentiels caractéristiques de la TMPD et du composé **03** par rapport à l'ECS dans l'acétonitrile + Bu₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que le passage de substituants méthyle à un aza-éther-couronne et une pipérazine protégée par un amide provoque une augmentation des potentiels d'oxydation du centre redox, de 160 mV pour la première vague, et de 87 mV pour la seconde vague. En effet, les substituants de la phénylènediamine dans le composé **03** sont inductifs attracteurs : la phénylènediamine est donc appauvrie en densité électronique dans ce composé par rapport à la TMPD, ce qui la rend plus difficile à oxyder.

ii) En présence de cations sodium

La figure II-08 montre l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **03** lors d'ajout successifs de chlorure de sodium. Cette vague est déplacée vers les hauts potentiels au fur et à mesure que la concentration en cation sodium augmente. Lorsque la concentration en sodium est de 15 équivalents par rapport à la concentration en composé **03**, le déplacement de la vague est de 99 mV.

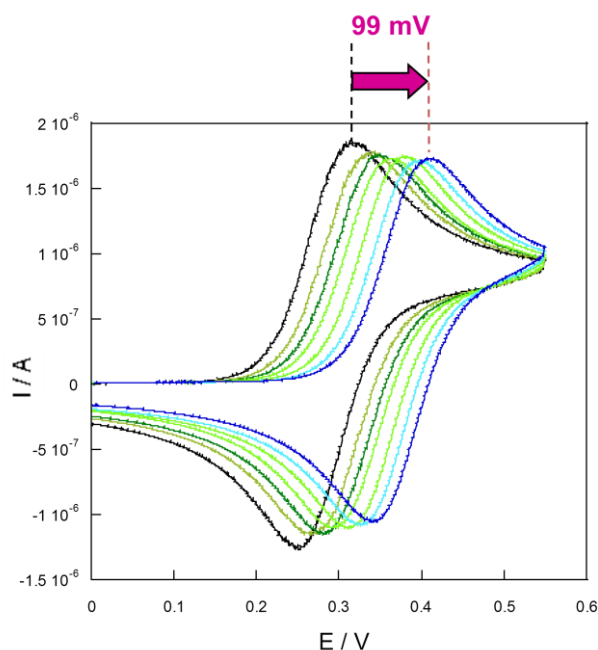


Figure II-08 : voltammogrammes du composé **03**, 2 mmol.L⁻¹ en solution dans l'acétonitrile + Bu₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹, avant ajout de Na⁺ (en noir), et après ajouts successifs de Na⁺ jusqu'à 15 équivalents(en bleu) ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ce déplacement de vague montre que le système **03** a un comportement de capteur à cation sodium à détection électrochimique, comportement illustré par le schéma carré présenté en figure II-09. La valeur du déplacement de la première vague d'oxydation étant directement liée à la quantité relative de

cation sodium ajoutée par rapport à la quantité de ligand **03**, il est envisageable d'utiliser un tel système pour déterminer la concentration en sodium d'un milieu inconnu, une fois déterminés les potentiels d'oxydation du capteur en l'absence et en présence du cation. ⁶²

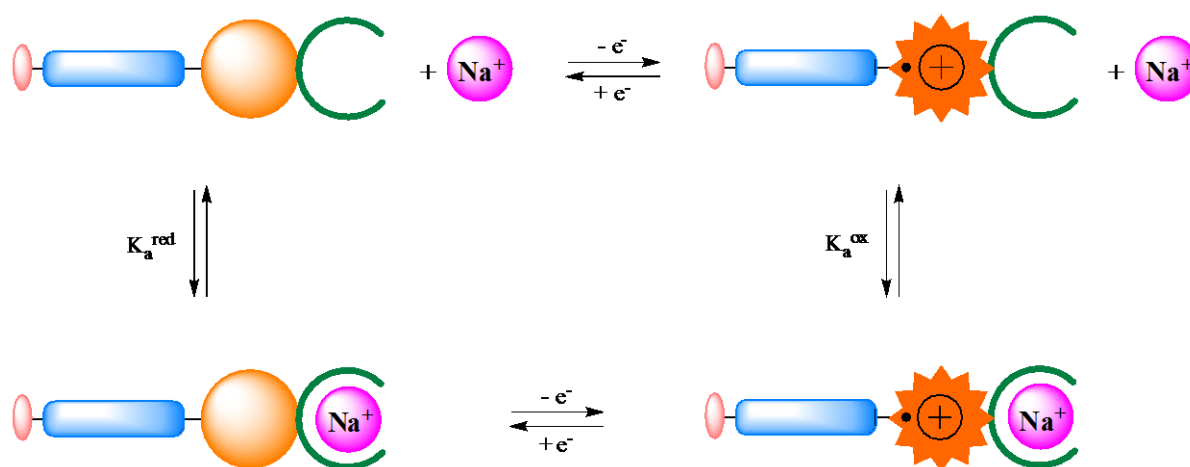


Figure II-09 : schéma carré montrant les différents équilibres impliqués dans le fonctionnement d'un capteur à sodium avec commande électrochimique

Ce système présentant un comportement de type déplacement de vague redox ^{21, 22} (et non pas un comportement de type deux vagues), il est probable que la constante d'affinité du composé **03** pour le sodium dans ces conditions (acétonitrile, 0,1 mol.L⁻¹ de tétrafluoroborate de tétrabutylammonium) n'est pas très élevée.

En revanche, le voltammogramme présenté figure II-10 montre que la seconde vague d'oxydation n'est pas affectée par la présence de cations sodium.

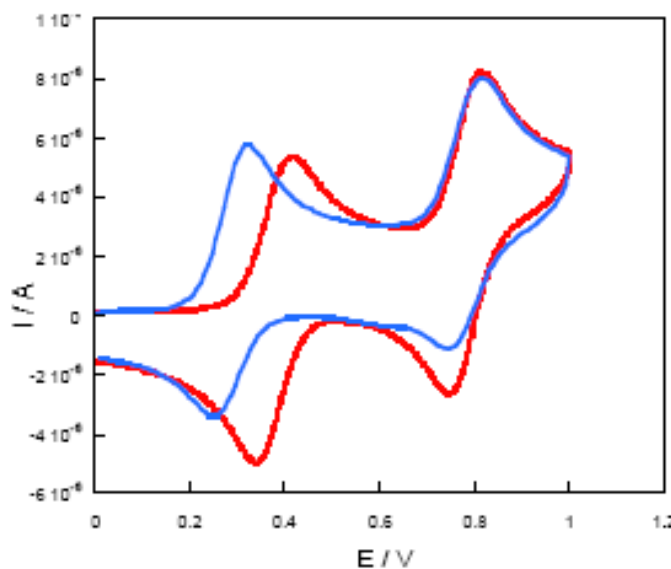


Figure II-10 : voltammogramme du composé **03**, 2 mmol.L⁻¹ en solution dans l'acétonitrile + Bu₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹, avant ajout de Na⁺ (en bleu), et après ajout de 10 équivalents de Na⁺ (en rouge) ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ceci prouve qu'entre la première et la seconde oxydation du composé **03**, le cation sodium a été relargué et n'est plus complexé par l'éther-couronne (cf. figure II-11). Le couplage étroit du centre redox phénylènediamine avec le ligand aza-éther-couronne, via un atome d'azote commun, permet,

comme prévu lors de la conception des composés, un excellent transfert de la perturbation électronique du centre redox vers le ligand, conduisant au relargage du cation sodium dans le milieu immédiatement après la première oxydation de la molécule **03**.

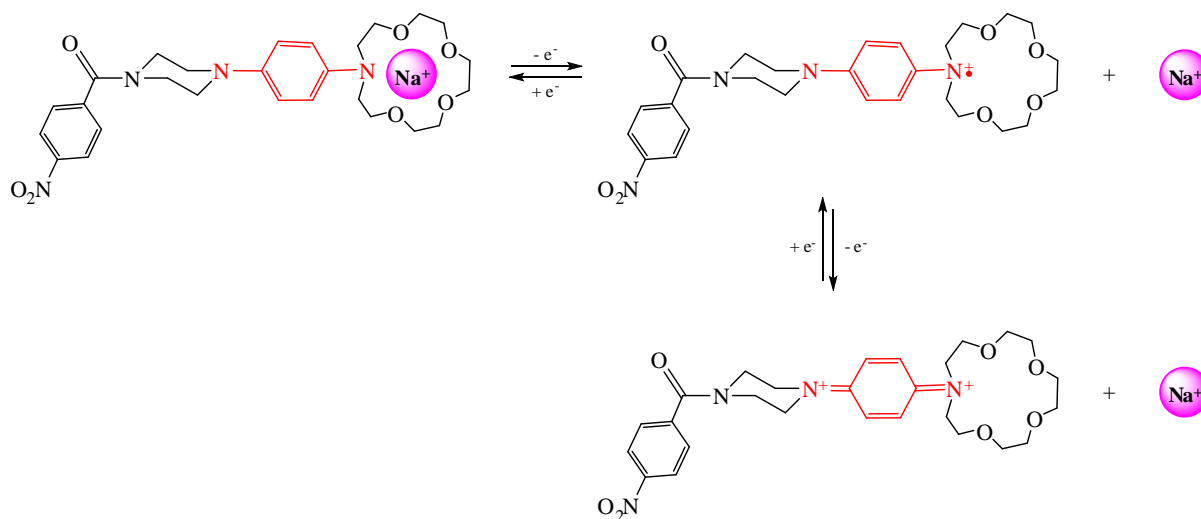


Figure II-11 : relargage du sodium, intervenant après la première oxydation du composé **03**

iii) En présence de cations calcium

La figure II-12 montre l'évolution du voltammogramme du composé **03** lors de l'ajout de calcium : les deux vagues d'oxydation monoélectroniques observées aux potentiels E_1^0 et E_2^0 lorsque la molécule **03** est seule en solution disparaissent, ⁶² et une nouvelle vague d'oxydation correspondant au transfert de deux électrons apparaît à un potentiel E_3^0 plus élevé (gain de 870 mV par rapport au potentiel E_1^0). Après ajout de un équivalent de Ca^{2+} , les deux vagues d'oxydation monoélectroniques correspondant au ligand libre ont disparu au profit de la vague d'oxydation biélectronique caractéristique du complexe.

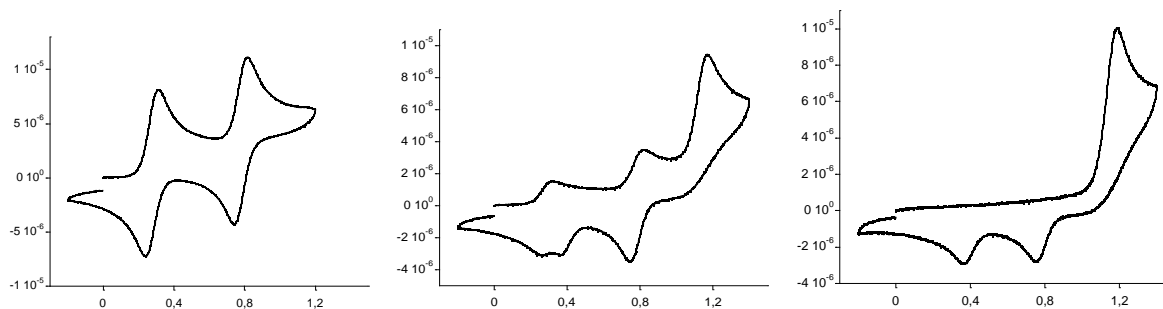


Figure II-12 : voltammogramme du composé **03**, 2 mmol.L⁻¹ en solution dans l'acétonitrile + Bu_4NBF_4 0,1 mol.L⁻¹, avant ajout de Ca^{2+} (à gauche), après ajout de 0,75 équivalent de Ca^{2+} (au centre), et de 1 équivalent de Ca^{2+} (à droite) ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ceci et le fait que ce système présente un comportement de type deux vagues redox ^{21, 22} sont des arguments en faveur d'une constante d'affinité du ligand **03** pour Ca^{2+} élevée dans ces conditions (acétonitrile, 0,1 mol.L⁻¹ de tétrafluoroborate de tétrabutylammonium).

En réduction, on observe toujours deux vagues monoélectroniques successives. La première de ces vagues, qui correspond au passage du dication de **03** au radical cation, n'est pas affectée par la présence de Ca^{2+} . En revanche, la seconde, qui correspond à la réduction du radical cation en l'espèce

neutre **03**, est déplacée vers les plus hauts potentiels. Ceci nous montre que lors du passage du dication au radical cation, c'est l'espèce libre qui est réduite : il y a donc eu éjection du calcium lors de l'oxydation. Le retour à la forme neutre du ligand est facilitée par la présence de calcium, immédiatement recomplexé après la seconde réduction, ce qui explique le déplacement de la seconde vague cathodique.

L'ensemble des étapes électrochimiques et chimiques mises en jeu lors de ce processus de relargage est présenté en figure II-13.

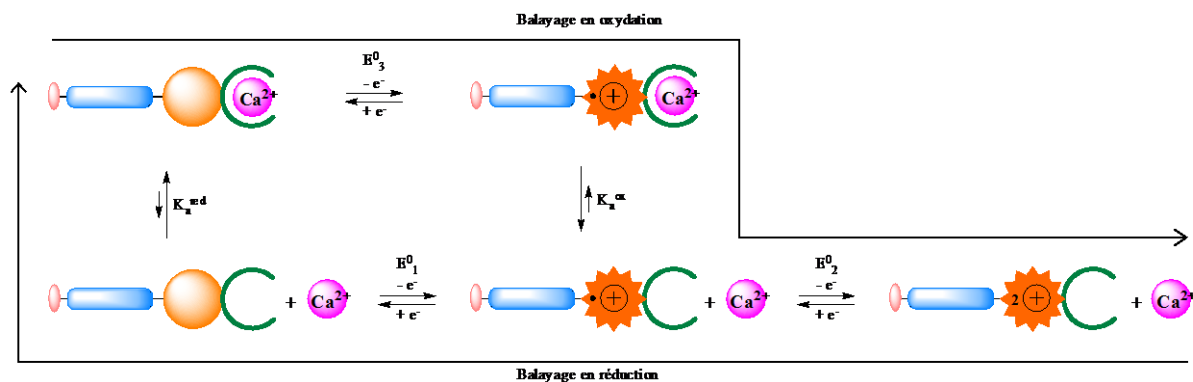


Figure II-13 : schéma carré présentant les étapes mécanistiques mises en jeu lors du relargage de Ca^{2+}

Lors d'un balayage en voltammétrie cyclique, on observe cette succession d'événements : Il y a tout d'abord complexation de Ca^{2+} par le ligand **03**. Puis le complexe formé est oxydé à un potentiel E_3^0 supérieur à E_2^0 . La décomplexation de Ca^{2+} intervient immédiatement après l'oxydation du ligand en radical cation. Il y a donc formation du radical cation de **03** à proximité de l'électrode qui se trouve à un potentiel supérieur au potentiel d'oxydation de ce radical cation en dication : la seconde oxydation du ligand est immédiate. L'éjection de Ca^{2+} et le second transfert d'électron étant rapides par rapport à l'échelle de temps de la voltammétrie, une seule vague d'oxydation biélectronique est donc observée. Cette cascade de trois étapes, un transfert d'électron, puis une réaction chimique, et finalement un autre transfert électronique, est caractéristique d'un mécanisme « ECE » en électrochimie. Lors du balayage retour, le dication est réduit en radical cation au potentiel E_2^0 (au même potentiel qu'en l'absence de calcium). Enfin, le radical cation est réduit en l'espèce neutre **03**, qui peut de nouveau complexer Ca^{2+} , complexation favorable et rapide. Deux étapes se succèdent donc rapidement : le transfert d'un électron, puis la complexation de Ca^{2+} par le ligand **03**. Cet enchaînement d'événements est la signature d'un mécanisme « EC » en électrochimie, permettant d'expliquer, pour des raisons cinétiques, le déplacement de la seconde vague de réduction vers les plus hauts potentiels.⁹²

b) En phase adsorbée

En prévision d'une utilisation à terme du principe de ce système pour relarguer du calcium au voisinage d'une cellule, des études en phase adsorbée ont été menées, afin d'étudier l'influence du confinement du système dans une SAM sur ses propriétés de relargage.

i) Obtention de SAMs mixtes

Une SAM mixte telle que présentée en figure II-14 peut être obtenue de deux façons.

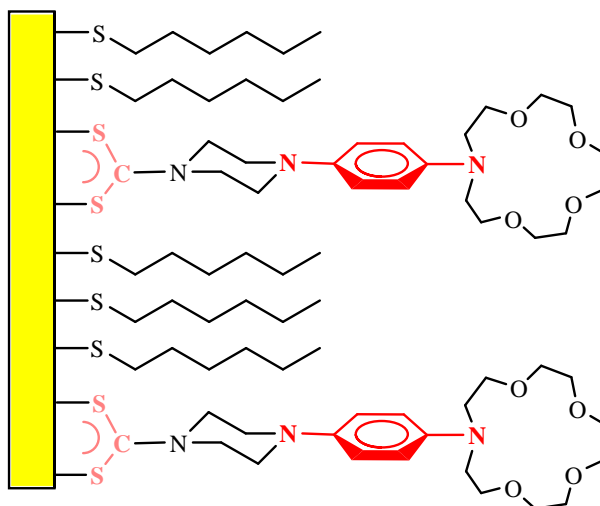


Figure II-14 : schéma d'une SAM mixte du dithiocarbamate **04** et de l'hexanethiol

L'incubation d'une électrode d'or dans une solution contenant le dithiocarbamate **04** et de l'hexanethiol avec un ratio 1/6 permet d'isoler une monocouche mixte.

L'autre méthode consiste à faire incuber une électrode d'or dans une solution contenant du disulfure de carbone, le composé **04** possédant une amine secondaire terminale, et de l'hexanethiol avec un ratio 1/2/6. Dans ce cas, le dithiocarbamate **04** est formé *in situ* en très petites quantités (la réaction est défavorable), et s'adsorbe immédiatement à la surface de l'électrode d'or, déplaçant ainsi l'équilibre chimique. Le rapport théorique dithiocarbamate **04** / hexanethiol est également de 1/6 avec cette méthode.

Les études ultérieures de ces électrodes modifiées ont montré que ces deux méthodes conduisent à l'obtention de SAMs mixtes d'organisation et de qualité comparables.

ii) Electrochimie

La figure II-15 présente le voltammogramme du composé **04** adsorbé sur électrode d'or en SAM mixte, et son évolution en présence de calcium.

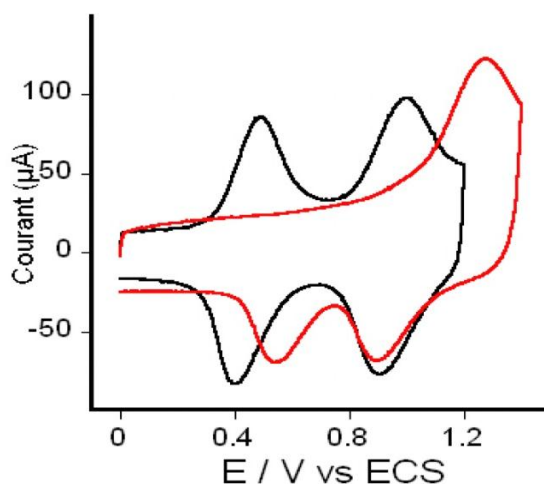


Figure II-15 : voltammogramme d'une SAM mixte du composé **04**, dans l'acétonitrile + Bu_4NBF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, avant ajout de Ca^{2+} (en noir), et après ajout de $0,92 \text{ mmol.L}^{-1}$ de Ca^{2+} (en rouge) ; vitesse de balayage 1 V.s^{-1} . WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Comme attendu, on constate qu'en l'absence de calcium, l'écart entre les pics d'oxydation et les pics de réduction respectifs est proche de 0, ce qui est caractéristique d'un composé électroactif greffé sur électrode.

En présence de calcium, le comportement de ce composé est similaire à celui observé pour le dérivé nitré **03** en solution : les deux vagues d'oxydation monoélectroniques observées aux potentiels E_0^1 et E_0^2 en l'absence de calcium disparaissent, ⁶² et une nouvelle vague d'oxydation, caractéristique du complexe, correspondant au transfert de deux électrons apparaît à un potentiel E_0^3 plus élevé.

En réduction, on observe toujours deux vagues monoélectroniques successives. La première de ces vagues, qui correspond au passage du dication de **04** au radical cation, n'est pas affectée par la présence de Ca^{2+} . En revanche, la seconde, qui correspond à la réduction du radical cation en l'espèce neutre **04**, est déplacée vers les plus hauts potentiels. Ceci nous montre que lors du passage du dication au radical cation, c'est l'espèce libre qui est réduite : il y a donc eu éjection du calcium lors de l'oxydation. Le retour à la forme neutre du ligand est facilitée par la présence de calcium, immédiatement recompléxé après la réduction, ce qui explique le déplacement de la seconde vague de réduction.

Ces résultats montrent que le confinement du système dans une SAM mixte n'affecte pas le processus de relargage présenté précédemment sous forme de schéma carré en figure II-13. Ceci permet d'envisager l'utilisation d'électrodes modifiées par des ligands en vue de relarguer du calcium au voisinage d'une cellule, moyennant la formation d'une SAM mixte stable avec un ligand opérationnel en milieu biocompatible. C'est pourquoi nous avons testé les capacités de relargage de ce ligand dérivé de l'aza-15-C-5 en milieu aqueux.

2) En milieu aqueux

La figure II-16 présente le voltammogramme du composé **04** adsorbé en SAM mixte sur électrode d'or, en l'absence et en présence de calcium. Seule la première vague d'oxydation réversible du système a été étudiée dans ces conditions, car le potentiel nécessaire pour atteindre la seconde vague d'oxydation provoque dans ce milieu une dégradation importante du système donc de la SAM, rendant impossible toute étude de cette seconde vague.

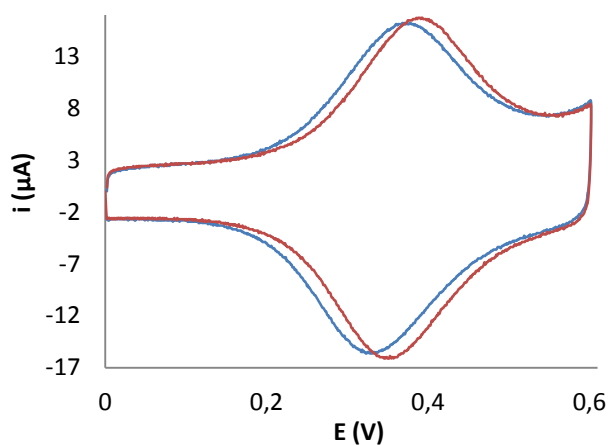


Figure II-16 : voltammogrammes du composé **04** adsorbé en SAM mixte sur électrode d'or, dans l'eau + NEt_4BF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, CE Pt, Ref ECS. En bleu, sans calcium ; en rouge, $[Ca^{2+}] = 1 \text{ mmol.L}^{-1}$.

On constate que le déplacement de la première vague d'oxydation du système induit par l'addition de calcium est beaucoup plus faible en milieu aqueux que dans l'acétonitrile (environ 20 mV). En effet, en milieu aqueux, le ligand est en compétition avec la sphère de solvation du cation, beaucoup plus stable que dans l'acétonitrile. La proportion de calcium complexé par le composé **04** est donc très faible.

Conclusion

Les composés associant l'aza-éther-couronne *N-15-C-5* comme ligand à une phénylènediamine comme centre redox nous ont permis de mettre en évidence le relargage de calcium en solution organique. Le principe du relargage de cation contrôlé par électrochimie est donc validé.

Par ailleurs, le relargage du calcium en milieu organique a également été observé en utilisant un composé immobilisé sur électrode en SAM mixte, montrant que les propriétés de relargage du système ne sont pas affectées par le confinement en SAM.

En revanche, ces composés se sont révélés presque inefficaces pour complexer (et donc relarguer) du calcium en milieu aqueux. Cela est dû à l'existence d'une sphère de solvation du cation très stable dans l'eau, qui empêche la complexation du calcium par les composés dérivés de l'aza-éther-couronne *N-15-C-5*. Pour pouvoir vaincre cette sphère de solvation et complexer le calcium en milieu aqueux, il est nécessaire d'opter pour un ligand ayant une affinité plus importante pour le calcium. C'est pourquoi nous nous sommes tournés vers des dérivés d'imino-di-acétate par la suite.

Chapitre III : Dérivés de l'imino-diacétate

Le ligand iminodiacétate, présenté en figure III-01, présente une affinité pour le calcium de l'ordre de 10^3 ($\log K_A = 3,34$ pour le *N*-éthyliminodiacétate, $\log K_A = 3,38$ pour le *N*-propyliminodiacétate),⁶⁷ soit une affinité pour le calcium similaire à celle du ligand *N*-15-C-5, donc probablement trop faible. En revanche, l'IDA est un très bon ligand des métaux de transition.

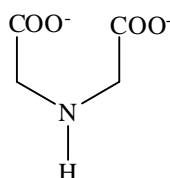


Figure III-01 : ligand iminodiacétate IDA

Bien que son affinité pour le calcium soit certainement trop faible, l'IDA a retenu notre attention car il s'agit d'une amine secondaire, tout comme le ligand *N*-15-C-5. Les stratégies de synthèse utilisées précédemment peuvent donc être réemployées après adaptation. Des dérivés basés sur la structure présentée en figure III-02 ont alors été préparés et étudiés.

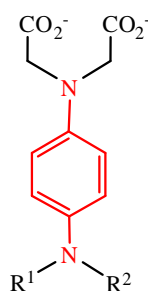


Figure III-02 : structure des ligands couplant une phénylènediamine à un iminodiacétate.

I) Synthèse

1) Préparation du composé 06

Le composé **06**, analogue du composé **01** dans lequel le ligand *N*-15-C-5 a été remplacé par le ligand IDA, a été préparé suivant la stratégie de synthèse présentée en figure III-03.

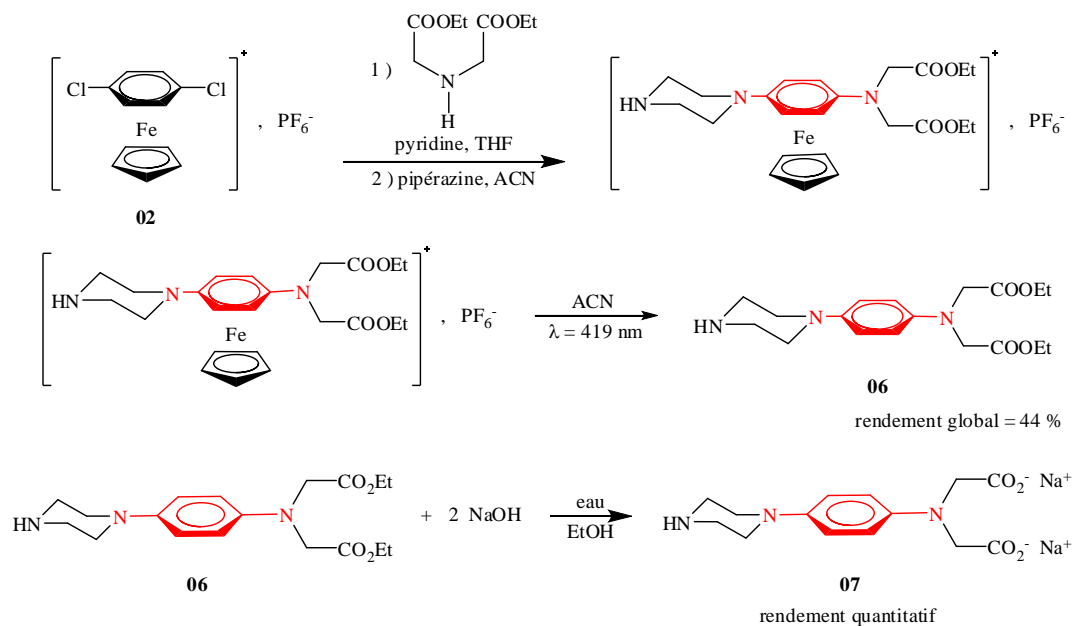


Figure III-03 : stratégie de synthèse des composés **06** et **07**

L'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentdiényl}](\eta^6\text{-(1,4-dichlorobenzène)fer(II)})$ **02** a été préparé comme décrit précédemment. La stratégie élaborée par Pearson *et al.*⁹¹ a ensuite été adaptée : le composé azoté le moins nucléophile, ici l'iminodiacétate de diéthyle, est ajouté en premier. Puis, lorsque la substitution du premier atome de chlore est complète, le second nucléophile azoté, ici la pipérazine, est ajouté. Lorsque la seconde $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ est terminée, le complexe η^6 résultant est photolysé par irradiation à $\lambda = 419 \text{ nm}$. Après purification, le composé **06** est isolé avec un rendement global sur les trois étapes de 44 %. Une réaction de saponification permet d'obtenir le dicarboxylate **07** avec un rendement quantitatif.

2) Préparation d'autres dérivés

a) Changement de groupe espaceur

Le composé **08** présenté figure II-04 a également été isolé. Ce dérivé pourrait être greffé à la surface d'une électrode modifiée portant des groupes nucléofuges par une réaction de substitution nucléophile. On peut également envisager d'introduire une nouvelle chaîne sur l'amine secondaire, portant un groupe fonctionnel permettant la fixation à la surface d'une électrode.

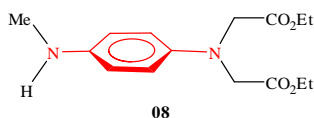


Figure III-04 : dérivé **08**

Ce composé a été obtenu par la stratégie de synthèse élaborée par Pearson *et al.*⁹¹ présentée ci-dessus, en utilisant la méthylamine à la place de la pipérazine. Le composé **08** a ainsi pu être isolé avec un rendement de 29 % à partir du complexe **02**. Malheureusement le degré de pureté de ce produit s'est avéré être insuffisant pour les études ultérieures et cette voie a été abandonnée.

Par cette même stratégie de synthèse, en remplaçant la pipérazine par la pipéridine, le dérivé **09** présenté en figure III-05 a été isolé au laboratoire par Filippo Ronzani avec un rendement de 45 % à partir du complexe **02**. Le dicarboxylate dérivé **10** a pu être isolé également par saponification du diester, avec un rendement quantitatif.

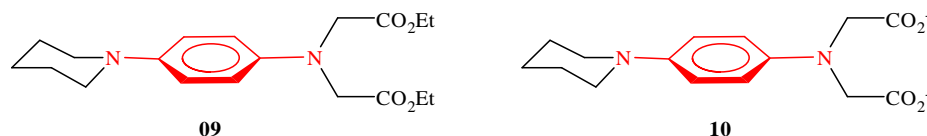


Figure III-05 : composés **09** et **10**

b) Dérivés soufrés

Le dithiocarbamate dérivé du dicarboxylate **07** a pu être isolé avec un rendement quantitatif par réaction de ce composé avec le disulfure de carbone en milieu basique, suivant la stratégie déjà employée précédemment (cf. figure III-06).⁹⁴

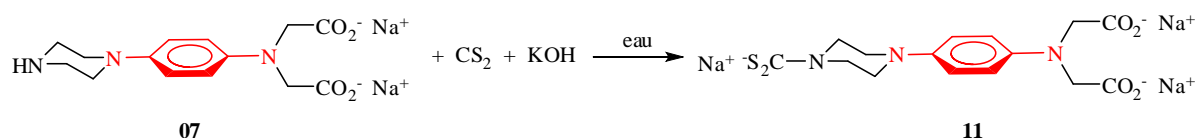


Figure III-06 : dérivé **11**

En revanche, cette stratégie de synthèse ne peut être employée avec des composés portant des groupes fonctionnels sensibles aux conditions basiques. Cette réaction n'est donc pas envisageable sur le dérivé diester **06**. Cependant, la formation de SAMs *in situ* en milieu neutre reste possible.

II) Etudes

1) En milieu organique

a) En solution

i) Composés seuls en solution

Deux voltammogrammes du composé **06** en solution dans l'acétonitrile sont présentés en figure III-07. Ce composé présente une première vague d'oxydation réversible E_1^0 , correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation, comme attendu. En revanche, à de plus hauts potentiels, deux nouvelles vagues d'oxydation apparaissent, mais d'amplitude environ moitié de la première, et quasi-irréversibles. Leur balayage provoque une perte partielle de la réversibilité de la première vague d'oxydation E_1^0 . Ces deux nouvelles vagues d'oxydation pourraient être attribuées à l'évolution du produit d'oxydation du radical-cation issu de la phénylènediamine en dication, et à l'oxydation de l'amine secondaire terminale, ces deux oxydations étant rendues irréversibles en raison de la dégradation des produits d'oxydation, ainsi qu'à l'oxydation irréversible de l'aniline : cette oxydation s'accompagnant d'une dimérisation, *via* un mécanisme impliquant le transfert de plusieurs électrons.^{96, 97}

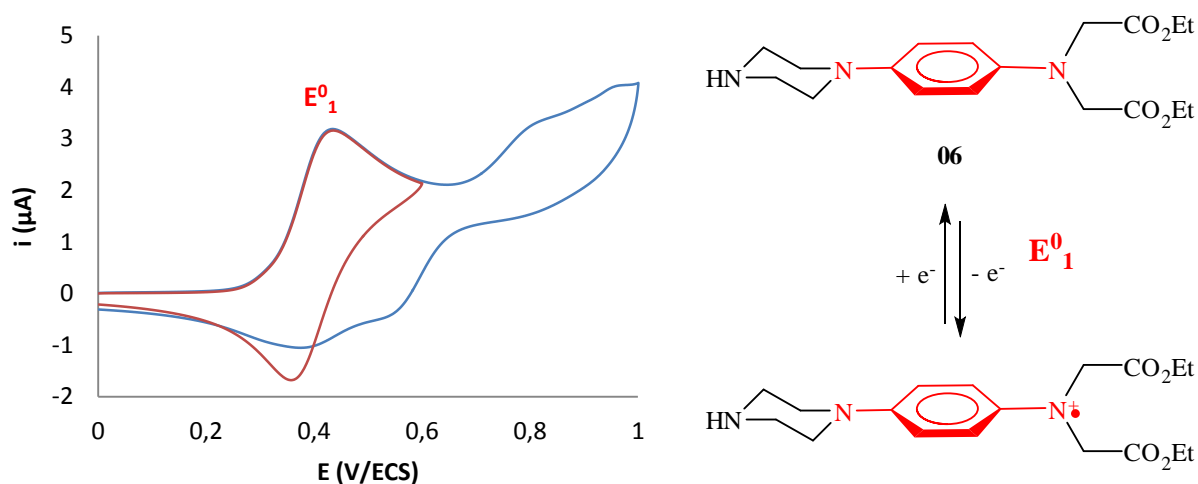


Figure III-07 : voltammogrammes du composé **06**, 2 mmol.L⁻¹ dans l'acétonitrile + Et₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage 0,1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Afin de s'assurer que l'oxydation de l'amine secondaire terminale n'est pas seule responsable de la perte de réversibilité du système, les dérivés portant une chaîne pipéridine ont été étudiés. Le tableau II-01 présente les valeurs de potentiel de pics et de potentiels de demi-pics par rapport à l'ECS pour le dicarboxylate portant une chaîne pipéridine **10**, le diester portant une chaîne pipérazine **06**, le dérivé d'éther-couronne **03** et la tétraméthylphénylènediamine (TMPD) dans l'acétonitrile en présence de tétrabutylammonium de tétrafluoroborate à 0,1 mol.L⁻¹.

Composé	1 ^{ère} vague d'oxydation E ⁰ ₁				2 ^{ème} vague d'oxydation E ⁰ ₂			
	E _p ^a	E _p ^c	E _{1/2}	ΔE _p	E _p ^a	E _p ^c	E _{1/2}	ΔE _p
TMPD	0,155 V	0,089 V	0,122 V	66 mV	0,732 V	0,664 V	0,698 V	68 mV
03	0,323 V	0,240 V	0,282 V	83 mV	0,826 V	0,743 V	0,785 V	83 mV
06	0,435 V	0,358 V	0,397 V	77 mV	0,817 V	-	-	-
10	0,420 V	0,346 V	0,383 V	77 mV	0,826 V	-	-	-

Tableau II-01 : comparatif des potentiels caractéristiques de la TMPD et des composés **03**, **06** et **10** par rapport à l'ECS dans l'acétonitrile + Bu₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que l'absence de l'amine secondaire dans le composé **10** ne permet pas de retrouver la réversibilité de la seconde vague d'oxydation de la phénylènediamine. Il semble donc que l'irréversibilité de cette vague soit liée à la présence de groupes carboxylés (carboxylates ou esters) au voisinage immédiat du centre redox. Une voie de dégradation possible du dication est la perte de l'un des groupes carboxylés. En raison de la perte de réversibilité du système à des potentiels élevés, les études ultérieures se concentreront sur la première vague d'oxydation réversible de ce système.

Par ailleurs on constate que le passage d'un ligand aza-éther-couronne à un ligand IDA-diester provoque une augmentation des potentiels caractéristiques de la première vague d'oxydation de la phénylènediamine. En effet le substituant IDA-diester est plus inductif attracteur que l'éther-couronne : la phénylènediamine est donc plus appauvrie en densité électronique, et par conséquent plus difficile à oxyder. Une fois saponifié en dicarboxylate, le substituant IDA garde des propriétés d'inductif attracteur quasi-similaires à celles du diester. En revanche, le passage d'un espaceur pipérazine à un espaceur pipéridine s'accompagne d'une baisse du potentiel d'oxydation de la

phénylènediamine. En effet, la pipérazine a un effet inductif attracteur plus fort que la pipéridine, et rend donc la phénylènediamine plus difficile à oxyder.

ii) *En présence de cations calcium*

La figure III-08 montre l'évolution du voltammogramme du diester **06** lors de l'ajout d'un équivalent de calcium, en se limitant à l'étude de la première vague d'oxydation du centre redox phénylènediamine. On constate une diminution de l'intensité de la vague d'oxydation, attribuée à un effet de dilution due à l'ajout de solution de calcium, et surtout à une dégradation partielle et irréversible du produit, très certainement par oxydation. On remarque également que le potentiel d'oxydation du composé est très légèrement affecté par la présence de calcium.

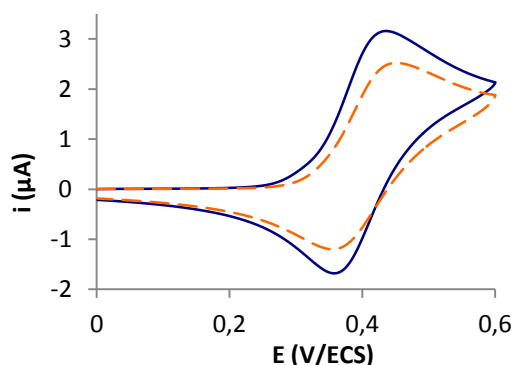


Figure III-08 : voltammogramme du composé **06**, 2 mmol.L^{-1} dans l'acétonitrile + Et_4NBF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$,
 — avant ajout de Ca^{2+} (en violet), - - après ajout de 1 équivalent de Ca^{2+} (en orange) ;
 vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Un léger déplacement du potentiel d'oxydation vers les plus hauts potentiels a été observé lorsqu'on ajoute trois à cinq équivalents de cations calcium. Ce système présentant un comportement de type déplacement de vague redox,^{21, 22} il est probable que la constante d'affinité du diester **06** pour le calcium dans l'acétonitrile est faible.

b) *En phase adsorbée*

Des SAMs pures du diester **06** ont pu être obtenues sur électrode d'or par incubation d'une électrode dans une solution contenant le composé **06** et du disulfure de carbone (ratio 1/2). Des SAMs mixtes ont également été préparées en ajoutant à la solution d'incubation de l'hexanethiol (ratio **06**/CS₂/hexanethiol : 1/2/6). La figure III-09 présente des voltammogrammes d'une SAM mixte du diester **06** à la surface d'une demi-sphère d'or, en l'absence et en présence de calcium. On observe un très léger déplacement non-significatif de la première vague d'oxydation du centre redox lors de l'ajout de calcium. Ceci confirme les résultats obtenus en solution : l'affinité de ce ligand pour le calcium est très faible dans l'acétonitrile.

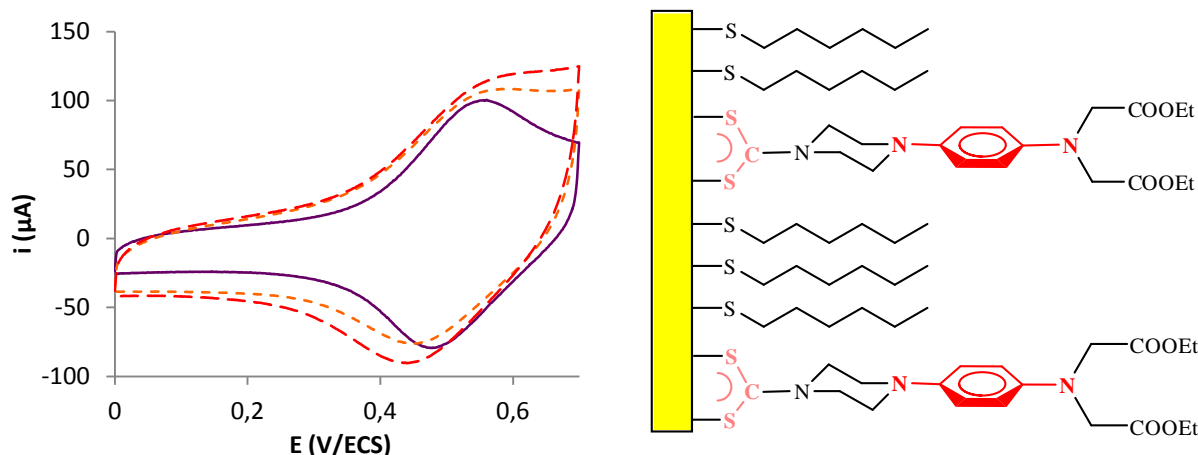


Figure III-09 : voltammogrammes d'une SAM mixte du composé **06**, dans l'acétonitrile + Et_4NBF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, — avant ajout de calcium, après ajout de $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ de calcium, - - - après ajout de $0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$ de calcium ; vitesse de balayage 20 V.s^{-1} . WE : hémisphère d'or, CE : Pt, Ref : ECS.

2) En milieu aqueux

a) Spectrophotométrie UV-visible

La figure III-10 présente le spectre UV-visible du dérivé **10** en milieu aqueux. On constate que ce composé présente deux bandes d'absorption, l'une avec un coefficient d'extinction molaire de l'ordre de $20000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 260 nm , et l'autre avec un coefficient d'extinction molaire de l'ordre de $2500 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 300 nm .

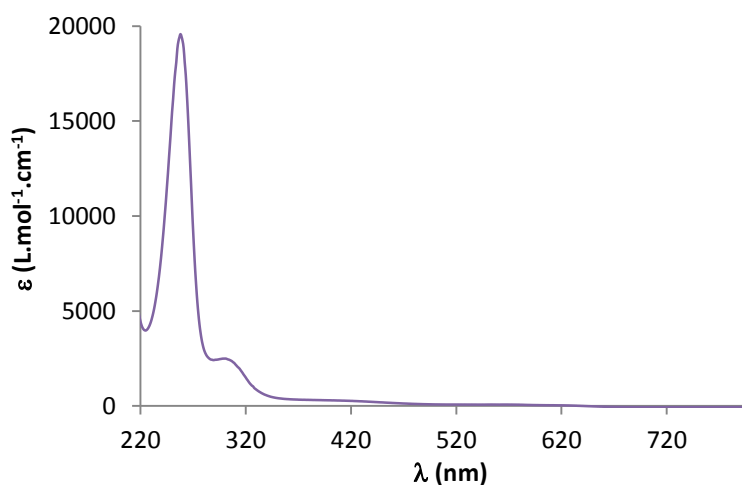


Figure III-10 : spectre UV-visible du dérivé **10** $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + MOPS 10 mmol.L^{-1} + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$

La bande d'absorption la plus intense correspond très probablement à une transition électronique d'une orbitale π vers une orbitale π^* , et l'autre à une transition électronique d'une orbitale n vers une orbitale π^* .

L'ajout de cations calcium ne modifie pas le spectre UV-visible du composé. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce résultat. Le complexe et le ligand peuvent avoir des spectres d'absorption identiques, ce qui signifierait que la complexation d'un cation calcium par le ligand n'affecte pas la densité électronique du ligand : ceci traduirait une interaction métal-ligand très faible. Une autre possibilité est une reconnaissance trop faible du cation par le ligand, et l'absence de

formation d'un complexe en quantité suffisante pour être détectable. L'affinité des ligands de type IDA pour le calcium est très faible dans l'acétonitrile. Il est possible qu'en milieu aqueux ces ligands ne complexent pas le calcium qui y est encore plus fortement solvaté.

b) Electrochimie

Cette partie a été effectuée en collaboration avec Filippo Ronzani dans le cadre de son stage de Master au laboratoire.

i) Composés seuls en solution

La figure III-11 présente le voltammogramme du composé **10** en milieu aqueux. On observe une première vague d'oxydation monoélectronique réversible, suivie d'une seconde vague d'oxydation irréversible. La première vague d'oxydation correspond à l'oxydation de la phénylènediamine en radical-cation. La seconde vague d'oxydation est large et polyélectronique : elle correspond certainement en partie à l'oxydation du radical-cation de la phénylènediamine en dication, ainsi qu'à des phénomènes de suroxydation avec passivation de l'électrode (cf. figure III-11, graphe B).

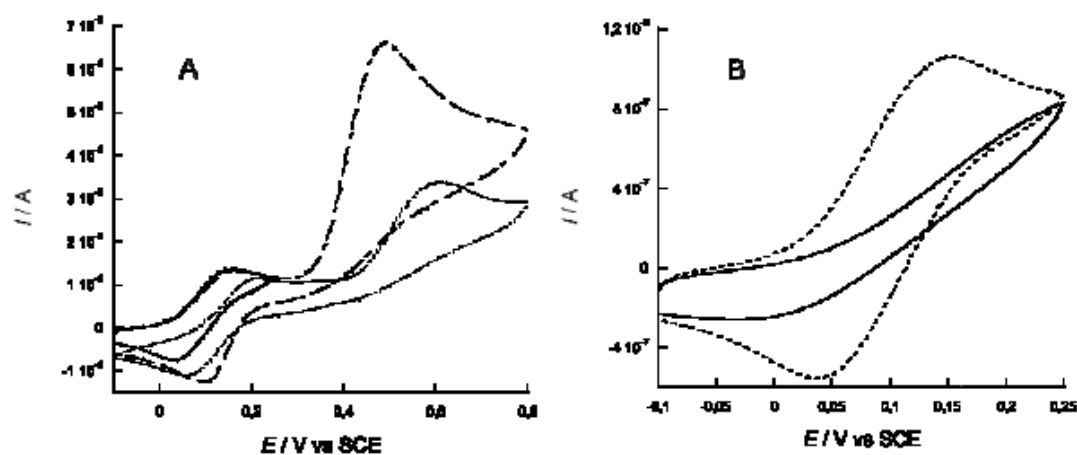


Figure III-11 : voltammogrammes du composé **10**, $1,2 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; vitesse de balayage : $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Graphe A : voltammogrammes correspondant aux premier et huitième balayages sur la gamme de $-0,1$ à $0,8 \text{ V/ECS}$, et comparaison avec le voltammogramme obtenu sur la gamme de $-0,1$ à $0,25 \text{ V/ECS}$.

Graphe B : voltammogrammes obtenus sur la gamme de $-0,1$ à $0,25 \text{ V/ECS}$ avant (pointillé) et après (trait plein) huit balayages sur la gamme de $-0,1$ à $0,8 \text{ V/ECS}$.

En raison de la passivation de l'électrode liée à la seconde oxydation, nous nous sommes limités à l'étude de la première vague d'oxydation.

On constate qu'à la vitesse de balayage de 1 V.s^{-1} , les pics d'oxydation et de réduction s'espacent (cf. figure III-12) : ceci montre que le transfert électronique est plutôt lent.

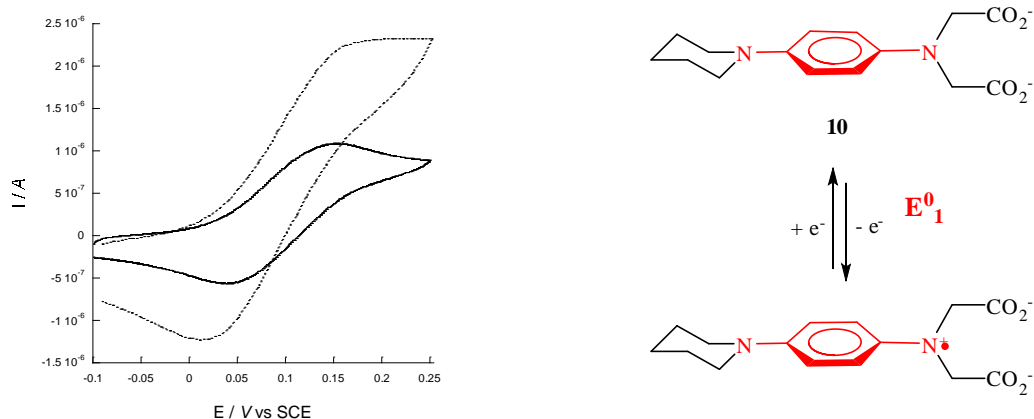


Figure III-12 : voltammogrammes du composé **10**, $1,2 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; vitesse de balayage : en trait plein $0,1 \text{ V.s}^{-1}$, en pointillé 1 V.s^{-1} ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

La figure III-13 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **10** en fonction de la vitesse de balayage. On constate que le courant de pic augmente linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage, comportement caractéristique d'un système en solution régi par la diffusion.

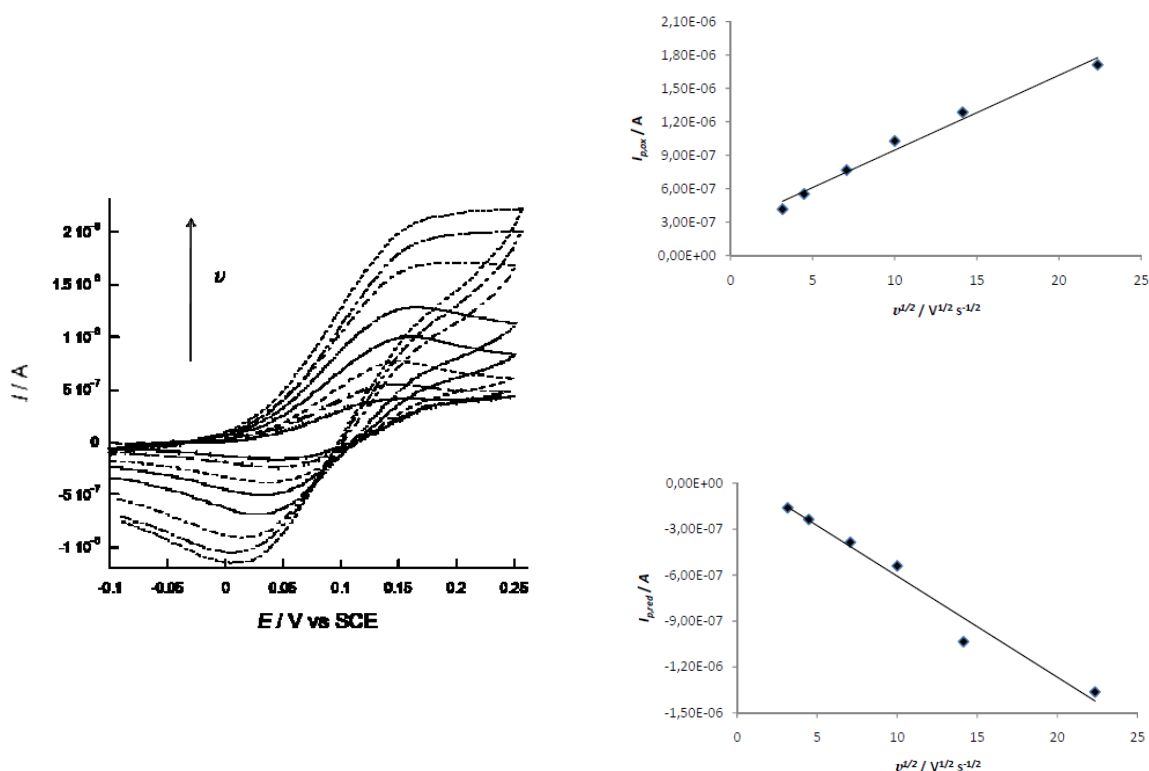


Figure III-13 : évolution du voltammogramme du composé **10** dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ en fonction de la vitesse de balayage ($0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 0,8$ et 1 V.s^{-1}); WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Le tableau III-02 présente les valeurs de potentiel de pics et de potentiels de demi-pics par rapport à l'ECS pour le dicarboxylate portant une chaîne pipérazine **07**, le dicarboxylate portant une chaîne pipéridine **10** et la tétraméthylphénylènediamine (TMPD) dans l'acétonitrile en présence de chlorure de potassium à $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$.

Composé	1 ^{ère} vague d'oxydation E ⁰ ₁				2 ^{ème} vague d'oxydation E ⁰ ₂			
	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p
TMPD	0,035 V	-0,032 V	0,0015 V	67 mV	0,464 V	0,396 V	0,430 V	68 mV
07	0,193 V	0,075 V	0,134 V	118 mV	0,429 V	-	-	-
10	0,175 V	0,070 V	0,123 V	105 mV	0,520 V	-	-	-

Tableau II-02 : comparatif des potentiels caractéristiques de la TMPD et des composés **07** et **10** par rapport à l'ECS dans l'eau + KCl 0,2 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Comme pour la TMPD, les potentiels caractéristiques des vagues d'oxydation des dérivés d'IDA **07** et **10** sont plus bas en milieu aqueux que dans l'acétonitrile. Ce décalage est dû à la plus forte solvation des espèces chargées en milieu aqueux. Ce décalage mis à part, les résultats obtenus en milieu aqueux sont semblables à ceux observés dans l'acétonitrile :

- la seconde vague d'oxydation des dérivés d'IDA est irréversible, en raison de la présence de groupes carboxylates au voisinage du centre redox. Il est à noter qu'une dégradation du produit d'oxydation par réaction chimique avec l'eau est également envisageable ici.
- le passage d'un espaceur pipérazine à un espaceur pipéridine s'accompagne d'une baisse du premier potentiel d'oxydation de la phénylènediamine. En effet, la pipérazine a un effet inductif attracteur plus fort que la pipéridine, et rend donc la phénylènediamine plus difficile à oxyder.

ii) En présence de cations métalliques

La figure III-14 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **10** lors de l'ajout de calcium. On constate que les voltammogrammes sans et avec un équivalent de calcium sont parfaitement superposables. L'interaction entre le ligand et le cation est donc extrêmement faible et sans effet sur le potentiel d'oxydation du ligand.

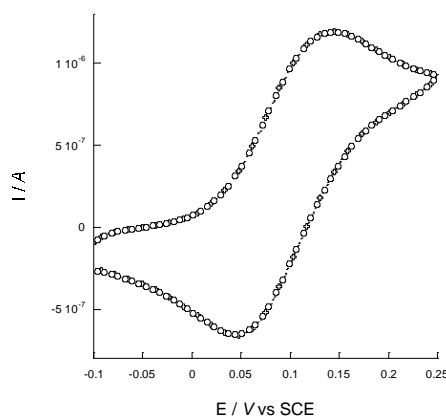


Figure III-14 : voltammogrammes du composé **10**, 1,15 mmol.L⁻¹ dans l'eau + TRIS 0,05 mol.L⁻¹ + NaCl 0,05 mol.L⁻¹, sans Ca²⁺ (croix), et avec un équivalent de Ca²⁺ (cercles) ; vitesse de balayage 0,1 V.s⁻¹ ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Un résultat similaire a été obtenu avec le dérivé **07**. Ceci indique que les ligands de type IDA ne complexent pas le calcium en milieu aqueux, confirmant le comportement observé par spectrophotométrie UV-visible. Ce résultat était cependant attendu au vu de la complexation déjà très faible dans l'acétonitrile, milieu où les ions calcium sont bien moins fortement solvatés.

L'IDA étant connu pour être un bon ligand des métaux de transition, quelques cations de différents métaux de transition ont alors été ajoutés.

En présence de cobalt Co^{2+} ou de manganèse Mn^{3+} , les résultats obtenus sont non-reproductibles. Le cuivre n'a pu être utilisé car il n'est pas stable électrochimiquement dans la gamme de potentiels utilisée : la superposition de l'oxydation du cuivre et du ligand a rendu toute analyse impossible.

La figure III-15 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **10** lors de l'ajout de zinc. On observe un léger déplacement de cette vague vers les plus hauts potentiels en présence de Zn^{2+} .

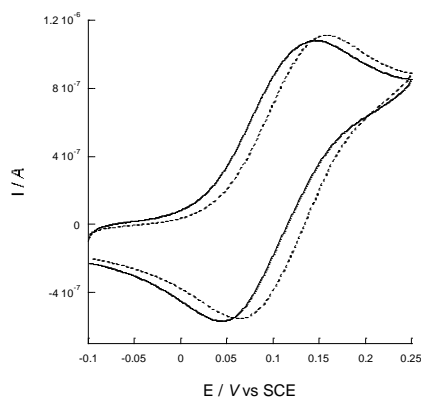


Figure III-15 : voltammogrammes du composé **10**, $1,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, sans Zn^{2+} (trait plein), et avec $0,6$ équivalent de Zn^{2+} (pointillé) ; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ce déplacement de vague montre que le composé **10** détecte la présence de cation zinc. Cependant, au vu de ce comportement de type déplacement de vague, il est probable que la constante d'affinité du ligand pour le zinc n'est pas très élevée, et donc que ce système est trop peu sensible et trop peu sélectif pour présenter un grand intérêt comme système de détection du zinc.

La figure III-16 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **10** lors de l'ajout de nickel. On observe une diminution de l'intensité de cette vague d'oxydation lors de l'ajout de Ni^{2+} .

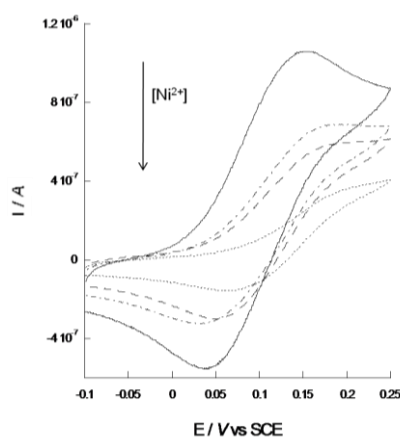


Figure III-16 : voltammogrammes du composé **10**, $1,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, sans Ni^{2+} (trait plein), avec $0,5$ équivalent de Ni^{2+} (-•-•-•-), 1 équivalent de Ni^{2+} (- - - -) et 3 équivalents de Ni^{2+} (.....) ; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Il est probable qu'une nouvelle vague apparaît à un potentiel plus élevé : le comportement de ce système serait de type deux vagues en présence de nickel, soit un comportement de capteur à nickel à détection électrochimique avec une constante d'affinité pour Ni^{2+} élevée. Malheureusement, en raison de la passivation de l'électrode à des potentiels plus élevés, nous n'avons pu mettre en évidence l'apparition de cette nouvelle vague d'oxydation. La sélectivité de ce système pour Ni^{2+} a alors été étudiée : des résultats similaires à ceux présentés en figure III-16 ont été obtenus même en présence de Ca^{2+} , Co^{2+} et Zn^{2+} . Ce système détecte donc sélectivement la présence de nickel, et pourrait être utilisé, après étalonnage, pour déterminer la concentration en nickel d'un milieu inconnu par électrochimie. En revanche, l'irréversibilité de ce système à des potentiels plus élevés rend impossible l'observation de l'apparition de la nouvelle vague redox : on ne peut donc pas déterminer la constante d'affinité de ce ligand pour le nickel par voltammétrie cyclique. La seconde vague d'oxydation du système ne pouvant être étudiée, il n'est pas non plus possible de mettre en évidence le relargage éventuel du cation dans le milieu.

Il est à noter que de nombreux essais de préparation de SAMs ont été menés, mais sans donner de résultats exploitables en milieu aqueux.

Conclusion

Les composés associant l'imino-diacétate (IDA) comme ligand à une phénylènediamine comme centre redox ont une affinité trop faible pour le calcium pour pouvoir détecter la présence de cet ion en milieu aqueux par électrochimie ou par spectrophotométrie.

Par ailleurs, le comportement électrochimique de ces composés a mis en évidence l'irréversibilité de la seconde vague d'oxydation, ainsi que la dégradation du produit avec passivation de l'électrode induit par le balayage des potentiels correspondant à cette seconde vague redox. Il est donc plus difficile d'exploiter les propriétés de cette vague redox.

En revanche, ces dérivés se sont révélés être de bons ligands de certains métaux de transition, en particulier pour le nickel. Ils pourraient donc être employés comme capteurs à nickel. Cette option n'étant pas de grand intérêt pour la problématique principale abordée dans cette thèse, cette piste n'a pas été davantage explorée.

Afin d'observer la complexation du calcium en milieu aqueux, il est indispensable d'opter pour un ligand ayant une affinité plus importante pour le calcium. C'est pourquoi nous nous sommes tournés vers des dérivés de type « demi-BAPTA ».

Chapitre IV : dérivés de type « demi-BAPTA »

Le ligand *ortho*-aminophéno-*N,N,O*-triacétate (APTRA), présenté en figure IV-01, a été préparé pour la première fois en 1958 par Freedman et Frost,⁹⁸ par réaction de l'acide chloracétique sur l'*ortho*-aminophéno-*N,N,O*-triacétate.

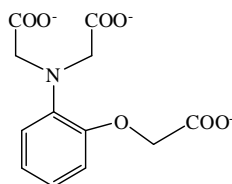


Figure IV-01 : ligand *ortho*-aminophéno-*N,N,O*-triacétate (APTRA)

Ce ligand s'est révélé avoir une bonne affinité pour le magnésium ($K_a \approx 10^3$) et pour le calcium ($K_a \approx 3,3 \cdot 10^4$) dans la gamme de pH physiologique.⁹⁹ Ce ligand a donc une meilleure affinité pour le calcium que pour le magnésium. Cependant, les concentrations physiologiques en calcium et en magnésium étant respectivement de l'ordre de 100 nmol.L^{-1} et 1 mmol.L^{-1} , ce ligand a une affinité pour le magnésium suffisamment élevée pour capter ce cation en milieu biologique, et son affinité pour le calcium est trop faible pour détecter sélectivement cet ion en milieu biologique. Des dérivés de ce ligand ont donc été préparés et utilisés pour déterminer la concentration en ions Mg^{2+} de certains milieux biologiques, comme le cytosol,¹⁰⁰ mais aussi comme indicateurs de Ca^{2+} à faible affinité.^{99, 101}

Notre objectif étant de préparer des ligands ayant une forte affinité pour le calcium, il est à craindre que ce ligand ne soit pas adapté. La meilleure option serait de préparer des ligands dérivés du BAPTA (*cf.* figure IV-02), ligand dont la constante d'affinité pour le calcium est de l'ordre de 10^7 , et ayant une excellente sélectivité pour le calcium par rapport au magnésium.⁶⁹

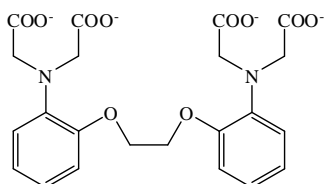


Figure IV-02 : ligand 1,2-bis(2-aminophénoxy)éthane-*N,N,N',N'*-tétraacétate (BAPTA)

Cependant, l'obtention de dérivés de BAPTA dissymétriques n'étant pas aisée, nous avons envisagé la synthèse d'un « demi-BAPTA », composé dérivé du 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy) diacétate présenté en figure IV-03.

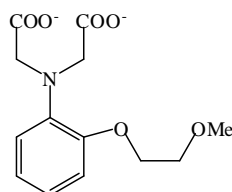


Figure IV-03 : 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy)diacétate

Ce ligand est un dérivé de l'APTRA dans lequel la fonction carboxylate de la chaîne latérale est remplacée par une fonction éther, ce qui permet d'obtenir une structure proche d'un BAPTA. Les propriétés des dérivés de ce ligand devraient donc être proches de celles de l'APTRA, mais la stratégie de synthèse élaborée devrait se rapprocher de celle à mettre en œuvre pour préparer des dérivés de BAPTA, et ainsi nous permettre un accès plus facile aux dérivés de BAPTA ultérieurement. Pour ces deux raisons, nous avons préparé et étudié des dérivés de type « demi-BAPTA », couplant une phénylènediamine au 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phényl)azanediyldiacétate (cf. figure IV-04).

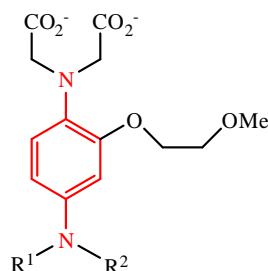


Figure IV-04 : dérivé de type « demi-BAPTA ».

I) Synthèse

1) Elaboration de la stratégie de synthèse

La rétrosynthèse d'un dérivé comme présenté en figure IV-04 est détaillée en figure IV-05. La transformation des fonctions esters en fonctions carboxylates, facilement accessible par une réaction de saponification, n'est pas représentée.

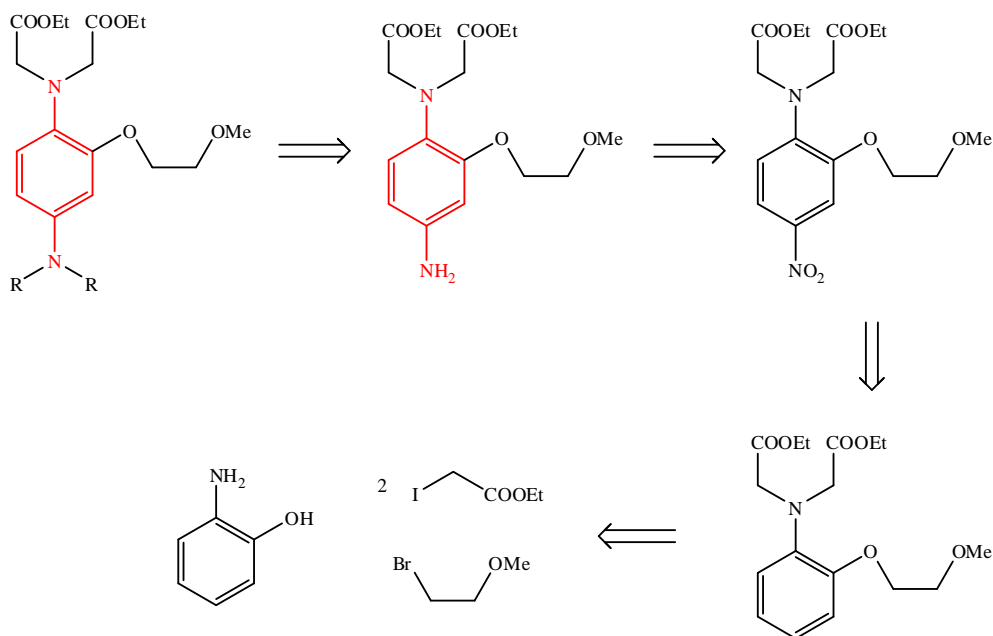


Figure IV-05 : rétrosynthèse d'un dérivé de type « demi-BAPTA ».

Le diester final pourrait être obtenu par double alkylation d'une amine aromatique primaire issue du dérivé nitré correspondant par simple réduction. L'étape-clé de la synthèse est la mononitration du 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle, permettant d'introduire le second atome d'azote nécessaire à la formation du centre redox, une *para*-phénylènediamine. Enfin, ce dérivé

pourrait provenir d'une suite de réactions entre trois produits commerciaux : l'*ortho*-aminophénol, le iodoacétate d'éthyle et le 2-bromo-1-méthoxyéthane. L'utilisation judicieuse de groupes protecteurs devrait permettre l'alkylation sélective des deux groupes fonctionnels de l'*ortho*-aminophénol.

2) Synthèse du précurseur nitré 12

Afin de préparer des composés de type « demi-BAPTA », nous avons isolé le précurseur nitré **12** dont la synthèse est présentée en figure IV-06. Pour introduire des substituants différents sur l'oxygène et sur l'azote de l'*ortho*-aminophénol, il est nécessaire de discriminer ces deux atomes qui ont une réactivité très proche en protégeant soit la fonction amine, soit la fonction alcool. Cela permet de faire réagir la fonction restée libre, puis, après déprotection, de faire réagir l'autre fonction. Le plus simple est d'opter pour une protection de l'amine : en effet, le produit avec protection de l'amine par une fonction acétamide, l'*ortho*-acétamidophénol, est commercial. Nous avons donc élaboré la synthèse à partir de ce composé.

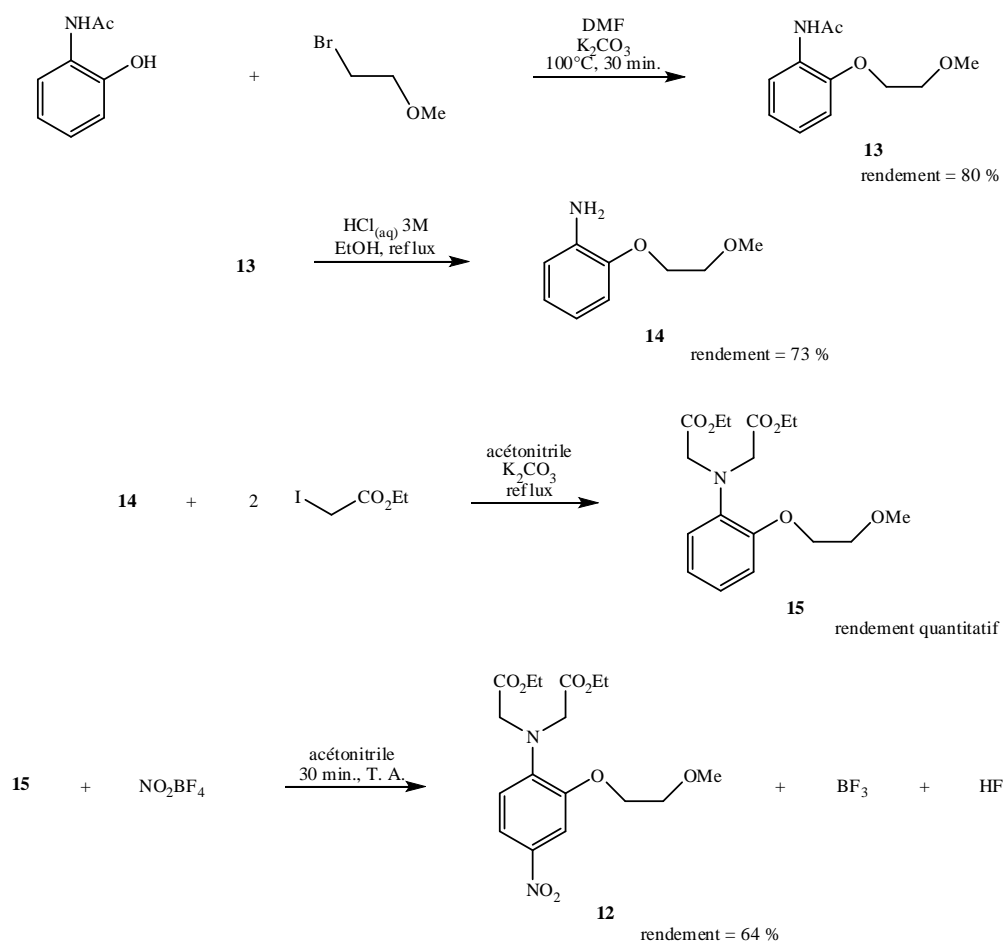


Figure IV-06 : synthèse de l'intermédiaire nitré **12**.

Les trois premières étapes de cette stratégie sont inspirées de stratégies de synthèse de dérivés de BAPTA publiées par Akkaya *et al.*¹⁰² et Tsien *et al.*¹⁰³ L'*ortho*-acétamidophénol est converti en éther **13** par réaction de Williamson sur le 1-bromo-2-méthoxyéthane. Après hydrolyse en milieu acide de l'acétamide, l'aniline résultante **14** est transformée en diester **15** par une double réaction de S_N2 sur l'iodoacétate d'éthyle avec un rendement quantitatif.

Les premiers essais de nitration du dérivé **15** par les méthodes classiques de nitration des aromatiques n'ont pas permis d'obtenir le dérivé souhaité. En milieu acétique et en présence d'acide nitrique concentré, aucune réaction n'a été observée sur le composé **15**. Si de l'acide sulfurique est ajouté au mélange précédent, le composé dinitré en positions 4 et 6 est exclusivement isolé. Nous avons alors mené des tests avec le tétrafluoroborate de nitronium en adaptant le protocole employé par Stagliano *et al.*¹⁰⁴ En nous plaçant dans les conditions stœchiométriques, nous avons pu isoler le dérivé mononitré souhaité **12** avec un rendement de 64 %. Il est à noter qu'en cas d'excès de tétrafluoroborate de nitronium, le composé dinitré en positions 4 et 6 se forme immédiatement. Il est donc souhaitable de suivre l'avancée de la réaction par CCM, afin d'ajuster au mieux la quantité de tétrafluoroborate de nitronium à employer.

3) Synthèse de dérivés de type « demi-BAPTA »

Par réduction du dérivé nitré en l'amine correspondante, il est très facile d'isoler la phénylènediamine **16** avec un rendement quantitatif (*cf.* figure IV-07). Cependant, ce produit étant très facilement oxydable, il est préparé selon les besoins et utilisé directement pour les étapes ultérieures.

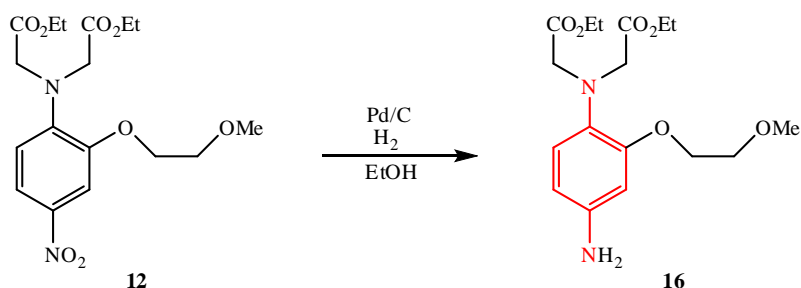


Figure IV-07 : synthèse du composé **16**.

Afin d'éviter de gaspiller ce produit, les réactions de fonctionnalisation de l'amine primaire ont été testées sur la morpholinoaniline.

Nous avons tout d'abord tenté de fonctionnaliser cet azote par réaction d'amination réductrice en présence de deux équivalents de benzaldéhyde et de cyanoborotrihydrure de sodium. La réaction-modèle sur la morpholinoaniline a conduit à l'obtention du produit disubstitué **17** présenté en figure IV-08.

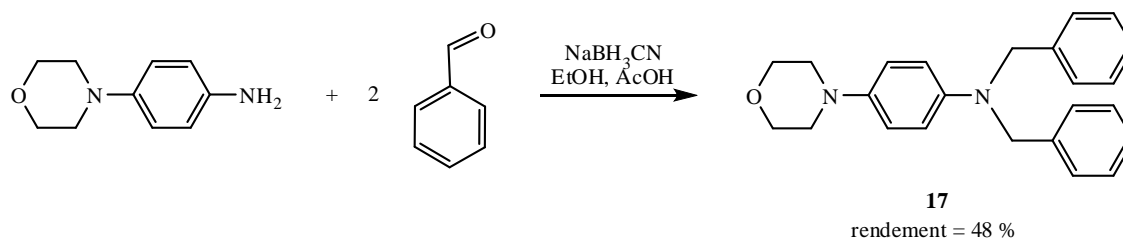


Figure IV-08 : synthèse de la N,N-dibenzyl-4-morpholinoaniline **17**.

Mais la réaction similaire sur le dérivé **16** a mené à l'obtention du produit monosubstitué **18** avec un rendement de 76 % (*cf.* figure IV-09).

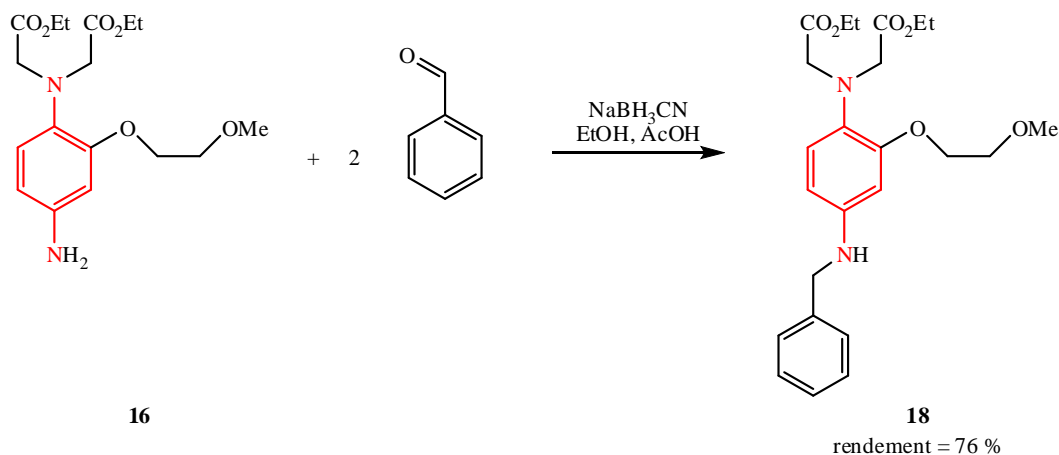


Figure IV-09 : synthèse du composé **18**.

La réaction d'amination réductrice ne permettant qu'une monofonctionnalisation de l'azote terminal du composé **16**, nous avons alors envisagé une réaction de substitution nucléophile pour transformer l'amine secondaire en amine tertiaire. Afin de tester cette réaction, un composé-modèle dérivé de la morpholinoaniline a été préparé par réaction de la morpholinoaniline avec un équivalent de benzaldéhyde en présence de cyanoborotrihydrure de sodium : la *N*-benzyl-4-morpholinoaniline **19** a été isolée avec un rendement de 89 %. Ce produit a alors été mis en présence de *para*-tosylate de but-3-yne en milieu basique, pour conduire, après chauffage à reflux, à l'obtention du produit de substitution **20** présenté en figure IV-10.

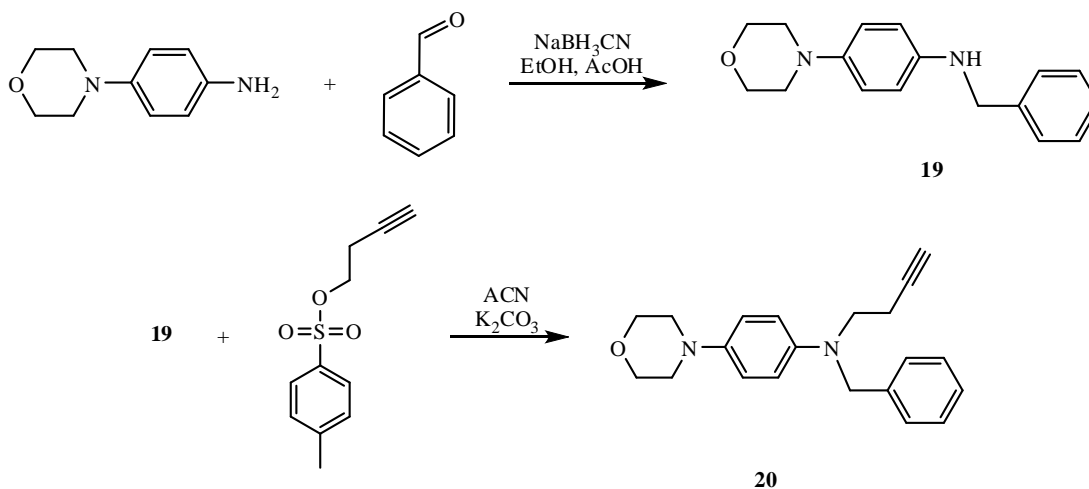
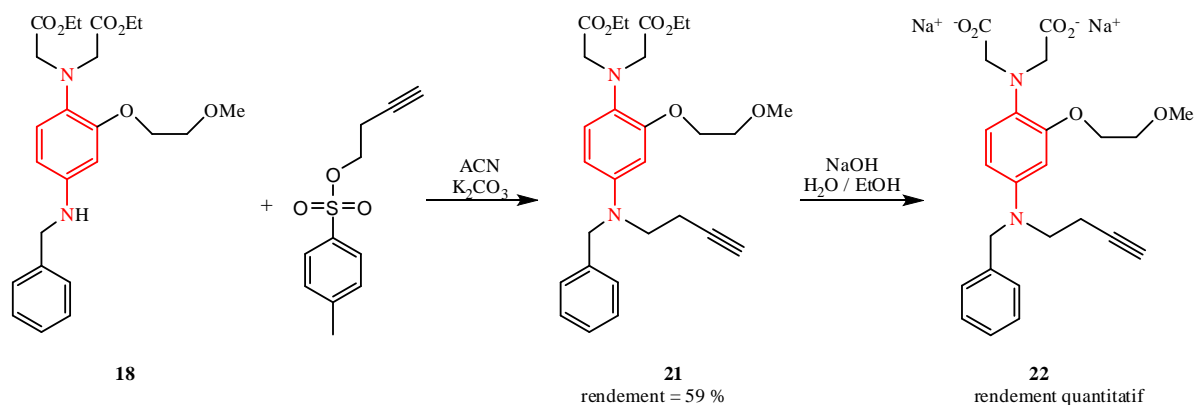
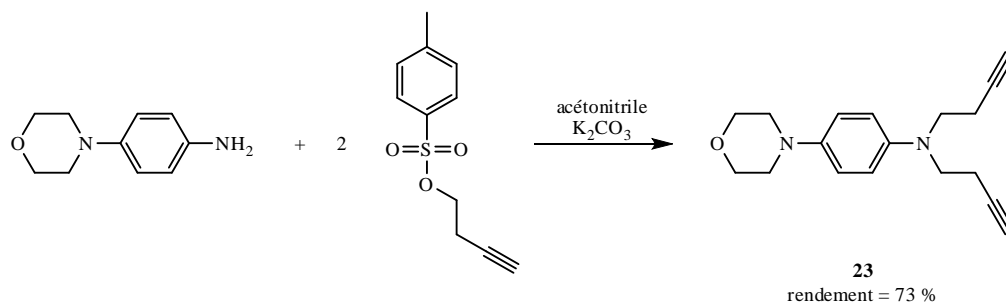


Figure IV-10 : synthèse du composé-modèle **20**.

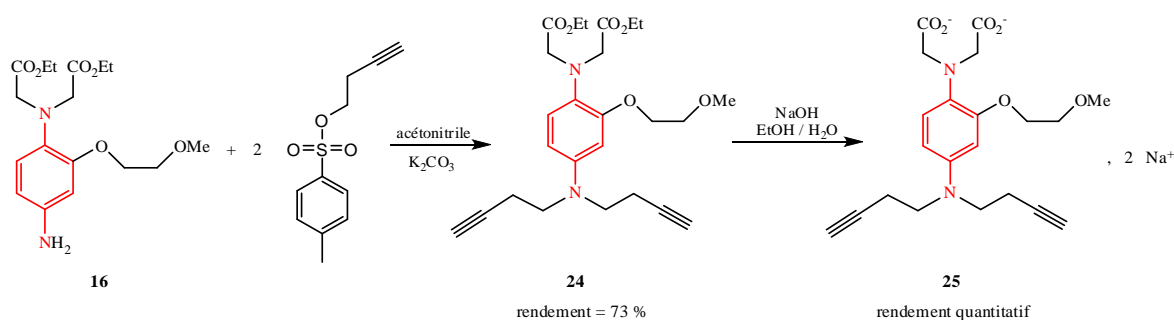
La réaction similaire a alors été menée sur le produit **18**, et a permis, après une semaine de chauffage à reflux, d'obtenir le produit désiré **21** (cf. figure IV-11). Une réaction de saponification a ensuite mené à l'obtention du dicarboxylate correspondant **22**.


 Figure IV-11 : synthèse du composé **22**.

Nous avons alors cherché à savoir si la réaction de substitution nucléophile pouvait avoir lieu deux fois et mener à l'obtention d'un dérivé portant deux chaînes identiques. Cette réaction a donc été testée sur la morpholinoaniline : en présence de de *para*-tosylate de but-3-ynyle et d'une base, nous avons obtenu le dérivé symétrique **23** (cf. figure IV-12).


 Figure IV-12 : synthèse de la N,N-di(but-3-ynyl)-4-morpholinoaniline **23**.

La réaction similaire a alors été menée sur le produit **16**, et a permis, après une semaine de chauffage à reflux, d'obtenir le produit désiré **24** (cf. figure IV-13). Une réaction de saponification a ensuite mené à l'obtention du dicarboxylate correspondant **25**.


 Figure IV-13 : synthèse du composé **25**.

Les fonctions alcyne ayant des propriétés redox, elles peuvent être gênantes pour des études en solution. Par conséquent, le dialcane **26** dérivé du dialcyne **24** a été préparé par hydrogénation catalytique avec un rendement quantitatif (cf. figure IV-14). Une réaction de saponification permet ensuite d'obtenir le dicarboxylate correspondant **27** avec un rendement quantitatif.

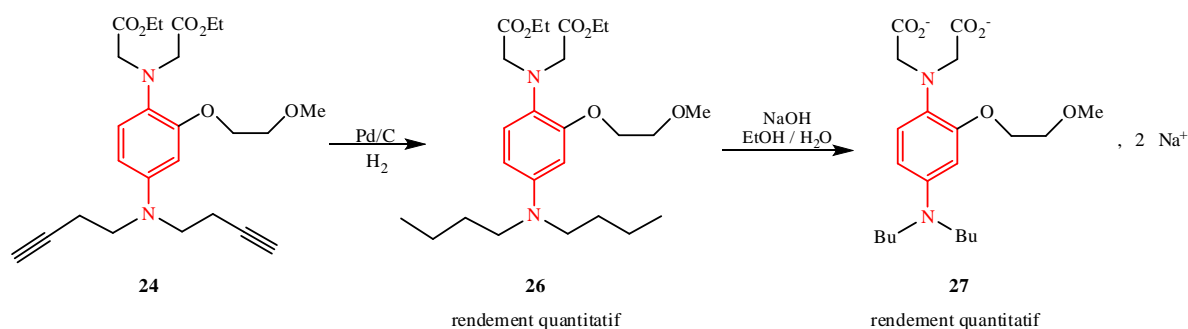


Figure IV-14 : synthèse du composé **26**.

II) Etudes en solution

1) Caractérisation du système : étude sans cations

a) En milieu organique

Les premières études électrochimiques ont été menées en milieu acétonitrile sur le dérivé **26**, afin de caractériser et comparer ce nouveau système aux précédents. Quelques voltammogrammes sont présentés en figure IV-15.

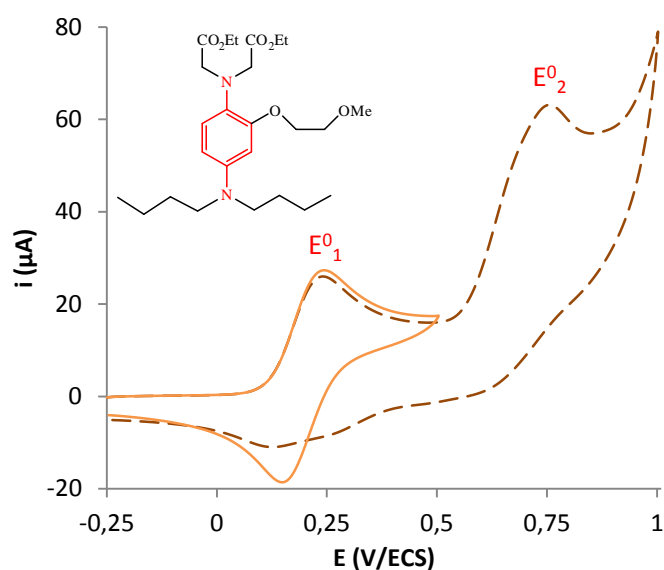


Figure IV-15 : voltammogrammes du composé **26** 1 mmol.L^{-1} dans l'acétonitrile + NBu_4ClO_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; vitesse de balayage 200 mV.s^{-1} ; WE : GC (5 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que le dérivé **26** présente une première vague d'oxydation monoélectronique réversible E^0_1 , puis une seconde vague d'oxydation polyélectronique irréversible E^0_2 , et dont le balayage entraîne la perte de réversibilité de la première vague. Ce nouveau système présente donc un comportement électrochimique similaire à celui des dérivés d'IDA.

Le tableau IV-01 présente les valeurs de potentiel de pic et de potentiel de demi-pic par rapport à l'ECS pour le dérivé d'éther-couronne *N*-15-C-5 **03**, le diester dérivé d'IDA portant une chaîne pipérazine **06**, le dicarboxylate dérivé d'IDA portant une chaîne pipéridine **10**, et le nouveau système **26**.

Composé	1 ^{ère} vague d'oxydation E ⁰ ₁				2 ^{ème} vague d'oxydation E ⁰ ₂			
	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p
TMPD	0,155 V	0,089 V	0,122 V	66 mV	0,732 V	0,664 V	0,698 V	68 mV
03	0,323 V	0,240 V	0,282 V	83 mV	0,826 V	0,743 V	0,785 V	83 mV
06	0,435 V	0,358 V	0,397 V	77 mV	0,817 V	-	-	-
10	0,420 V	0,346 V	0,383 V	77 mV	0,826 V	-	-	-
26	0,241 V	0,150 V	0,196 V	91 mV	0,733 V	-	-	-

Tableau IV-01 : comparatif des potentiels caractéristiques de la TMPD et des composés **03**, **06**, **10** et **26** par rapport à l'ECS dans l'acétonitrile + Bu₄NBF₄ 0,1 mol.L⁻¹ ; vitesse de balayage 1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate alors que ce nouveau dérivé **26** présente des potentiels caractéristiques inférieurs à ceux des dérivés d'IDA, ce qui signifie que ce produit est plus facilement oxydable que les dérivés d'IDA. Ceci est dû à la présence d'une chaîne latérale oxygénée : cette chaîne a un effet mésomère donneur, enrichissant ainsi la phénylènediamine en densité électronique. Il est alors plus facile d'arracher un électron au centre redox.

b) En milieu aqueux

L'ensemble des études détaillées dans cette partie ont été menées sur le composé **27** présenté en figure IV-16, à l'exception de quelques expériences menées sur le précurseur dialcyne **25**, et des toutes premières études électrochimiques, menées sur le dérivé benzyle-alcyne **22**.

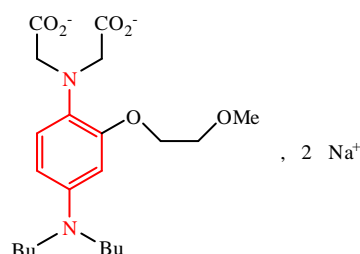


Figure IV-16 : 2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de disodium **27**.

i) pH-métrie

Le dosage pH-métrique du ligand **27** a été effectué afin de déterminer les pK_a de cette espèce (cf. figure IV-17), sur un volume de 10 mL d'une solution de concentration initiale en ligand de l'ordre de 3 mmol.L⁻¹, soit une quantité de ligand de l'ordre de 3.10⁻² mmol.

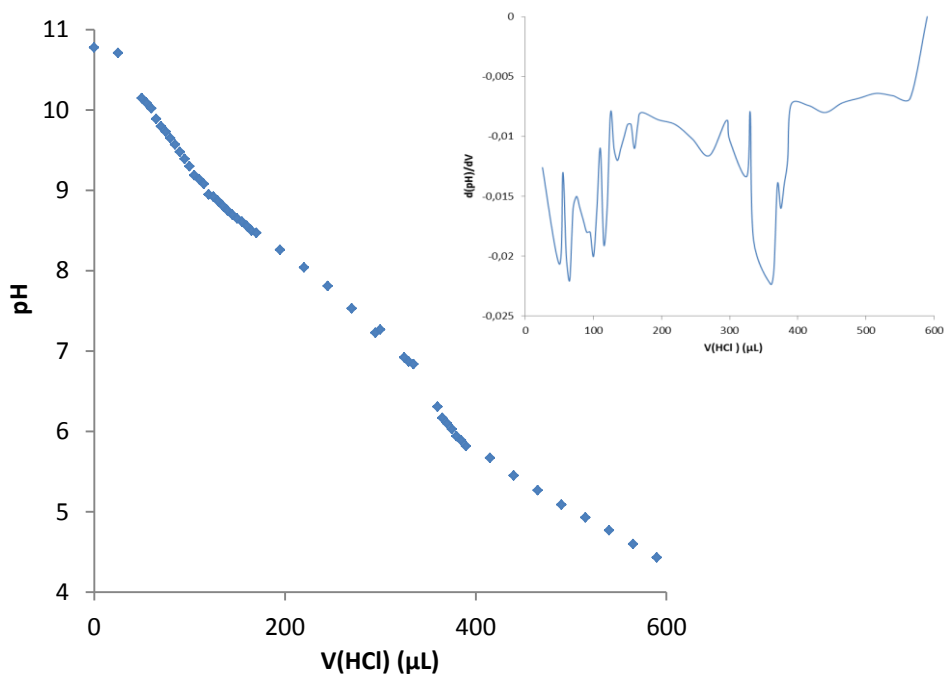


Figure IV-17 : courbe de dosage pH-métrique du composé **27** par l'acide chlorhydrique 0,1 mol.L⁻¹.
Encart : dérivée de cette courbe par rapport au volume d'acide chlorhydrique ajouté.

On observe un saut de pH à pH = 6,3, pour un volume équivalent d'acide chlorhydrique ajouté de 360 μL, soit une quantité d'acide ajoutée de $3,6 \cdot 10^{-2}$ mmol. La concentration initiale exacte en ligand était donc de 3,6 mmol.L⁻¹. Le pK_a du couple acide/base mis en jeu est le pH obtenu lorsqu'un volume d'acide chlorhydrique égal à la moitié du volume équivalent, soit 180 μL, a été ajouté : on trouve alors un pK_a de 8,4 pour ce couple. Cette valeur est beaucoup trop élevée pour que le couple acide/base mis en jeu soit un couple acide carboxylique / carboxylate. En effet le pK_a d'un tel couple est de l'ordre de 4 à 5. Le couple acide/base mis en jeu est donc le couple ammonium / amine présenté en figure IV-18, correspondant à la protonation de la phénylènediamine.

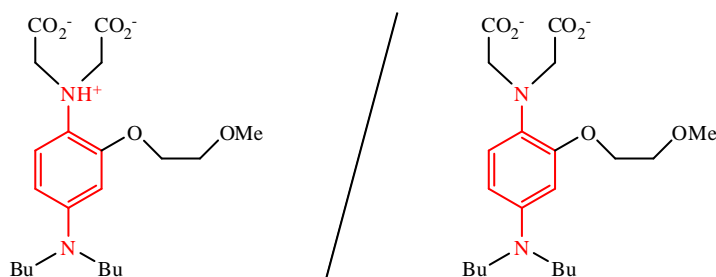


Figure IV-18 : couple acide/base du composé **27** pour lequel pK_a = 8,4.

Ceci signifie donc que dans la gamme de pH physiologique (soit pH ≈ 7), la forme prédominante est la forme acide zwitterionique ammonium-dicarboxylate. La forme basique dianionique amine-dicarboxylate est prédominante pour des pH d'environ 10 ou supérieurs.

ii) Spectrophotométrie UV-visible

➤ Solution à pH 7

Le dérivé **27** a été étudié par spectrophotométrie UV-visible en milieu aqueux tamponné (pH = 7,4). La forme prédominante du composé **27** est donc la forme acide zwitterionique ammonium-dicarboxylate. Le spectre de ce composé est présenté en figure IV-19.

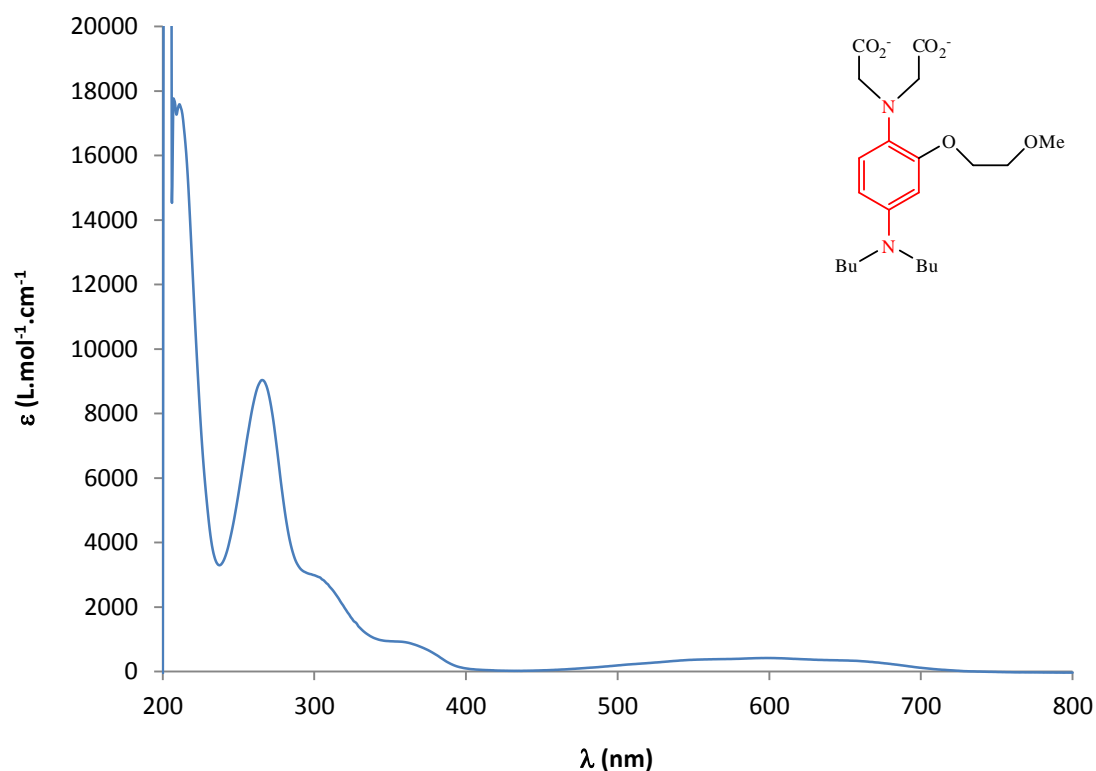


Figure IV-19 : spectre UV-visible du composé **27** $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,4$.

On constate que le composé **27** présente quatre bandes d'absorption. La première de ces bandes présente un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $9\,000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 265 nm , la seconde (épaule de la première) un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $3\,000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 300 nm , la troisième un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $900 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 360 nm , et la quatrième a un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $400 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 600 nm . La bande d'absorption la plus intense (à 265 nm) correspond très probablement à une transition électronique d'une orbitale π vers une orbitale π^* , et celle à 300 nm à une transition électronique d'une orbitale n vers une orbitale π^* . Les deux autres bandes, de faible intensité, correspondent très probablement à des transitions électroniques interdites de spin.

➤ Etude à pH variant entre 7,5 et 10

Par ailleurs, le ligand **27** ayant un pK_a de 8,4, nous nous sommes intéressés à l'influence du pH dans une gamme d'environ 7 à 10 sur le spectre UV-visible du ligand. Les spectres obtenus sont présentés en figure IV-20.

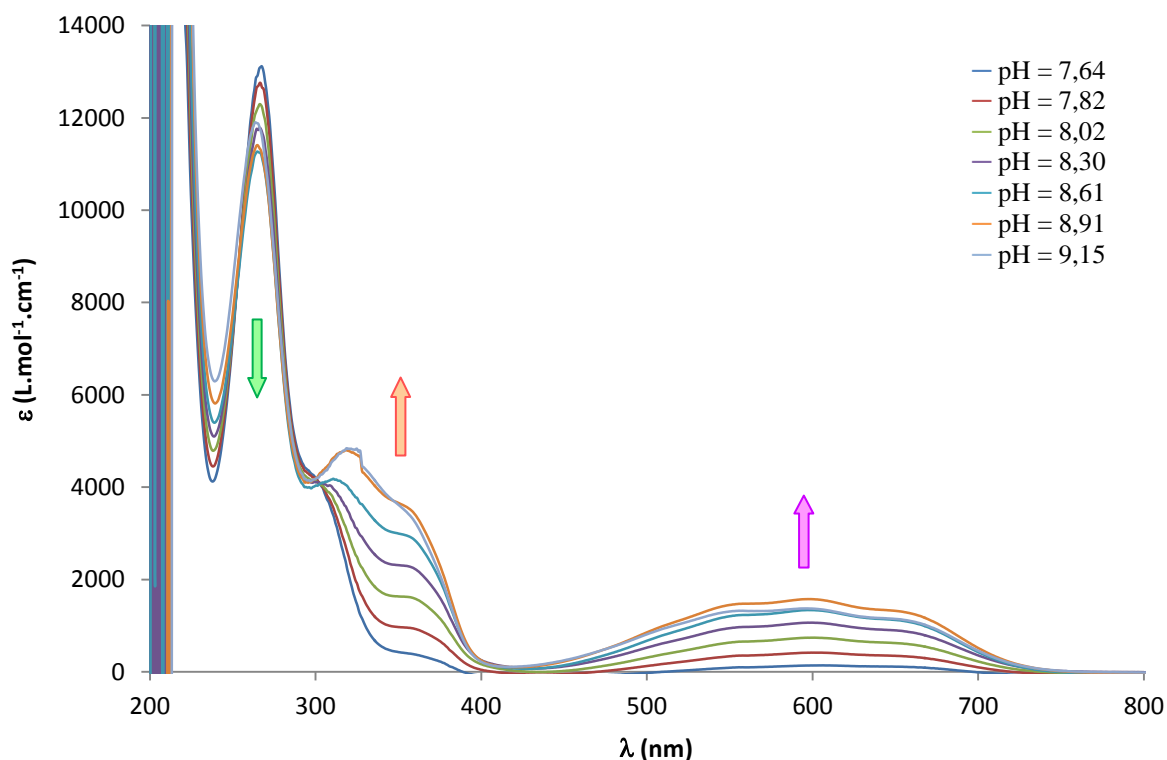


Figure IV-20 : spectres UV-visibles du composé **27** dans l'eau + MOPS 0,03 mol.L⁻¹ + KCl 0,1 mol.L⁻¹.

Tout d'abord, on constate qu'à pH = 9,15, le ligand commence à se dégrader. Pour cette raison, les spectres obtenus à des pH plus élevés ne sont pas exploitables, néanmoins, on peut observer une diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande à 265 nm, accompagnée d'un léger déplacement de cette bande vers les plus faibles longueurs d'onde. On observe également une augmentation du coefficient d'absorption molaire des bandes à 360 nm et 600 nm. En outre, la bande d'absorption à 300 nm disparaît, tandis qu'une nouvelle bande apparaît à 320 nm. On constate alors qu'il existe un point isobestique pour une longueur d'onde de 308 nm.

Malheureusement, en raison de la dégradation du produit vers pH 9, il n'a pas été possible de caractériser la forme basique du composé **27** par spectrophotométrie UV-visible.

iii) Voltammétrie cyclique

Les dérivés benzyle-alcyne **22**, dialcyne **25** et dialcane **27** ont alors été étudiés par voltammétrie cyclique en milieu aqueux.

➤ Solution à pH 7

Les premières études ont été menées à un pH proche du pH physiologique, soit un pH proche de 7 (7,2 ou 7,4 selon le tampon utilisé). Dans ces conditions, la forme prédominante du ligand utilisé est la forme acide zwitterionique ammonium-dicarboxylate.

Nous avons tout d'abord étudié le premier dérivé obtenu, le composé benzyle-alcyne **22**. Deux voltammogrammes de ce dérivé sont présentés en figure IV-21.

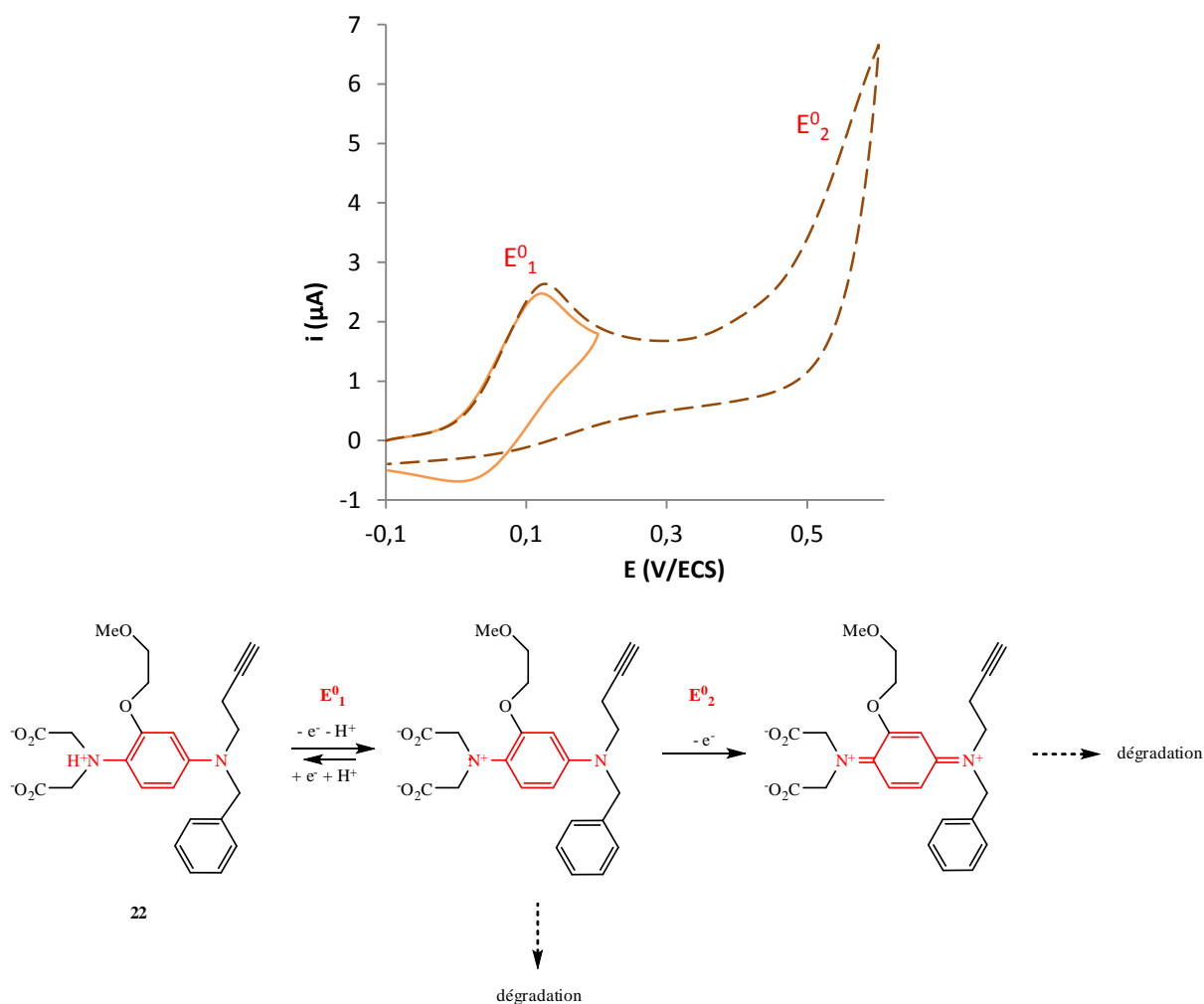


Figure IV-21 : voltammogrammes du composé **22** 5 mmol.L^{-1} dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,4$; vitesse de balayage 100 mV.s^{-1} ; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

Ce composé présente, comme attendu, deux vagues d'oxydation successives. Mais, contrairement à ce qui a été observé pour les dérivés d'IDA, la première vague d'oxydation monoélectronique E_1^0 , correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation, n'est que partiellement réversible. Le radical-cation se dégrade donc partiellement. Il est possible que cette dégradation soit due à la déprotonation irréversible du radical-cation en position benzylique, suivie de réactions altérant le centre redox. En revanche, la seconde vague d'oxydation E_2^0 est, comme pour les dérivés d'IDA, polyélectronique et irréversible. Cette seconde vague pourrait, comme précédemment, être attribuée à l'oxydation du radical cation issu de la phénylènediamine en dication, ainsi qu'à des phénomènes de dégradation du centre redox. Par ailleurs, les fonctions alcyne sont également oxydables. Il est donc possible que la vague d'oxydation irréversible soit également en partie due à l'oxydation irréversible des fonctions alcyne terminal. Afin de s'affranchir de cette perte partielle de réversibilité, et dans l'hypothèse où elle est liée à une déprotonation du radical-cation en position benzylique, nous avons préparé et étudié un dérivé sans groupe benzyloxy, le dérivé symétrique dialcylène **25**.

Quelques voltammogrammes du dérivé dialcylène **25** à pH 7 sont présentés en figure IV-22.

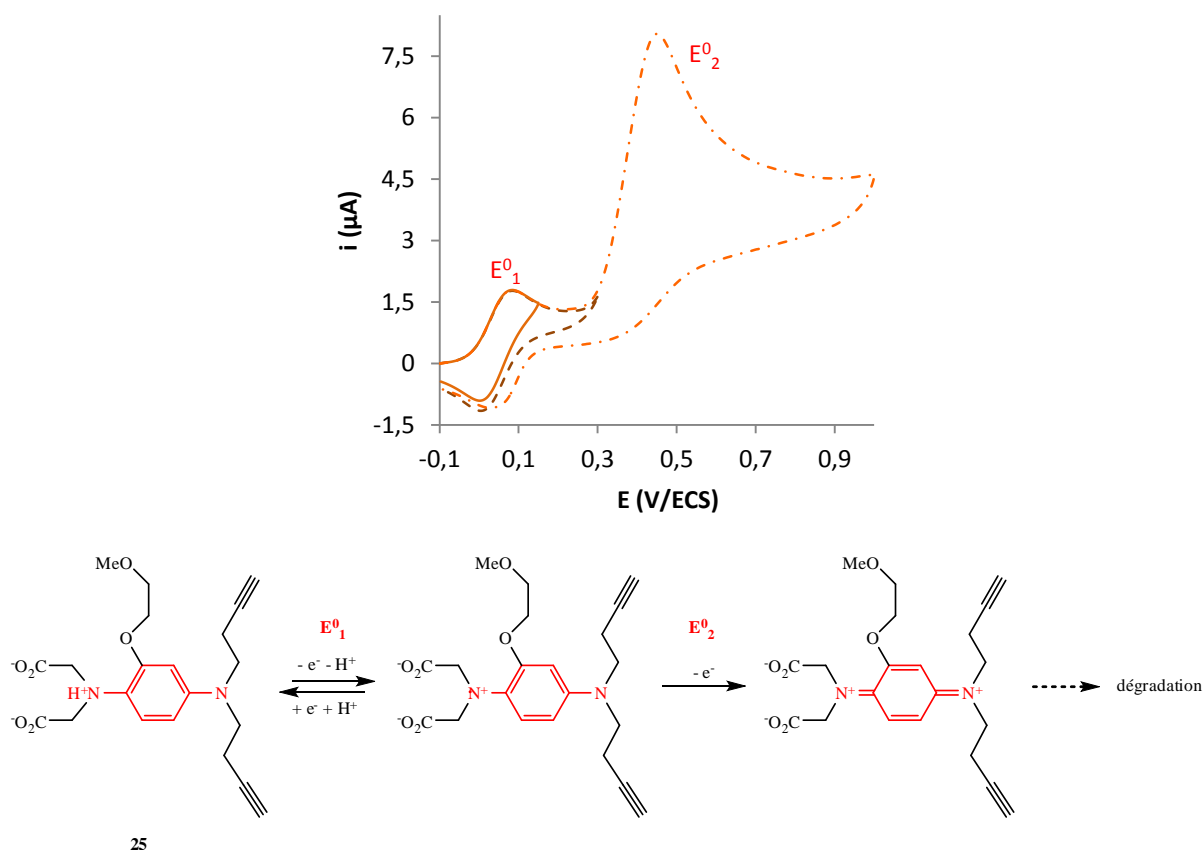


Figure IV-22 : voltammogrammes du composé **25** 2 mmol.L⁻¹ dans l'eau + TRIS 0,05 mol.L⁻¹ + NaCl 0,05 mol.L⁻¹ ; pH = 7,4 ; vitesse de balayage 100 mV.s⁻¹ ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ce composé présente, comme attendu, une première vague d'oxydation monoélectronique réversible E_1^0 , correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation. Mais, comme les dérivés d'IDA, à de plus hauts potentiels une nouvelle vague d'oxydation irréversible polyélectronique E_2^0 apparaît. Cette seconde vague pourrait, comme précédemment, être attribuée à l'oxydation du radical cation issu de la phénylènediamine en dication, ainsi qu'à l'oxydation irréversible de l'aniline, cette oxydation s'accompagnant d'une dimérisation, *via* un mécanisme impliquant le transfert de plusieurs électrons.^{96, 97} Par ailleurs, les fonctions alcyne sont également oxydables. Il est donc possible que la vague d'oxydation irréversible soit également en partie due à l'oxydation irréversible des fonctions alcyne terminal.

La figure IV-23 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **25** en fonction de la vitesse de balayage. On constate que les courants de pic augmentent linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage, comportement caractéristique d'un système en solution régi par la diffusion.

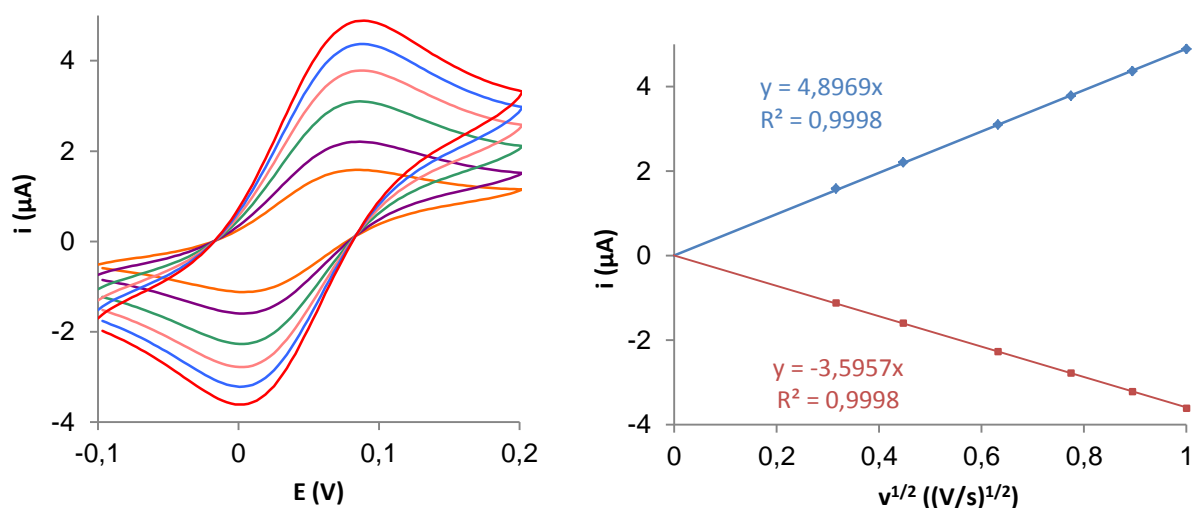


Figure IV-23 : voltammogrammes du composé **25** 2mmol.L⁻¹ dans l'eau + TRIS 0,05 mol.L⁻¹ + NaCl 0,05 mol.L⁻¹ ; pH = 7,4 ; vitesse de balayage : — 100 mV.s⁻¹, — 200 mV.s⁻¹, — 400 mV.s⁻¹, — 600 mV.s⁻¹, — 800 mV.s⁻¹, — 1 V.s⁻¹ ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

A droite : tracé de l'évolution des courants de pics en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage ;
 ◆ courant de pic d'oxydation, ■ courant de pic de réduction.

Le voltammogramme du dérivé dialcane **27** à pH 7 est présenté en figure IV-24.

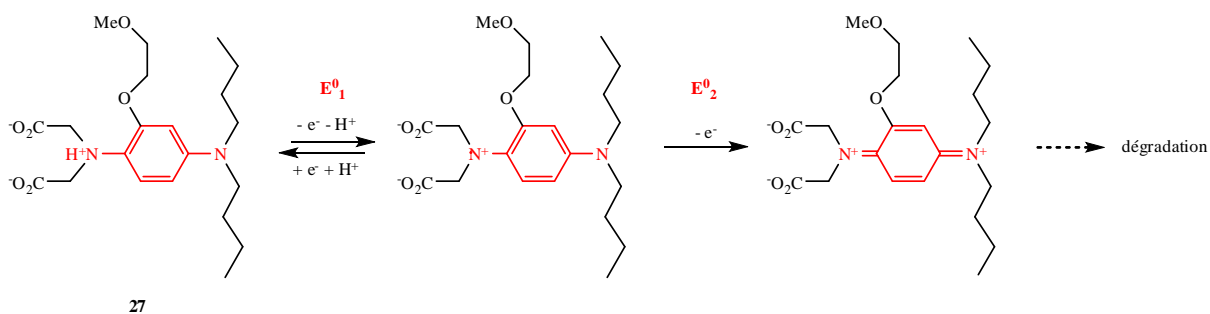
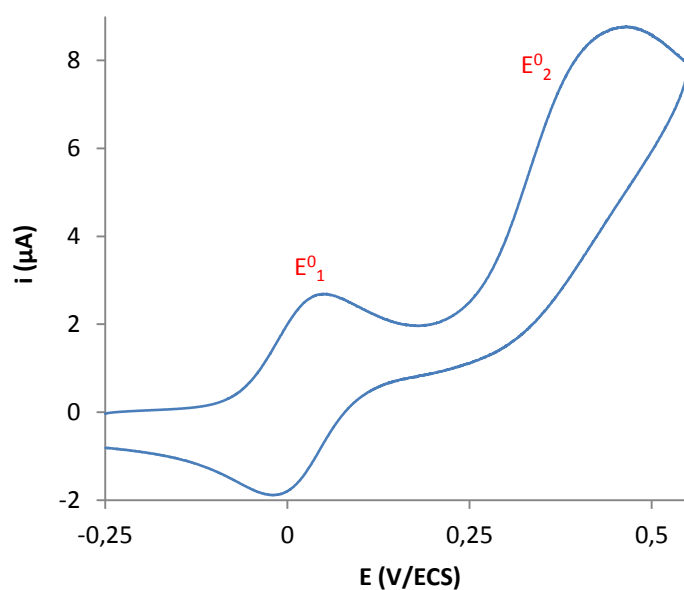


Figure IV-24 : voltammogramme du composé **27** 2,8 mmol.L⁻¹ dans l'eau + MOPS 0,03 mol.L⁻¹ + KCl 0,1 mol.L⁻¹ ; pH = 7,2 ; vitesse de balayage 0,1 V.s⁻¹ ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On observe un comportement électrochimique similaire à celui du dialcyne correspondant, avec toutefois une seconde vague d'oxydation réversible moins intense : ceci est dû à l'absence des fonctions alcyne oxydables dans le dérivé **27**. L'étude de l'évolution de la première vague d'oxydation du composé **27** en fonction de la vitesse de balayage a également montré que le courant de pic augmente linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage. Ce système en solution est donc bien régi par la diffusion.

Le tableau IV-02 récapitule les valeurs de potentiel de pic, de potentiel de demi-vague et d'écart entre les pics d'oxydation et de réduction en milieu aqueux à pH 7 pour la tétraméthylphénylènediamine (TMPD), les dérivés d'IDA **07** et **10**, et les dérivés de type « demi-BAPTA » **25** et **27**.

Composé	1 ^{ère} vague d'oxydation E ⁰ ₁				2 ^{ème} vague d'oxydation E ⁰ ₂			
	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p	E _p ^a	E _p ^c	E ^{1/2}	ΔE _p
TMPD	0,035 V	-0,032 V	0,0015 V	67 mV	0,464 V	0,396 V	0,430 V	68 mV
07	0,193 V	0,075 V	0,134 V	118 mV	0,429 V	-	-	-
10	0,175 V	0,070 V	0,123 V	105 mV	0,520 V	-	-	-
22	0,123 V	0,004 V	0,064 V	119 mV	0,520 V	-	-	-
25	0,083 V	0,004 V	0,044 V	79 mV	0,449 V	-	-	-
27	0,063 V	-0,024 V	0,020 V	87 mV	0,430 V	-	-	-

Tableau IV-02 : comparatif des potentiels caractéristiques de la TMPD et des composés **07**, **10**, **22**, **25** et **27** par rapport à l'ECS dans l'eau + MOPS 0,03 mol.L⁻¹ + KCl 0,1 mol.L⁻¹ ; pH = 7,2 ; vitesse de balayage 0,1 V.s⁻¹. WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que la présence d'une chaîne latérale oxygénée supplémentaire sur la phénylènediamine provoque une diminution des potentiels caractéristiques de la première vague d'oxydation. En effet, le substituant oxygéné est mésomère donneur : la phénylènediamine est donc enrichie en densité électronique, et par conséquent plus facile à oxyder. Par ailleurs, on remarque que les potentiels caractéristiques de la première vague d'oxydation du dérivé aryle-alcyne **22** sont plus élevés que ceux du dérivé dialcyne **25** d'environ 40 mV, qui sont eux-mêmes plus élevés que ceux du dérivé dialcane correspondant **27** d'environ 20 mV. Ceci est dû au fait que la chaîne aryle a un effet inductif donneur plus faible que les chaînes alkyle, et les chaînes alcyne ont un effet inductif donneur légèrement plus faible que celui des chaînes alcane : le centre redox dans le dérivé **25** est donc un peu moins riche en densité électronique que dans le dérivé **27**, et moins riche en densité électronique dans le dérivé **22** que dans le dérivé **25**. Par conséquent il est un peu plus difficile à oxyder dans le composé **25** plutôt que dans le composé **27**, plus difficile à oxyder dans le composé **22** plutôt que dans le composé **25**.

➤ Etude à pH variant de 7 à 10

Le ligand dialcane **27** ayant un pK_a de 8,4, nous avons étudié ce ligand à des pH compris entre 7 et 10. La figure IV-25 représente l'évolution du potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation de ce dérivé **27** en fonction du pH, dans une gamme de pH variant entre 7,5 et 10.

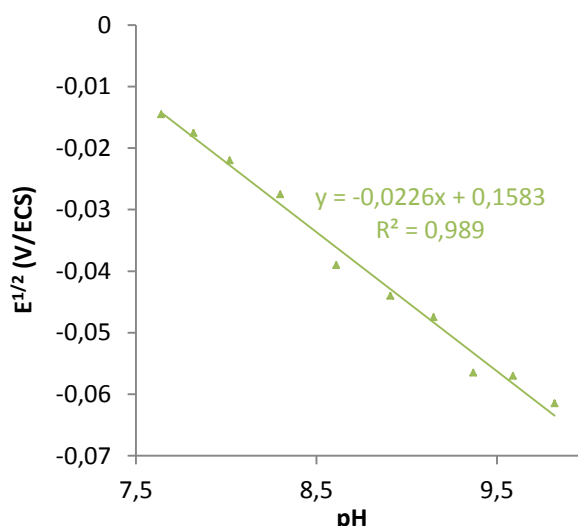


Figure IV-25 : évolution du potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation du dérivé **27** en fonction du pH.

On constate que le potentiel de demi-vague diminue linéairement lorsque le pH augmente, avec une pente de -23 mV par unité de pH. Les potentiels de demi-vague de la forme acide et de la forme basique du composé **27** diffèrent donc beaucoup, d'environ 47 mV. En effet, la présence d'un proton supplémentaire dans la forme acide génère la présence d'une charge positive sur l'un des azotes de la phénylènediamine : il est donc bien plus difficile d'oxyder la forme acide du ligand plutôt que la forme basique.

Au vu de cette différence de potentiel, nous avons étudié le ligand **27** à un pH de l'ordre de 10.

➤ Solution à pH 10

Le voltammogramme du composé **27** à pH 10 est présenté en figure IV-26.

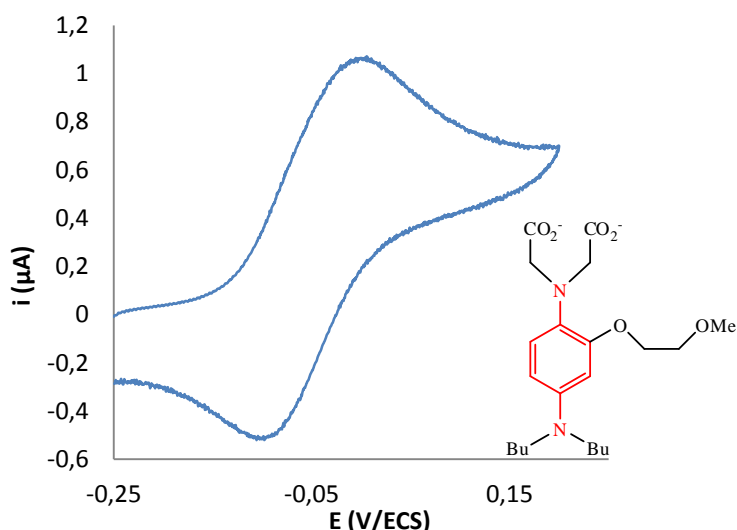


Figure IV-26 : voltammogramme du composé **27** 1 mmol.L⁻¹ dans l'eau + MOPS 0,03 mol.L⁻¹ + KCl 0,1 mol.L⁻¹ ; pH = 10,2 ; vitesse de balayage 0,1 V.s⁻¹ ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Ce composé présente, comme attendu, une vague d'oxydation monoélectronique réversible E⁰₁, correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation. Toutefois, on observe une très

légère perte de réversibilité, qui n'était pas observée à pH 7. Il semble donc que le radical-cation du dérivé **27** soit légèrement moins stable en milieu basique.

2) Etudes en milieu aqueux en présence de cations

L'ensemble des études détaillées dans cette partie ont été menées sur le composé **27** présenté en figure IV-27, à l'exception de quelques expériences menées sur le précurseur dialcyne **25**, et des toutes premières études électrochimiques, menées sur le dérivé benzyle-alcyne **22**.

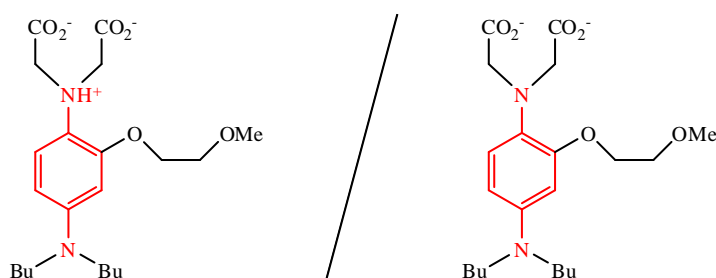


Figure IV-27 : 2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de disodium **27**.

a) Spectroscopie RMN

Le dérivé dialcyne **25** a été étudié par RMN, à une concentration de 10 mmol.L⁻¹ dans le méthanol deutéré, et en présence de traces d'hydroxyde de sodium, soit à un pH probablement proche de 10. La forme prédominante est donc la forme basique dianionique amine-dicarboxylate. Ce dérivé présente quatre signaux bien définis pour les trois protons aromatiques. Il est donc possible de suivre le déplacement de ces signaux en fonction du nombre d'équivalents de calcium ajoutés. Les variations des déplacements chimiques des trois protons aromatiques sont présentées en figure IV-28. Il est à noter que l'on observe quatre signaux pour ces trois protons, les signaux 1 et 2 intégrant chacun pour un proton, et les signaux 3 et 4 intégrant ensemble pour un seul proton.

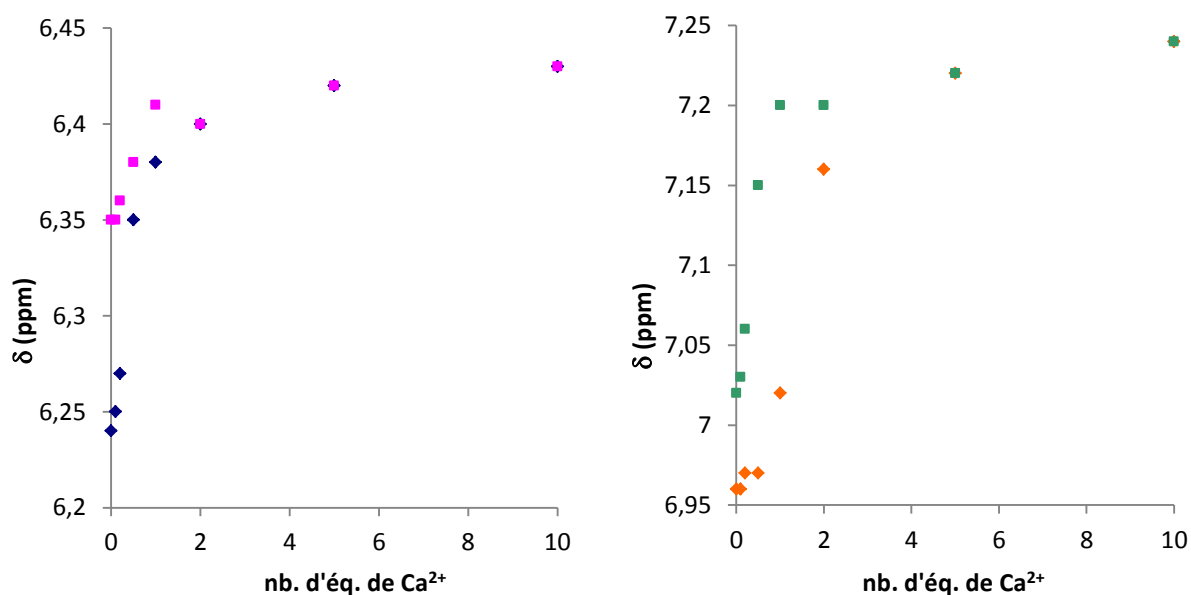


Figure IV-28 : suivi des variations des déplacements chimiques des protons aromatiques du composé **25** dans le méthanol deutéré en fonction du nombre d'équivalents de calcium ; ■ signal 1, ◆ signal 2, ■ signal 3, ◆ signal 4.

On constate que trois des quatre déplacements chimiques des trois protons aromatiques sont fortement modifiés pour des ajouts de 0 à 1 équivalent de calcium. Lorsque le nombre d'équivalents de calcium ajouté est supérieur à 1, les variations de ces signaux sont de beaucoup plus faible amplitude. On en déduit qu'il se forme un complexe, dont la stœchiométrie est très probablement de un ligand pour un cation Ca^{2+} .

b) Spectrophotométrie UV-visible

Le dérivé **27** a été étudié par spectrophotométrie UV-visible en milieu aqueux tamponné (pH = 7,4) en fonction de la concentration en calcium. La forme prédominante du composé **27** est donc la forme acide zwitterionique ammonium-dicarboxylate. Les spectres obtenus sont présentés en figure IV-29.

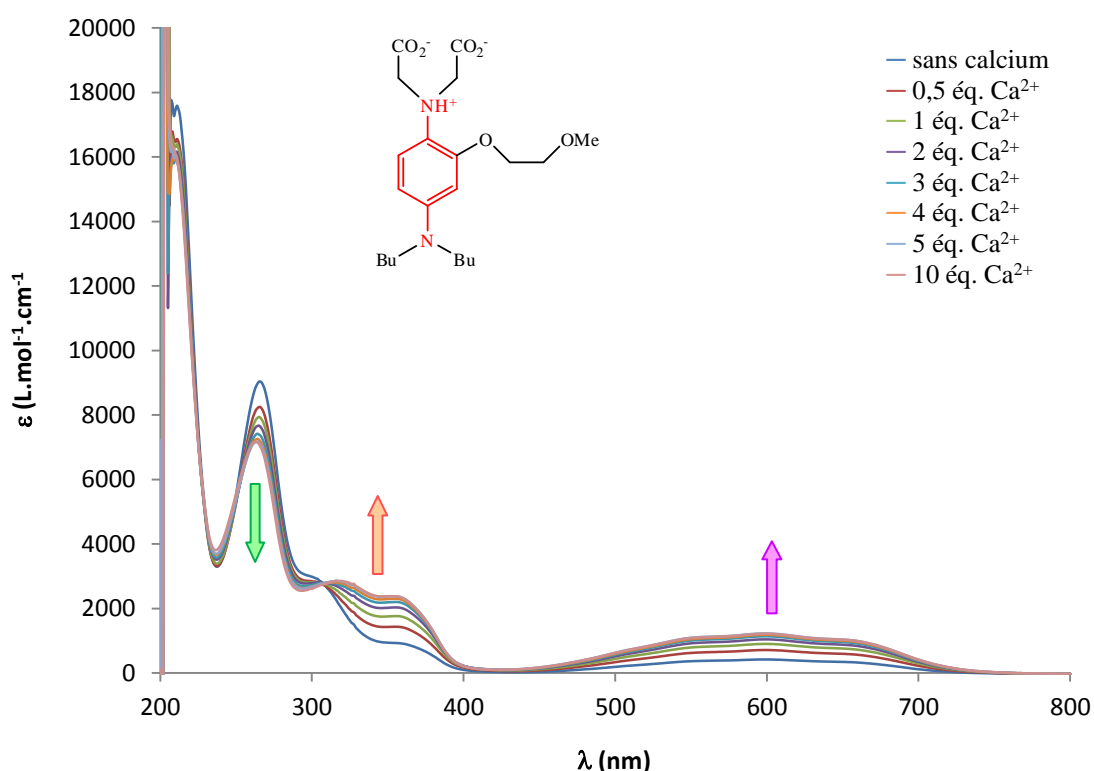


Figure IV-29 : spectres UV-visible du composé **27** $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,4.

Lors des ajouts successifs de calcium, on observe une diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande à 265 nm, accompagnée d'un léger déplacement de cette bande vers les plus faibles longueurs d'onde. On observe également une augmentation du coefficient d'absorption molaire des bandes à 360 nm et 600 nm. En outre, la bande d'absorption à 300 nm disparaît, tandis qu'une nouvelle bande apparaît à 320 nm. On constate alors qu'il existe un point isobestique pour une longueur d'onde de 308 nm. La présence d'un point isobestique est un argument en faveur de la formation d'un seul complexe et de la coexistence de deux espèces en solution : le ligand libre protonné, et un complexe qui implique très probablement la forme déprotonnée du ligand.

Afin de déterminer la constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium, nous avons utilisé la méthode de Benesi-Hildebrand en faisant l'hypothèse que la stœchiométrie du complexe est de un cation pour un ligand.¹⁰⁵ Dans ce cas, à une longueur d'onde donnée, le tracé de l'inverse de la variation de l'absorbance en fonction de l'inverse de la concentration en cation est une droite dont la

la pente est le produit de l'ordonnée à l'origine et de la constante de dissociation. Les résultats obtenus en appliquant cette méthode à trois longueurs d'onde sont présentés en figure IV-30.

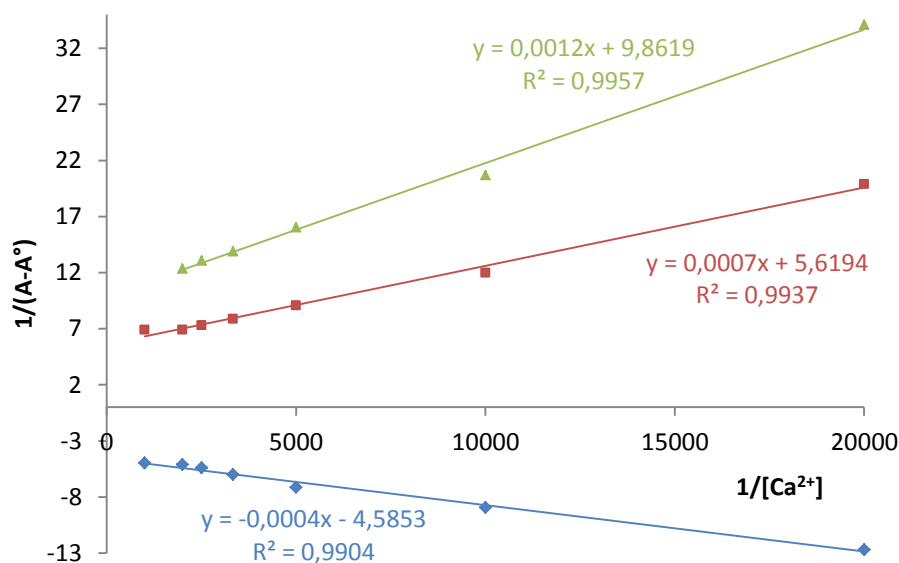


Figure IV-30 : détermination de la constante d'affinité du dérivé 27 pour Ca^{2+} dans l'eau à $\text{pH} = 7,2$ par la méthode de Benesi-Hildebrand ; \blacklozenge à 265 nm, \blacksquare à 355 nm, \blacktriangle à 600 nm.

On constate que pour chacune des longueurs d'onde employées, on obtient une droite. Il est alors possible, à partir des équations de ces droites, de déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium. A la longueur d'onde de 265 nm, le calcul donne une valeur de constante d'affinité d'environ 11 500, à 355 nm, une valeur d'environ 8 000, et à 600 nm une valeur d'environ 8 000. La constante d'affinité du ligand 27 pour le calcium est donc d'environ 10^4 , valeur proche de celle obtenue pour un ligand APTRA. L'emploi de la méthode de Benesi-Hildebrand menant à l'obtention de droites et à des valeurs de constante d'affinité proches pour trois longueurs d'onde différentes, il est très probable que l'hypothèse de départ soit vraie, à savoir que le complexe formé soit bien de stœchiométrie un cation pour un ligand.

On remarque également que l'effet de l'augmentation de la concentration en calcium à $\text{pH} = 7,4$ sur le spectre UV-visible du ligand 27 est très semblable à l'effet de l'augmentation du pH . Ceci s'explique par le fait qu'à ce pH , pour qu'il y ait complexation, il doit d'abord y avoir déprotonation du ligand. L'effet observé sur le spectre UV-visible du ligand 27 lors de l'augmentation de la concentration en calcium à $\text{pH} = 7,4$ est donc essentiellement dû à la déprotonation du ligand, et non à la complexation elle-même.

Afin de confirmer ces résultats, une étude à $\text{pH} = 10$ a été menée, mais malheureusement les résultats obtenus ne sont pas exploitables, en raison d'une dégradation trop rapide du produit et de dysfonctionnements du spectrophotomètre.

Le cation Mg^{2+} étant souvent en compétition avec le cation Ca^{2+} lors des réactions de complexation, nous avons ensuite ajouté de grandes quantités de magnésium. Les spectres obtenus sont présentés en figure IV-31.

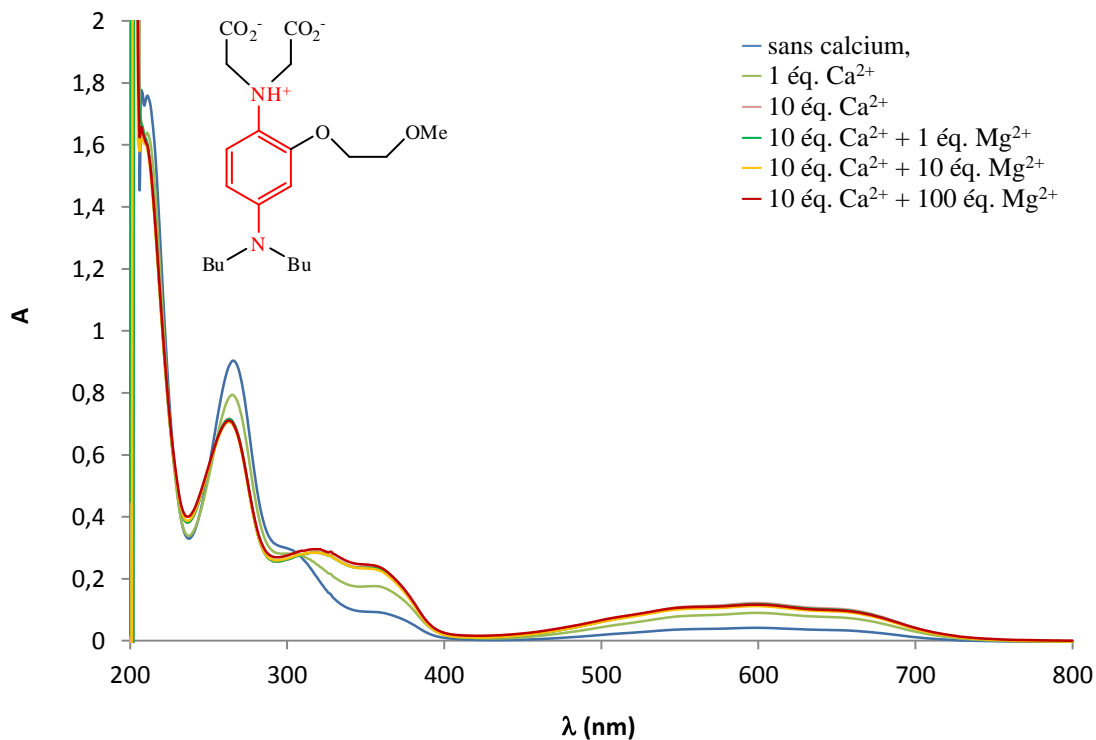


Figure IV-31 : spectres UV-visible du composé **27** $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,4$.

On constate que l'ajout de magnésium, jusqu'à 100 équivalents, ne modifie pas le spectre du composé **27** obtenu en présence de 10 équivalents de calcium. Il est donc probable que le ligand **27** présente une bonne sélectivité pour le calcium par rapport au magnésium.

c) Electrochimie

Les dérivés benzyle-alcyne **22**, dialcyne **25** et dialcane **27** ont alors été étudiés par voltammétrie cyclique en milieu aqueux.

i) Etude à pH 7

Bien que le système **22** ne soit que partiellement réversible électrochimiquement, nous l'avons également étudié en présence de calcium, afin de s'assurer que des systèmes de type « demi-BAPTA » permettent de détecter la présence de calcium en milieu aqueux. Les voltammogrammes obtenus sont présentés en figure IV-32.

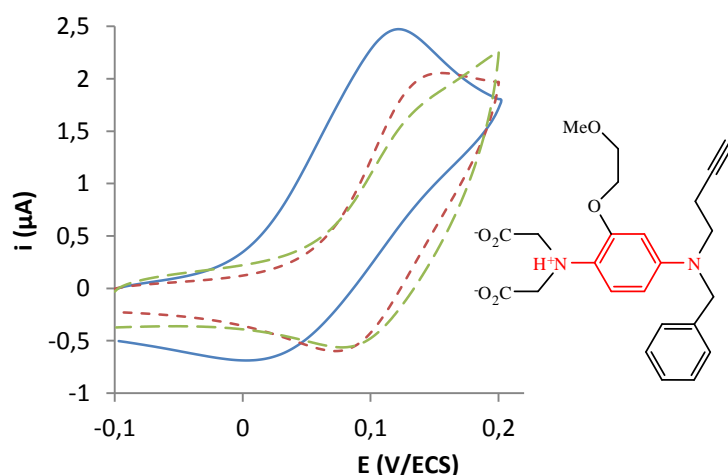


Figure IV-32 : voltammogrammes du composé **22** 5 mmol.L^{-1} dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,4 ; — sans Ca^{2+} , ···· + 1 équivalent de Ca^{2+} , - - - + 2 équivalents de Ca^{2+} ; vitesse de balayage 100 mV.s^{-1} ; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On observe, en présence de calcium, un déplacement de la première vague d'oxydation du dérivé **22** vers les plus hauts potentiels. Ce système permet donc la détection électrochimique de calcium en milieu aqueux. En raison de l'irréversibilité partielle de la première vague d'oxydation, le dérivé **22** n'a pas été davantage étudié.

Les deux ligands **25** et **27** ont alors été étudiés à pH 7 en présence de calcium puis de magnésium. La figure IV-33 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du dérivé dialcyle **25** lors de l'ajout de calcium.

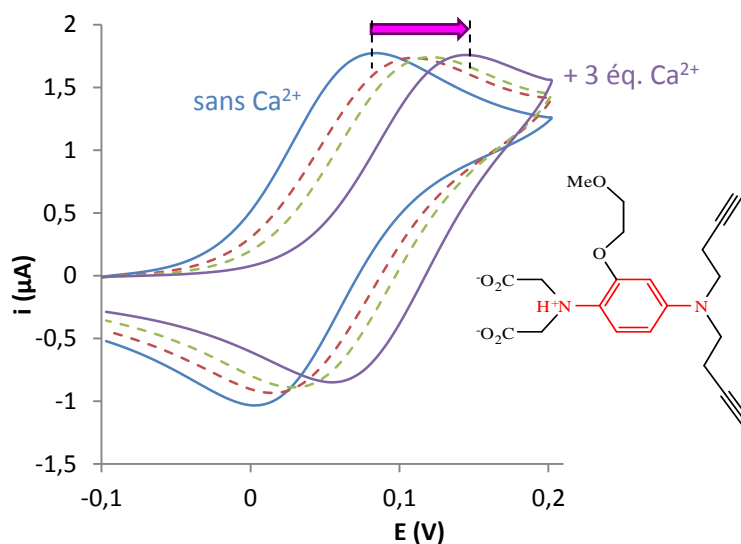


Figure IV-33 : voltammogrammes du composé **25** 2 mmol.L^{-1} dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,4 ; — sans Ca^{2+} , ···· + 0,5 équivalent de Ca^{2+} , - - - + 1 équivalent de Ca^{2+} , — + 3 équivalents de Ca^{2+} ; vitesse de balayage 100 mV.s^{-1} ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que cette vague est déplacée vers les hauts potentiels au fur et à mesure que la concentration en cations calcium augmente. Lorsque la concentration en calcium est de 3 équivalents par rapport à la concentration en ligand **25**, le déplacement de la vague est de 61 mV.

Afin de comparer les deux ligands, l'évolution de la première vague d'oxydation du dérivé dialcane **27** lors de l'ajout de calcium est présentée en figure IV-34.

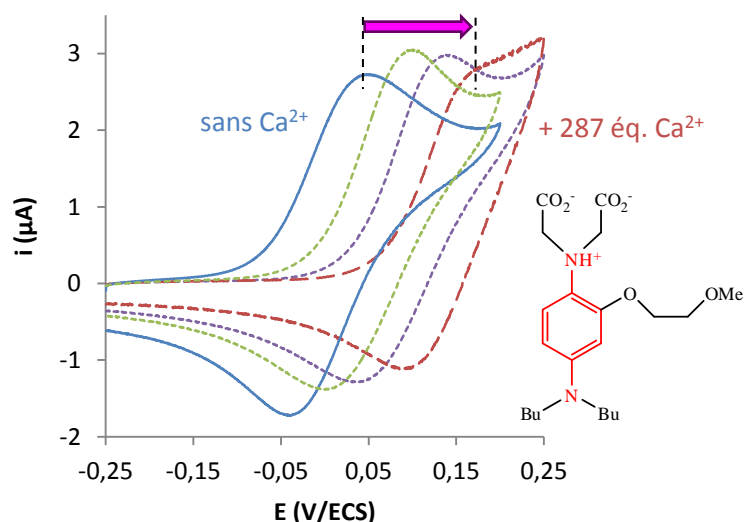


Figure IV-34 : voltammogramme du composé **27** $2,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,2 ; — sans Ca^{2+} , ... + 3,6 équivalents de Ca^{2+} , ····· + 36 équivalents de Ca^{2+} , - - - + 287 équivalents de Ca^{2+} . vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que pour ce ligand, cette vague est également déplacée vers les hauts potentiels au fur et à mesure que la concentration en cations calcium augmente. Lorsque la concentration en calcium est de 3,6 équivalents par rapport à la concentration en ligand **27**, le déplacement de la vague est de 54 mV, et lorsque la concentration en calcium est de 287 équivalents par rapport à la concentration en ligand **27**, le déplacement de la vague est d'environ 130 mV.

On remarque donc que, comme attendu, les deux ligands dialcyne **25** et dialcane **27** ont des comportements similaires vis-à-vis du calcium. Ces déplacements de vagues montrent que ces systèmes ont un comportement de détecteur à cation calcium à commande électrochimique, comportement illustré par le schéma présenté en figure IV-35.

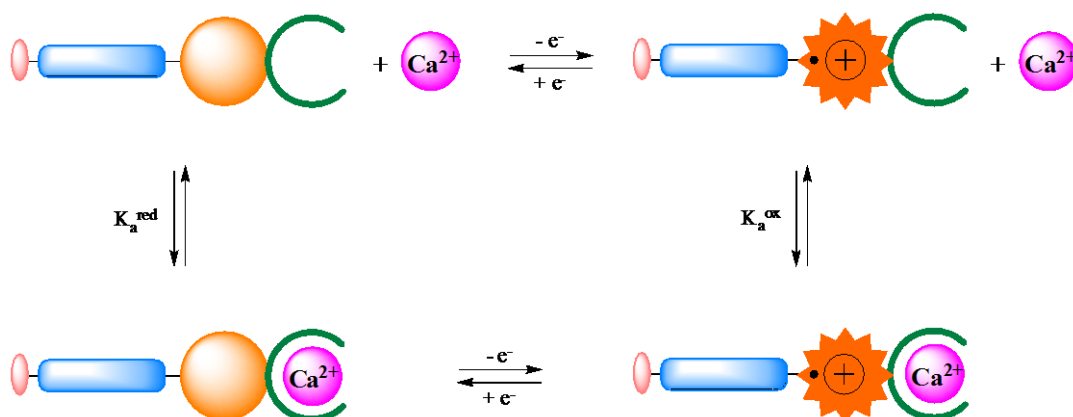


Figure IV-35 : schéma carré montrant les différents équilibres impliqués dans le fonctionnement d'un détecteur à calcium avec commande électrochimique.

En outre, le comportement de ces systèmes, de type déplacement de vague redox^{21, 22} (et non pas un comportement de type deux vagues), comportement caractéristique des ligands ayant une constante d'affinité pour le métal étudié assez peu élevée, est en bon accord avec la valeur de la constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium d'environ 10^4 déterminée précédemment par spectrophotométrie UV-visible.

Nous avons alors étudié l'évolution du potentiel de demi-vague $E^{1/2}$ de la première vague redox du dérivé dialcane **27** en fonction de la concentration en calcium, ou du logarithme décimal de cette concentration (cf. figure IV-36).

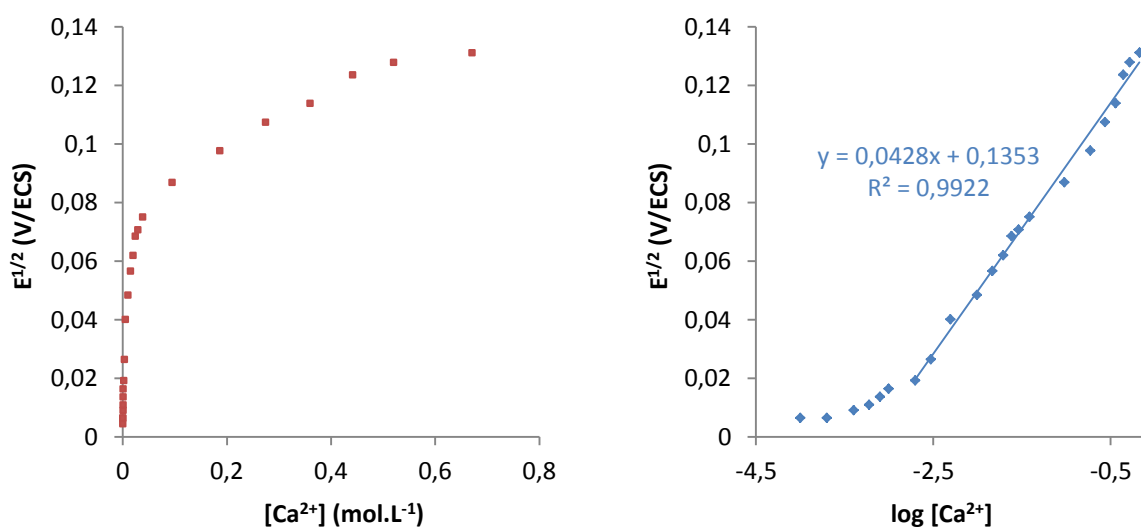


Figure IV-36 : évolution du potentiel de demi-pic $E^{1/2}$ de la première vague d'oxydation du composé **27** 2,8 mmol.L⁻¹ à pH = 7,2 en fonction de la concentration en calcium (à gauche), ou du logarithme décimal de cette concentration (à droite).

Nous avons alors remarqué qu'après une augmentation d'abord lente, puis rapide du potentiel de demi-vague pour des variations faibles de la concentration en calcium, la valeur de ce potentiel de demi-vague tend vers une valeur limite pour des concentrations très élevées en calcium. En traçant un diagramme semi-logarithmique, nous avons observé que pour des concentrations en calcium supérieures à un équivalent par rapport à la concentration en ligand **27**, le potentiel évolue linéairement en fonction du logarithme de la concentration en calcium, avec une pente de 43 mV par décade. Cette évolution linéaire permet d'envisager l'utilisation de tels systèmes pour déterminer la concentration en calcium d'un milieu inconnu, en se limitant toutefois à des milieux où la concentration en calcium est plus élevée que la concentration en ligand.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'effet de l'augmentation de la concentration en calcium sur la seconde vague d'oxydation du dérivé dialcane **27** à pH 7. Les voltammogrammes de ce composé en l'absence et en présence de calcium sont présentés en figure IV-37. On constate que, si la première vague d'oxydation est déplacée vers les plus hauts potentiels lors de l'ajout de calcium, la seconde vague d'oxydation n'est pas affectée par la présence de calcium. Ceci prouve qu'entre la première et la seconde oxydation du composé **27**, le cation calcium a été relargué et n'est plus complexé par le ligand.

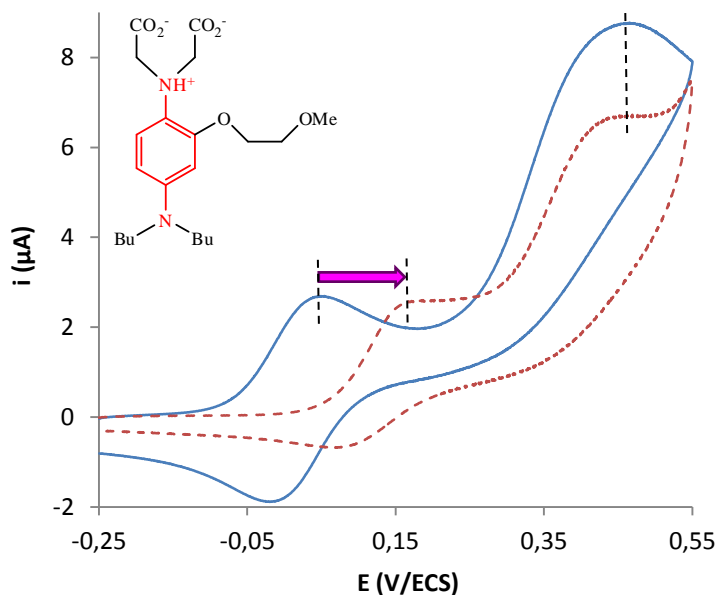


Figure IV-37 : voltammogramme du composé **27** $2,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,2$; — sans calcium, --- + 179 équivalents de calcium ; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

Le couplage étroit du centre redox phénylènediamine avec le ligand, *via* un atome d'azote commun, permet un excellent transfert de la perturbation électronique du centre redox vers le ligand, conduisant ainsi au relargage du cation calcium dans le milieu immédiatement après la première oxydation du dérivé **27**.

Enfin, nous avons étudié la sélectivité de ces systèmes pour le calcium par rapport au magnésium. La figure IV-38 présente quelques voltammogrammes du dérivé dialcane **27** à pH 7 en l'absence et en présence des différents cations étudiés.

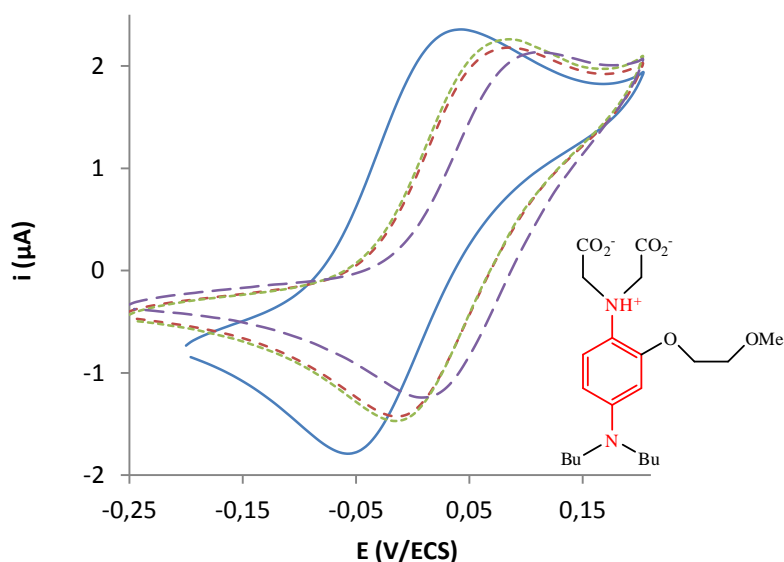


Figure IV-38 : voltammogramme du composé **27** 2 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,2$; — sans Ca^{2+} , --- + 3 équivalents de Ca^{2+} , ... + 3 équivalents de Ca^{2+} + 10 équivalents de Mg^{2+} , - - - + 15 équivalents de Ca^{2+} + 10 équivalents de Mg^{2+} .
vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que, comme attendu, la vague d'oxydation du composé **27** est déplacée vers les hauts potentiels lors de l'ajout de 3 équivalents de calcium. En revanche, le voltammogramme du composé **27** n'est pas modifié lors de l'ajout de 10 équivalents de cation magnésium au milieu contenant déjà 3 équivalents de cation calcium. L'ajout ultérieur d'équivalents de calcium provoque un nouveau déplacement de la vague d'oxydation vers les hauts potentiels. Ce système semble donc sélectif pour le calcium par rapport au magnésium, confirmant ainsi les résultats obtenus lors des études spectrophotométriques.

Une étude proche a été menée sur le dérivé dialcylne **25** à pH 7 : tout d'abord un équivalent de cation magnésium a été ajouté, puis un équivalent de cation calcium. Les voltammogrammes obtenus sont présentés en figure IV-39.

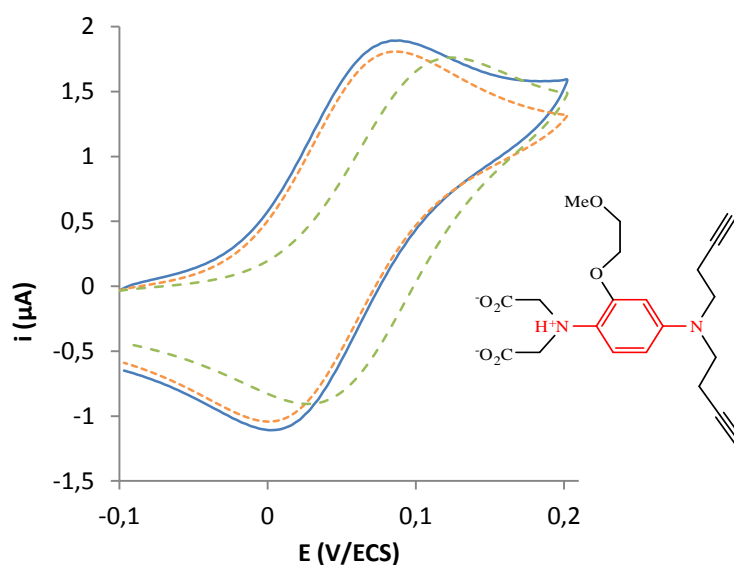


Figure IV-39 : voltammogrammes du composé **25** 2 mmol.L^{-1} dans l'eau + TRIS $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ + NaCl $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,4 ; — sans cations, - - - + 1 équivalent de Mg^{2+} , - - - + 1 équivalent de Mg^{2+} + 1 équivalent de Ca^{2+} ; vitesse de balayage 100 mV.s^{-1} ; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que l'ajout d'un équivalent de cation magnésium n'a aucun effet sur le voltammogramme du composé **25**. En revanche, l'ajout ultérieur d'un équivalent de calcium provoque un nouveau déplacement de la vague d'oxydation vers les hauts potentiels. Ceci confirme que ces systèmes sont sélectifs pour le calcium par rapport au magnésium, en bon accord avec les résultats des études spectrophotométriques.

ii) Etude à pH 10

La figure IV-40 présente quelques voltammogrammes du dérivé **27** à pH 10, en l'absence et en présence de calcium.

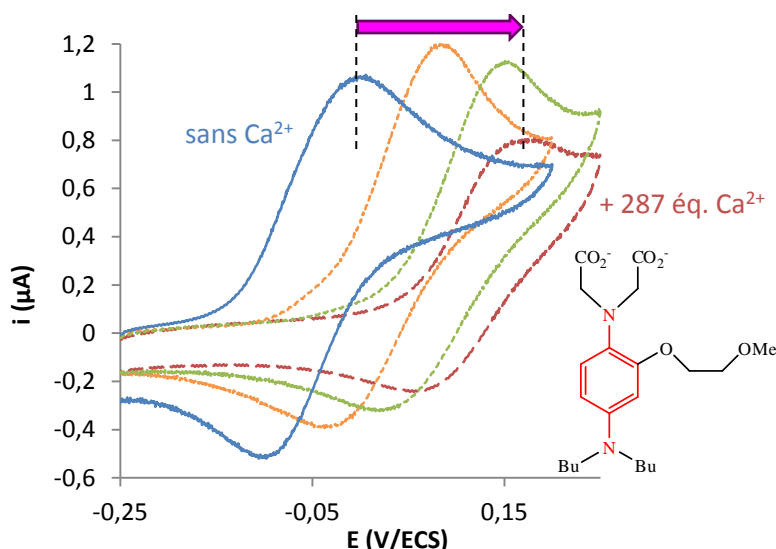


Figure IV-40 : voltammogramme du composé **27** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 10,2 ; — sans Ca^{2+} , - - - + 0,3 équivalent de Ca^{2+} , ... + 1,1 équivalent de Ca^{2+} , - - - + 287 équivalents de Ca^{2+} ; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que l'ajout de 0,3 équivalent de calcium provoque un déplacement de la vague d'oxydation du composé **27** de 86 mV vers les hauts potentiels, l'ajout de 1,1 équivalent de calcium un déplacement de 150 mV environ, et l'ajout de 287 équivalents un déplacement de 170 mV environ. On remarque donc que l'ajout d'un équivalent de calcium permet d'atteindre un déplacement de vague proche du déplacement maximal observé à pH 10, ce qui n'est pas le cas à pH 7.

Nous avons alors étudié l'évolution du potentiel de demi-vague $E^{1/2}$ de la première vague redox du dérivé dialcane **27** en fonction de la concentration en calcium, ou du logarithme décimal de cette concentration (cf. figure IV-41).

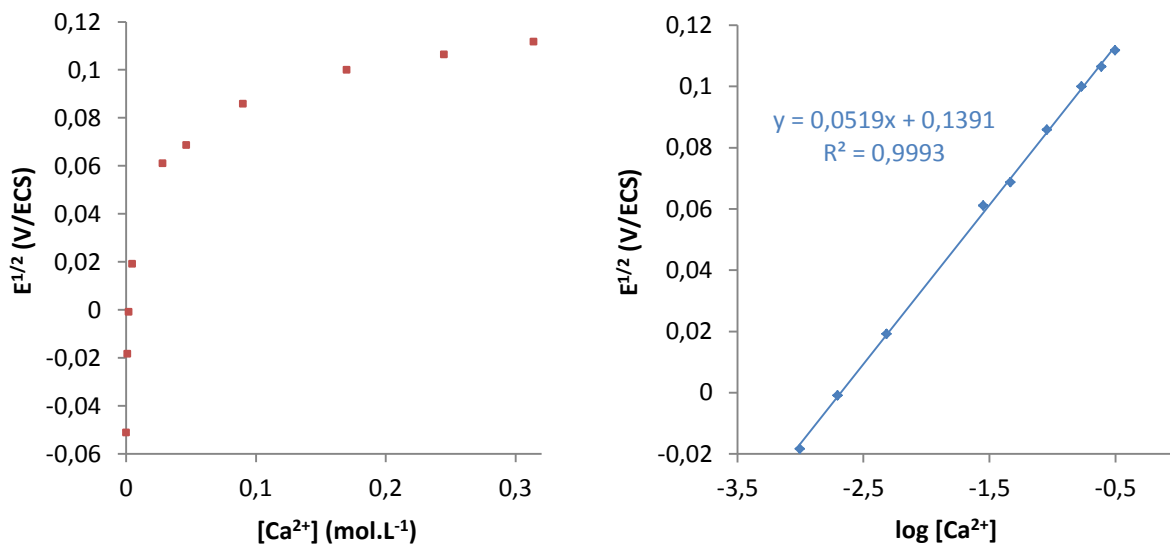


Figure IV-41 : évolution du potentiel de demi-pic $E^{1/2}$ de la première vague d'oxydation du composé **27** 1 mmol.L^{-1} à pH = 10,2 en fonction de la concentration en calcium (à gauche), ou du logarithme décimal de cette concentration (à droite).

Nous avons alors remarqué qu'après une augmentation immédiatement rapide du potentiel de demi-vague pour des variations faibles de la concentration en calcium (contrairement au système à pH 7 où on a augmentation lente, puis rapide), la valeur de ce potentiel de demi-vague tend vers une valeur

limite pour des concentrations très élevées en calcium. En traçant un diagramme semi-logarithmique, nous avons observé le potentiel évolue linéairement en fonction du logarithme de la concentration en calcium, avec une pente de 52 mV par décade, et ce, quelle que soit la concentration en calcium (alors qu'à pH 7, il est nécessaire d'avoir une concentration en calcium supérieure à un équivalent de ligand pour observer cette évolution linéaire). Cette évolution linéaire permet d'envisager l'utilisation de tels systèmes comme capteurs sélectifs, pour déterminer la concentration en calcium d'un milieu inconnu.

d.) Conclusions

Un dosage acido-basique du ligand **27** nous a permis de déterminer une valeur de pK_a de 8,4 pour le couple acide-base de ce composé. Aux pH physiologiques, la forme majoritaire est donc la forme acide. Nous avons donc également mené des études à pH 10 pour caractériser également la forme basique.

Nous avons pu évaluer la constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium à pH 7 à environ 10^4 par spectrophotométrie UV-visible, valeur comparable à celle obtenue pour un ligand APTRA. Les études spectrophotométriques du ligand en fonction du pH ont montré que la complexation du calcium par la forme acide s'accompagne d'une déprotonation donc d'un retour à la forme basique du ligand, comme attendu.

Les études électrochimiques à pH 7 du ligand **27** ont montré que la première vague d'oxydation du ligand est déplacée de 130 mV environ lors d'ajout de calcium, tandis que la seconde vague n'est pas affectée, mettant ainsi en évidence le relargage du calcium dans le milieu juste après la première oxydation du ligand. Par ailleurs, il a été observé que pour une quantité de calcium supérieure à un équivalent de ligand, le potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation évolue linéairement en fonction du logarithme de la concentration en calcium, avec une pente de 43 mV par décade de concentration en calcium.

Les études par électrochimie du ligand **27** en faisant varier le pH entre 7 et 10 ont montré que le potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation évolue linéairement en fonction du pH, avec une pente de - 22 mV par unité de pH, soit une pente de 22 mV par décade de concentration en proton. Le potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation varie ainsi de - 50 mV environ entre pH 7 et pH 10.

Les études par électrochimie à pH 10 du ligand **27** ont montré que la première vague d'oxydation du ligand est déplacée de 170 mV environ lors d'ajout de calcium. Par ailleurs, il a été observé que le potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation évolue linéairement en fonction du logarithme de la concentration en calcium, avec une pente de 52 mV par décade de concentration en calcium.

On remarque alors que la somme de la variation du potentiel de demi-vague de la première vague d'oxydation du ligand **27** entre pH 10 et pH 7 (soit 50 mV environ) et de la variation du potentiel de demi-vague de cette vague lors d'ajout de calcium à pH 7 (soit 130 mV environ) est à peu près égale à la variation du potentiel de demi-vague de cette vague lors d'ajout de calcium à pH 10 (soit 170 mV environ). On observe également que les maxima de potentiel atteints lors d'ajout de calcium sont identiques à pH 7 et pH 10 (*cf.* figure IV-42).

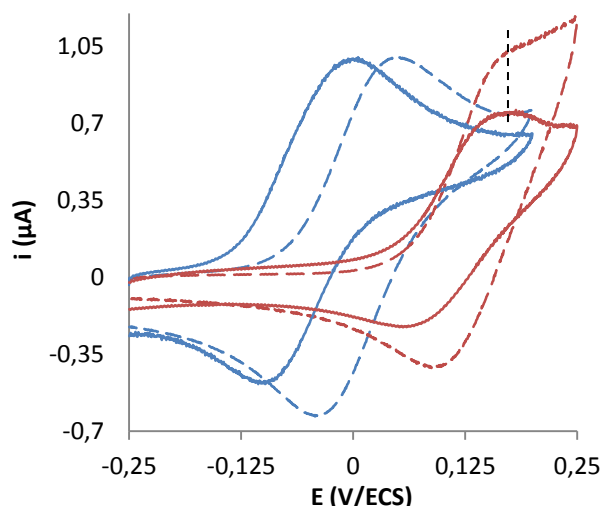


Figure IV-42 : voltammogrammes normalisés du composé **27** dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$;
 --- pH = 7,2, sans Ca^{2+} , -.- pH = 7,2, avec Ca^{2+} , — pH = 10,2, sans Ca^{2+} , — pH = 10,2, avec Ca^{2+} ;
 vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE, Pt, Ref : ECS.

Enfin, on constate que la somme de la pente caractérisant l'évolution du potentiel de demi-vague de cette vague en fonction du logarithme de la concentration en calcium à pH 7 (soit 43 mV par décade) et de la pente caractérisant l'évolution du potentiel de demi-vague de cette vague en fonction du logarithme de la concentration en protons (soit 22 mV par décade) est à peu près égale à la pente caractérisant l'évolution du potentiel de demi-vague de cette vague en fonction du logarithme de la concentration en calcium à pH 10 (soit 52 mV par décade). On en déduit qu'à pH 7, l'évolution moindre et plus lente du potentiel de demi-vague est due au fait qu'il est nécessaire d'avoir déprotonation du ligand pour pouvoir observer une complexation.

Une constante d'affinité de 10^4 environ correspond à une valeur limite pour mener des études en présence d'un ligand compétiteur. Nous avons donc décidé d'étudier le dérivé **27** en présence d'EGTA.

3) Etudes en présence d'un ligand compétiteur : l'EGTA

Le ligand éthylèneglycolbis(β-aminoéthyléther)-*N,N,N',N'*-tétraacétate (EGTA), représenté en figure IV-43, présente une constante d'affinité pour Ca^{2+} de $6,64 \cdot 10^6$ en milieu aqueux à pH = 7,2, et de $6,58 \cdot 10^{11}$ à pH = 10 et il présente une très bonne sélectivité pour Ca^{2+} en présence de Mg^{2+} .¹⁰⁶ En effet, les pK_a des deux fonctions amines étant de 8,8 et 9,5, l'affinité du ligand pour les cations métalliques varie fortement en fonction du pH lorsque celui-ci est proche de 7, c'est-à-dire dans la gamme de pH physiologique. A pH 7, la forme majoritaire est la forme acide zwitterionique diammonium-tétracarboxylate, tandis qu'à pH 10, la forme majoritaire est la forme basique diamine-tétracarboxylate.

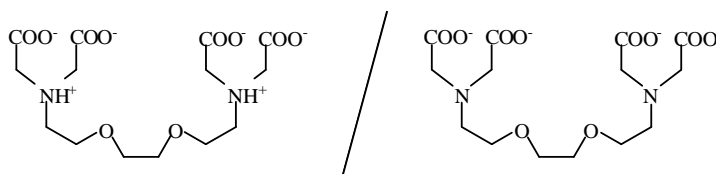


Figure IV-43 : couple acide-base de l'EGTA, de pK_a proche de 9

L'EGTA est couramment utilisé comme ligand compétiteur pour caractériser les propriétés de nouveaux ligands. Présent en grande quantité dans le milieu, il permet de maintenir constante la concentration en calcium libre dans le milieu, ce qui simplifie les calculs et donne accès à une détermination plus précise de la constante d'affinité du ligand étudié.

a) Spectrophotométrie UV-visible

i) Etude à pH 7

Le dérivé **27** a été étudié par spectrophotométrie UV-visible en milieu aqueux tamponné (pH = 7,2) en fonction de la concentration en calcium. Les formes prédominantes en solution du composé **27** et de l'EGTA sont donc les forme acides zwitterioniques ammonium-carboxylate. Dans ces conditions, la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium est de $6,64 \cdot 10^6$.¹⁰⁶

Les spectres obtenus sont présentés en figure IV-44. On remarque que le spectre du composé **27** en présence d'EGTA est très différent de celui sans EGTA. En présence d'EGTA, le spectre du composé **27** ne présente deux bandes d'absorption (contre quatre en l'absence d'EGTA), la première présentant un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $19\ 000\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 270 nm, et la seconde, épaule de la première, un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $6\ 000\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 290 nm. La bande d'absorption à 270 nm peut très probablement être attribuée à une transition électronique d'une orbitale π vers une orbitale π^* , et celle à 290 nm à une transition électronique d'une orbitale n vers une orbitale π^* .

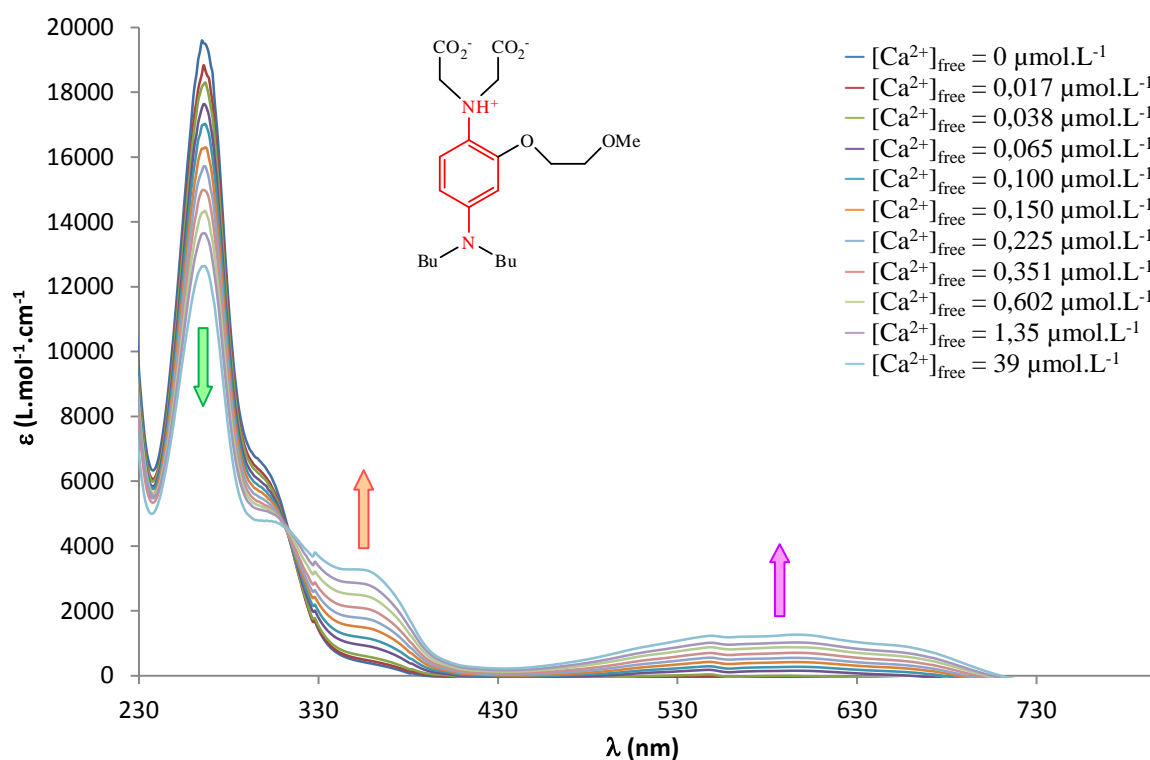


Figure IV-44 : spectres UV-visible du composé **27** $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau + MOPS $0,03\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + KCl $0,1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + EGTA $0,01\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; pH = 7,2.

On constate alors que les deux bandes observées en présence d'EGTA présentent des coefficients d'absorption molaire deux fois plus importants que ceux des bandes similaires en l'absence d'EGTA. Il y a donc des interactions entre l'EGTA et le ligand, probablement de type liaison hydrogène en partie, avec modification de la densité électronique du ligand.

Lors des ajouts successifs de calcium, on observe une diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande à 270 nm, accompagnée d'un léger déplacement de cette bande vers les plus faibles longueurs d'onde. On observe également la diminution de la bande d'absorption à 290 nm, tandis qu'une nouvelle bande apparaît à 355 nm. En outre, une autre bande apparaît à 600 nm. On constate alors qu'il existe un point isobestique pour une longueur d'onde de 313 nm. La présence d'un point isobestique est un argument en faveur de la formation d'un seul complexe et de la coexistence de deux espèces en solution : le ligand libre protonné en interaction avec l'EGTA, et un complexe de calcium qui implique très probablement la forme déprotonnée du ligand, toujours en interaction avec l'EGTA.

Afin de déterminer la constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium, nous avons utilisé la méthode de Hill en faisant l'hypothèse que la stœchiométrie du complexe est de un cation pour un ligand.¹⁰³ Dans ce cas, à une longueur d'onde donnée, le tracé du logarithme décimal du rapport : (soustraction de l'absorbance minimale à l'absorbance / soustraction de l'absorbance à l'absorbance maximale) en fonction du logarithme décimal de la concentration en cation Ca^{2+} libre est une droite coupant l'axe des abscisses à une valeur égale au logarithme de la constante de dissociation du complexe. Les résultats obtenus en appliquant cette méthode à trois longueurs d'onde sont présentés en figure IV-45.

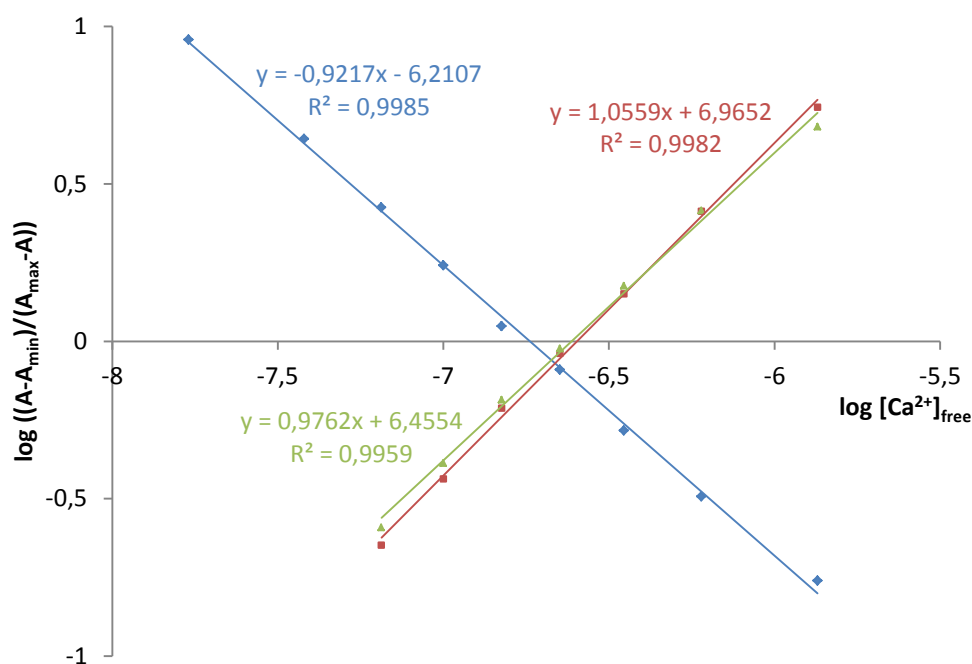


Figure IV-45 : détermination de la constante d'affinité du dérivé **27** pour Ca^{2+} dans l'eau en présence d'EGTA à pH = 7,2 par la méthode de Hill ; \blacklozenge à 266 nm, \blacksquare à 360 nm, \blacktriangle à 600 nm.

On constate que pour chacune des longueurs d'onde employées, on obtient une droite. Il est alors possible de déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium. Le calcul donne des valeurs de constante d'affinité de $5,47 \cdot 10^6$ à 266 nm, de $3,95 \cdot 10^6$ à 360 nm, et de $3,89 \cdot 10^6$ à 600 nm. La constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium en milieu aqueux à pH = 7,2 et en présence d'EGTA est donc d'environ $4,5 \cdot 10^6$. L'emploi de la méthode de Hill menant à l'obtention de droites et à des valeurs de constante d'affinité proches pour trois longueurs d'onde différentes, il est probable que l'hypothèse de départ soit vraie, à savoir que le complexe formé soit bien de stœchiométrie un cation pour un ligand. En revanche, on constate qu'en présence d'EGTA, la constante d'affinité du ligand **27**

est environ quatre cents fois plus importante qu'en l'absence d'EGTA. Ce résultat étant surprenant, nous avons cherché à le valider.

Afin de confirmer ou infirmer ce résultat nous avons utilisé une autre méthode pour déterminer la constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium, la méthode de Benesi-Hildebrand en faisant l'hypothèse que la stœchiométrie du complexe est de un cation pour un ligand.¹⁰⁵ Dans ce cas, à une longueur d'onde donnée, le tracé de l'inverse de la variation de l'absorbance en fonction de l'inverse de la concentration en cation est une droite dont la pente est le produit de l'ordonnée à l'origine et de la constante de dissociation. Les résultats obtenus en appliquant cette méthode à trois longueurs d'onde sont présentés en figure IV-46.

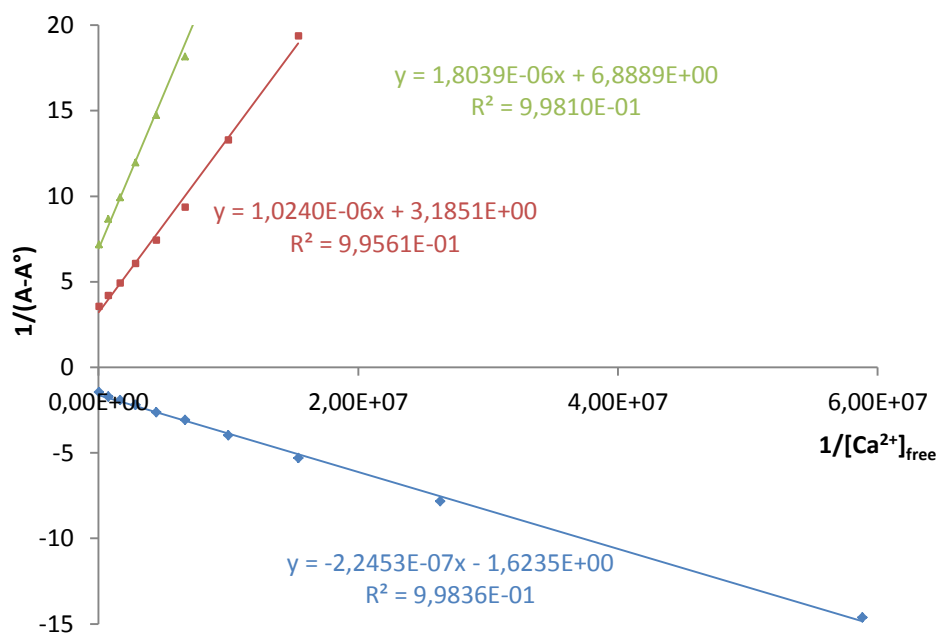


Figure IV-46 : détermination de la constante d'affinité du dérivé **27** pour Ca^{2+} dans l'eau en présence d'EGTA à pH = 7,2 par la méthode de Benesi-Hildebrand ; \blacklozenge à 266 nm, \blacksquare à 360 nm, \blacktriangle à 600 nm.

On constate que pour chacune des longueurs d'onde employées, on obtient une droite. Il est alors possible, à partir des équations de ces droites, de déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium. Le calcul donne des valeurs de constante d'affinité de $7,23 \cdot 10^6$ à 266 nm, de $3,11 \cdot 10^6$ à 360 nm, et de $3,82 \cdot 10^6$ à 600 nm. La constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium à pH 7 et en présence d'EGTA est donc d'environ $4,5 \cdot 10^6$. L'emploi de la méthode de Benesi-Hildebrand menant à l'obtention de droites et à des valeurs de constante d'affinité proches pour trois longueurs d'onde différentes, il est probable que l'hypothèse de départ soit vraie, à savoir que le complexe formé soit bien de stœchiométrie un cation pour un ligand.

On constate alors que les résultats obtenus en appliquant la méthode de Hill et ceux obtenus en appliquant la méthode de Benesi-Hildebrand sont cohérents. En présence d'EGTA, la constante d'affinité du ligand **27** est de $4,5 \cdot 10^6$, soit environ quatre cents fois plus importante qu'en l'absence d'EGTA, et du même ordre de grandeur que la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium. Le rôle de l'EGTA est donc plus complexe qu'attendu, et ne pas se limiter à ceux de ligand compétiteur, ou de régulateur de la concentration en calcium libre dans le milieu. Ces premiers résultats laissent à penser qu'il existerait une interaction forte entre l'EGTA et le ligand **27**.

ii) Etude à pH 10

Le dérivé **27** ayant un pK_a de 8,4 environ, nous avons également mené des études spectrophotométriques à $pH = 10,2$ en présence d'EGTA. Dans ces conditions, les formes prédominantes en solution du dérivé **27** et de l'EGTA sont les formes basiques polyanioniques amine-carboxylate. La constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium est alors de $6,58 \cdot 10^{11}$.¹⁰⁶

Les spectres obtenus dans ces conditions en fonction de la concentration en calcium sont présentés en figure IV-47. A pH 10, le spectre du dérivé **27** en présence d'EGTA présente trois bandes d'absorption, la première ayant un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $22\ 000\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à 266 nm, la seconde un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $7\ 000\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à 322 nm, et la troisième un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $1\ 300\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à 551 nm.

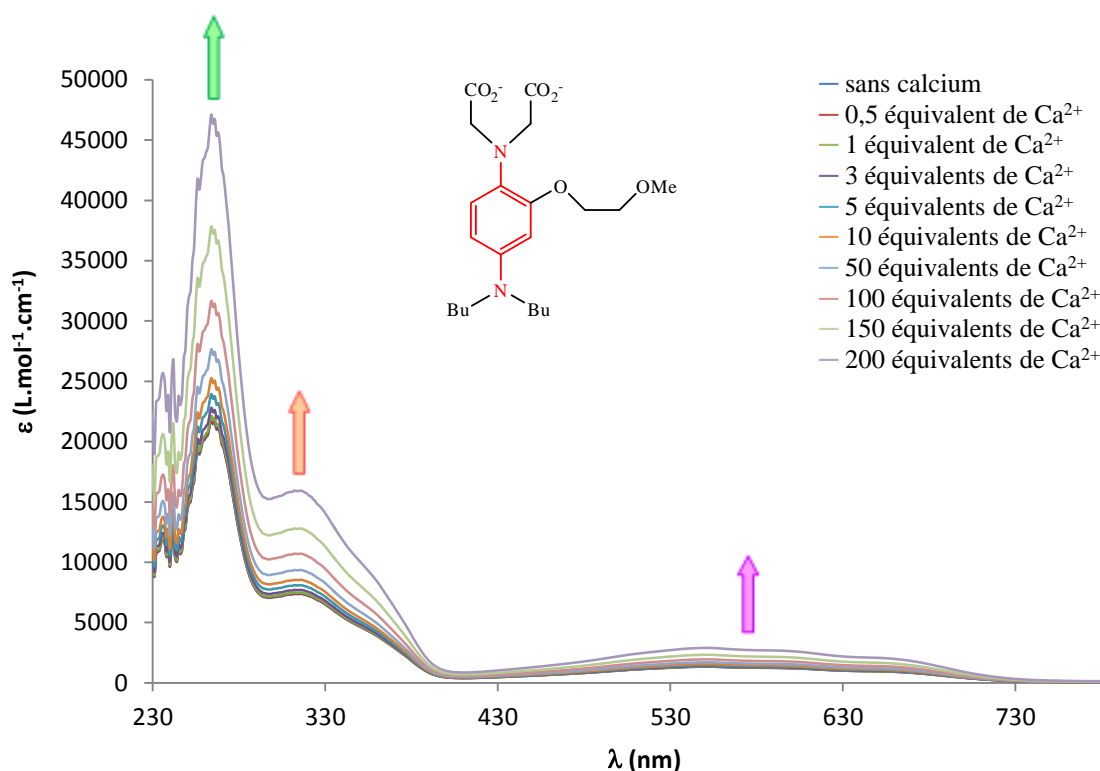


Figure IV-47 : spectres UV-visible du composé **27** $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau + MOPS $0,03\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + KCl $0,1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ + EGTA $0,01\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $pH = 10,2$.

La bande d'absorption à 266 nm correspond très probablement à une transition électronique d'une orbitale π vers une orbitale π^* , celle à 322 nm à une transition électronique d'une orbitale n vers une orbitale π^* , et celle à 551 nm à une transition électronique interdite de spin. En présence d'EGTA, on remarque que le spectre du dérivé **27** obtenu à pH 10 est très proche du spectre obtenu à pH 7, contrairement à ce qui a été observé en l'absence d'EGTA. Il semble donc que l'EGTA interagisse de manière assez semblable avec la forme acide ou la forme basique du ligand.

Lors des ajouts successifs de calcium, on observe une augmentation du coefficient d'absorption molaire des trois bandes d'absorption du spectre du dérivé **27**, contrairement à ce qui a été observé précédemment. A pH 7, que ce soit en présence ou en l'absence d'EGTA, l'ajout de calcium se traduit par une diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande de plus haute énergie, et non par une augmentation. Il semble donc que la diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande de plus haute énergie observée à pH 7 soit essentiellement due à la déprotonation du ligand **27**, indispensable à la complexation d'un cation, et non à cette complexation elle-même. Au

contraire, il semble que l'effet de la complexation du calcium par la forme déprotonnée du ligand **27** sur cette bande d'absorption soit une augmentation du coefficient d'absorption molaire de cette dernière.

Afin de déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium à pH 10, nous avons utilisé la méthode de Hill. Les résultats obtenus en appliquant cette méthode à trois longueurs d'onde différentes sont présentés en figure IV-48.

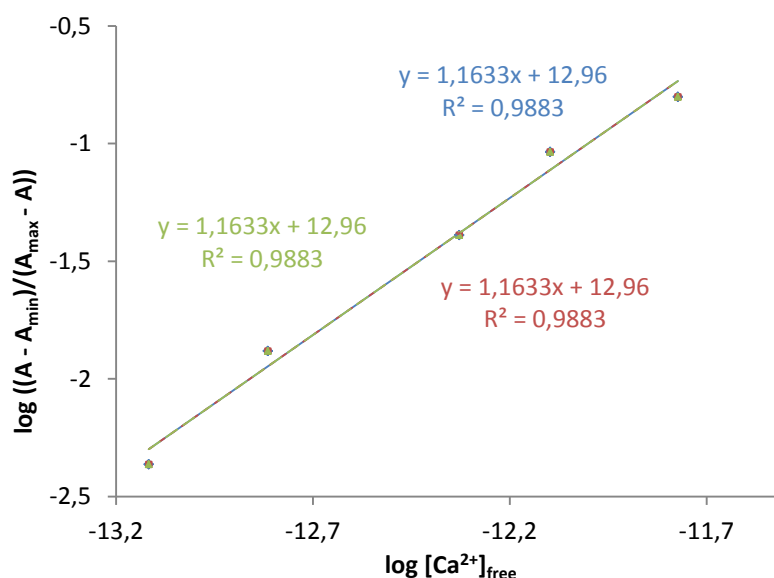


Figure IV-48 : détermination de la constante d'affinité du dérivé **27** pour Ca^{2+} dans l'eau en présence d'EGTA à $\text{pH} = 10,2$ par la méthode de Hill ; \blacklozenge à 266 nm, \blacksquare à 322 nm, \blacktriangle à 551 nm.

On constate que pour chacune des longueurs d'onde employées, on obtient une droite, et que les trois droites obtenues sont parfaitement superposées. Il est alors possible de déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium. Le calcul donne une valeur de constante d'affinité de $1,38 \cdot 10^{11}$ pour les trois longueurs d'onde d'étude. La constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium en milieu aqueux à $\text{pH} = 10,2$ et en présence d'EGTA est donc de l'ordre de 10^{11} . L'emploi de la méthode de Hill menant à l'obtention de droites et à des valeurs de constante d'affinité proches pour trois longueurs d'onde différentes, il est probable que l'hypothèse de départ soit vraie, à savoir que le complexe formé soit bien de stœchiométrie un cation pour un ligand. En revanche, on constate qu'en présence d'EGTA et à pH 10, la constante d'affinité du ligand **27** est extrêmement élevée. Ce résultat étant surprenant, nous avons cherché à le valider.

Les résultats obtenus en appliquant la méthode de Benesi-Hildebrand à trois longueurs d'onde différentes sont présentés en figure IV-49.

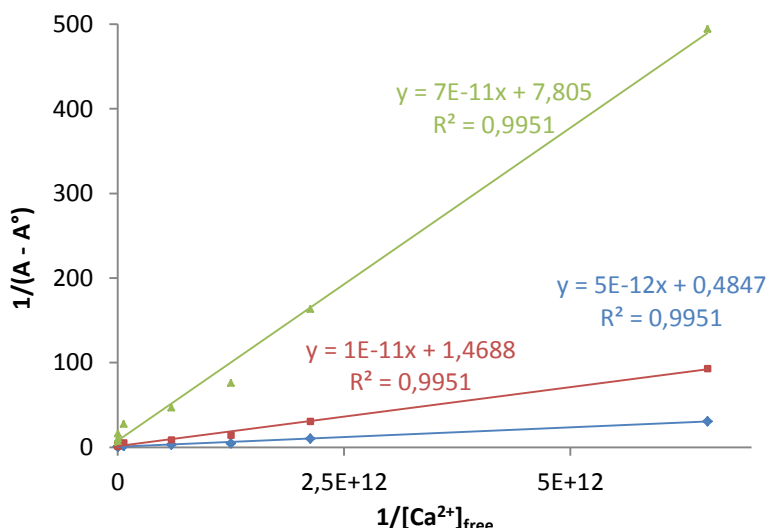


Figure IV-49 : détermination de la constante d'affinité du dérivé **27** pour Ca^{2+} dans l'eau en présence d'EGTA à $\text{pH} = 10,2$ par la méthode de Benesi-Hildebrand ; \blacklozenge à 266 nm, \blacksquare à 322 nm, \blacktriangle à 551 nm.

On constate que pour chacune des longueurs d'onde employées, on obtient une droite. Il est alors possible de déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium. Le calcul donne une valeur de constante d'affinité de $1,06 \cdot 10^{11}$ aux trois longueurs d'onde d'étude. La constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium en milieu aqueux à $\text{pH} = 10,2$ et en présence d'EGTA est donc de l'ordre de 10^{11} . L'emploi de la méthode de Benesi-Hildebrand menant à l'obtention de droites et à des valeurs de constante d'affinité proches pour trois longueurs d'onde différentes, il est probable que l'hypothèse de départ soit vraie, à savoir que le complexe formé soit bien de stœchiométrie un cation pour un ligand.

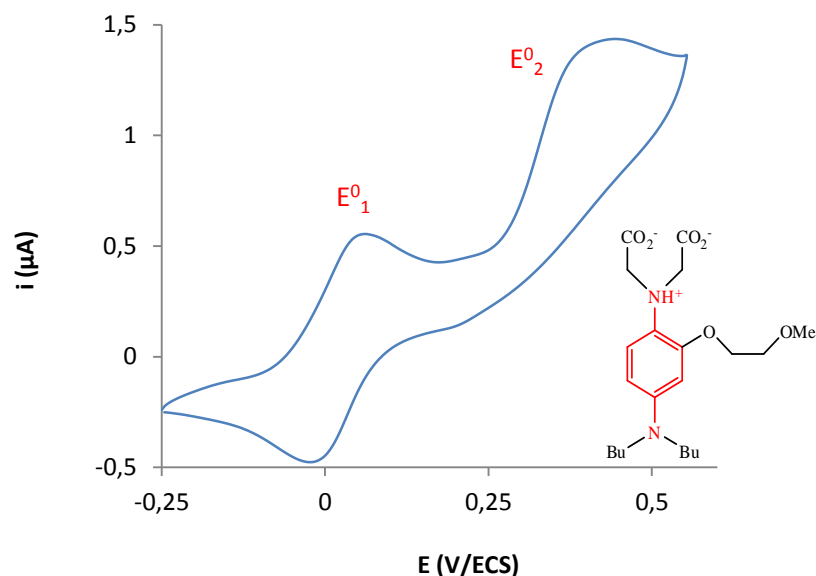
On constate alors que les résultats obtenus en appliquant la méthode de Hill et ceux obtenus en appliquant la méthode de Benesi-Hildebrand sont cohérents. En présence d'EGTA, à $\text{pH} 10$, la constante d'affinité du ligand **27** est de l'ordre de 10^{11} , soit du même ordre de grandeur que la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium dans cette gamme de pH . Le pH a donc un effet très important sur les propriétés de ligand du composé **27**. Par ailleurs, en l'absence d'EGTA, l'augmentation du pH s'accompagne d'une diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande de plus haute énergie du spectre du ligand (rappel : en l'absence d'EGTA, pour $\lambda = 265 \text{ nm}$, à $\text{pH} \approx 7$, $\epsilon \approx 13\,000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$; à $\text{pH} \approx 9$, $\epsilon \approx 11\,000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), tandis qu'en présence d'EGTA, la bande d'absorption à la longueur d'onde de 266 nm présente un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $20\,000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, à $\text{pH} 7$ comme à $\text{pH} 10$. L'EGTA semble donc jouer un autre rôle que celui de ligand compétiteur, ou que celui de régulateur de la concentration en calcium libre dans le milieu, et interagir avec le ligand libre comme avec le ligand complexé, en modifiant leur densité électronique. Si tel est le cas, les études électrochimiques devraient être modifiées également.

b) Electrochimie

i) Etude à $\text{pH} 7$

Le dérivé **27** a été étudié par voltammétrie cyclique en milieu aqueux tamponné ($\text{pH} = 7,2$), en présence d'EGTA, et en l'absence et en présence de calcium et de magnésium. Les formes prédominantes en solution du composé **27** et de l'EGTA sont donc les formes acides zwitterioniques ammonium-carboxylate. Dans ces conditions, la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium est de $6,64 \cdot 10^6$.¹⁰⁶

Le voltammogramme du dérivé dialcane **27** à pH 7 en présence d'EGTA est présenté en figure IV-50.



On observe un comportement identique à celui observé dans les mêmes conditions en l'absence d'EGTA, à savoir une première vague d'oxydation monoélectronique et réversible E⁰₁, et une seconde vague d'oxydation irréversible E⁰₂. Ces deux vagues ont des potentiels caractéristiques similaires à ceux observés en l'absence d'EGTA. La présence d'EGTA ne modifie donc pas les caractéristiques électrochimiques du composé **27** à pH 7.

La figure IV-51 présente l'évolution des courants de pic de la première vague d'oxydation du composé **27** en fonction de la vitesse de balayage. On constate que les courants de pic augmentent linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage, comportement caractéristique d'un système en solution régi par la diffusion.

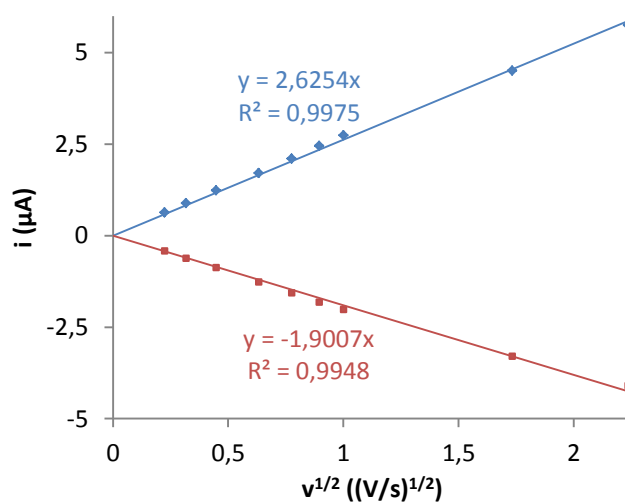


Figure IV-51 : tracé de l'évolution des courants de pics en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage ;
 ◆ courant de pic d'oxydation, ■ courant de pic de réduction.

La figure IV-52 présente l'évolution de la première vague d'oxydation du dérivé dialcane **27** lors de l'ajout de calcium en présence d'EGTA à pH 7.

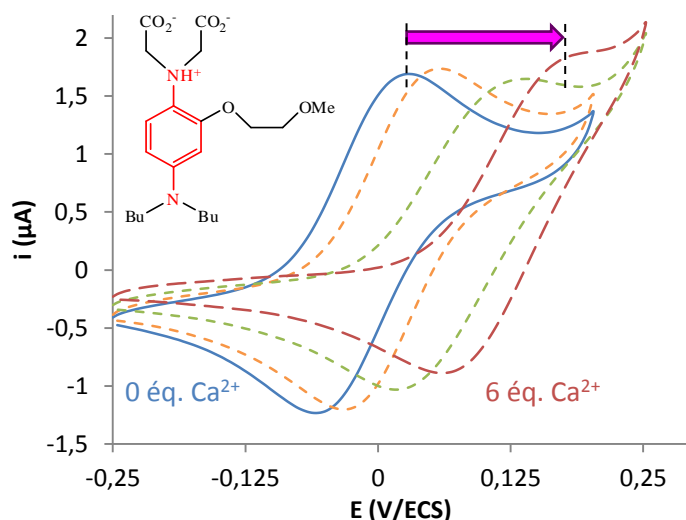


Figure IV-52 : voltammogrammes du composé **27** 2 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ + EGTA $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,2 ; — sans Ca^{2+} soit $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}} = 0 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$, --- + 2 équivalents de Ca^{2+} soit $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}} = 0,10 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$, + 4 équivalents de Ca^{2+} soit $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}} = 0,60 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$, - - - + 6 équivalents de Ca^{2+} soit $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{free}} = 2,0 \text{ mmol.L}^{-1}$; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On observe un déplacement de cette vague vers les plus hauts potentiels lors de l'ajout de calcium, déplacement d'autant plus important que la quantité de calcium ajoutée est élevée, soit un comportement de détecteur de cation proche de celui observé en l'absence d'EGTA. Cependant, il est à noter que cet effet de déplacement de vague est beaucoup plus marqué qu'en l'absence d'EGTA, alors même que la quantité de calcium libre dans le milieu est beaucoup plus faible. On remarque également que le déplacement du pic d'oxydation maximal est d'environ 160 mV en présence d'EGTA, alors qu'il n'est que de 130 mV environ en l'absence d'EGTA.

Nous avons alors étudié le déplacement en potentiel de la première vague redox ΔE_p du dérivé dialcane **27** en fonction de la concentration en calcium libre, ou du logarithme décimal de cette concentration (cf. figure IV-53).

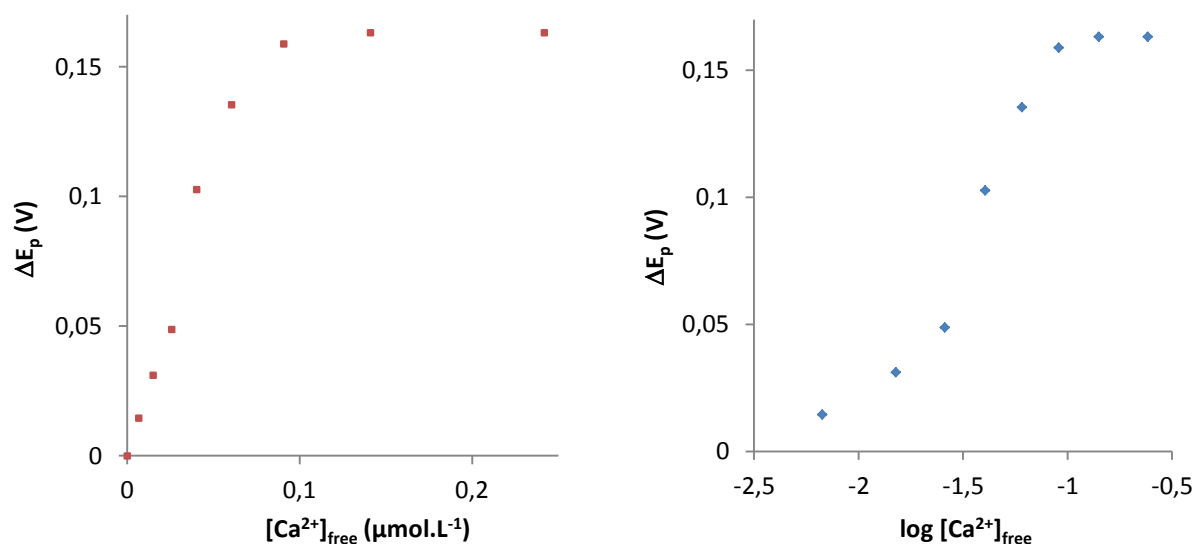


Figure IV-53 : évolution du déplacement de la première vague d'oxydation ΔE_p du composé **27** 1 mmol.L^{-1} à $pH = 7,2$ en présence d'EGTA, en fonction de la concentration en calcium libre (à gauche), ou du logarithme décimal de cette concentration (à droite).

On constate alors que, après une augmentation rapide du déplacement en potentiel de la première vague redox ΔE_p du dérivé dialcane **27**, on atteint une valeur limite au-delà de laquelle l'ajout de calcium n'a plus d'influence sur cette vague redox. On observe que cette valeur limite est atteinte pour une concentration en calcium libre très largement inférieure à la concentration en ligand, et correspondant à une quantité totale de calcium de l'ordre de quelques équivalents par rapport au ligand, alors que pour atteindre la valeur maximale du déplacement de pic en l'absence d'EGTA, la concentration en calcium doit être de l'ordre de plusieurs centaines d'équivalents par rapport au ligand. Il semble donc que, contrairement à ce qui est attendu en présence d'un ligand compétiteur, la présence d'EGTA favorise la complexation du calcium par le ligand **27** et améliore la sensibilité de ce système de détection du calcium. Par conséquent, dans ces conditions (milieu aqueux, $pH\ 7$), l'EGTA joue un autre rôle que celui de ligand compétiteur. Bien que nous n'ayons pas pu identifier clairement ce rôle, une hypothèse envisageable est que l'EGTA aide à la déprotonation du ligand **27**, donc favorise la formation de la forme dianionique amine-dicarboxylate du ligand à $pH\ 7$, facilitant ainsi la complexation du calcium par le ligand **27**.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'effet de l'augmentation de la concentration en calcium sur la seconde vague d'oxydation du dérivé dialcane **27** à $pH\ 7$ en présence d'EGTA. Les voltammogrammes de ce composé en l'absence et en présence de calcium sont présentés en figure IV-54. On constate que, si la première vague d'oxydation est déplacée vers les plus hauts potentiels lors de l'ajout de calcium, la seconde vague d'oxydation n'est pas affectée par la présence de calcium. Ceci confirme qu'entre la première et la seconde oxydation du composé **27**, le cation calcium a été relargué et n'est plus complexé par le ligand, comme en l'absence d'EGTA.

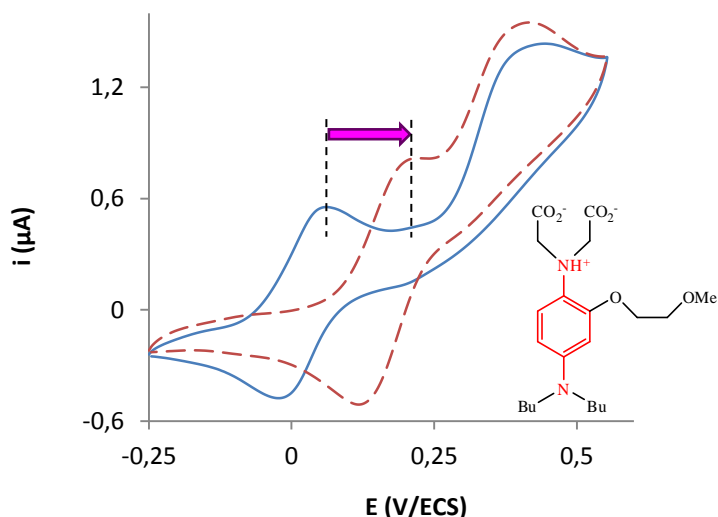


Figure IV-54 : voltammogrammes du composé **27** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ + EGTA $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,2 ; — sans calcium, --- + 10 équivalents de calcium ; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

Le relargage de calcium contrôlé électrochimiquement par le ligand **27** est donc également possible en présence d'EGTA. Il est à noter que ce phénomène de relargage est observé en présence d'EGTA pour des quantités de calcium beaucoup plus faibles que celles nécessaires en l'absence d'EGTA. Ce résultat n'est cependant pas surprenant au vu des observations similaires concernant le phénomène de détection du calcium, et l'effet facilitant de l'EGTA peut très probablement s'expliquer de la même manière que précédemment (aide à la déprotonation de **27**).

Afin d'étudier plus avant le rôle de l'EGTA, nous nous sommes intéressés à l'effet d'une augmentation progressive de la concentration en EGTA à pH 7 sur le comportement électrochimique du ligand **27**. Les voltammogrammes obtenus sont présentés en figure IV-55.

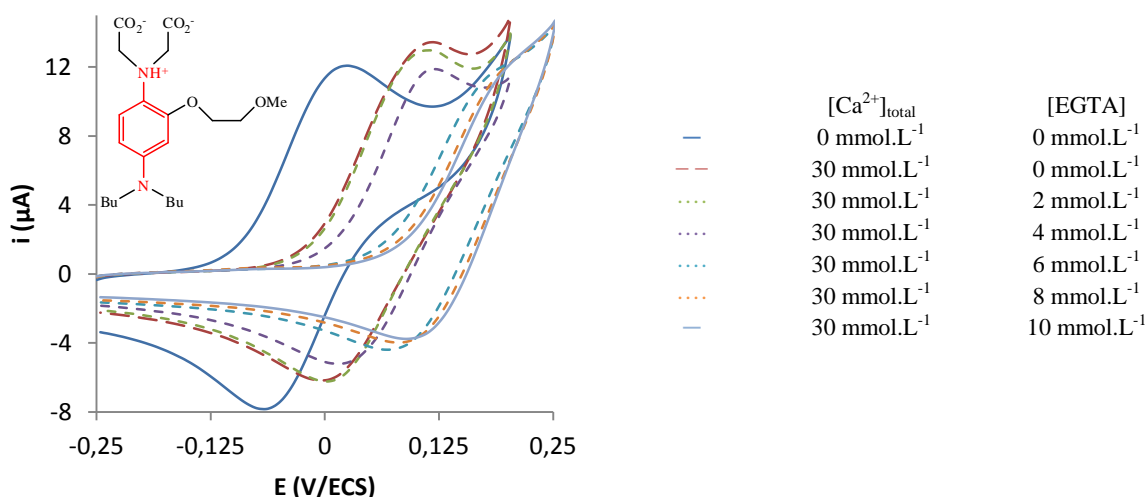


Figure IV-55 : voltammogrammes du composé **27** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, pH = 7,2 ; vitesse de balayage $0,2 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (5 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

Nous avons alors constaté qu'en présence de 15 équivalents de calcium et à pH 7, une concentration en EGTA inférieure à 5 mmol.L^{-1} , soit 5 fois la concentration en ligand **27**, est sans effet sur les propriétés électrochimiques de ce dernier : le comportement électrochimique du ligand **27** dans ces conditions est similaire à celui observé en l'absence d'EGTA. En revanche, l'ajout de plus de 5

équivalents d'EGTA par rapport au ligand **27** permet de retrouver un comportement électrochimique identique à celui observé en présence d'EGTA. Une fois passée cette valeur limite de 5 équivalents d'EGTA par rapport au ligand **27**, l'augmentation ultérieure de la concentration en EGTA n'a que peu d'effet supplémentaire. Il est possible que, pour aider à la déprotonation du ligand **27**, il soit nécessaire d'être en présence d'un large excès d'EGTA. Mais il est assez étonnant que cet effet soit inexistant en dessous d'une certaine concentration-limite, et à l'inverse très fort au-dessus de cette concentration-limite. Il est donc probable qu'il y a d'autres effets en jeu. Au vu de la modification du spectre du ligand **27** induite par la présence d'EGTA, il est raisonnable d'envisager la formation d'un adduit entre l'EGTA et le ligand **27**, adduit qui ne se forme qu'au-delà d'une concentration-limite en EGTA. La formation de cet adduit faciliterait ensuite la déprotonation du ligand par l'EGTA, et par conséquent la complexation du calcium par le ligand **27**.

Enfin, nous avons étudié la sélectivité de ce système pour le calcium par rapport au magnésium en présence d'EGTA. La figure IV-56 présente quelques voltammogrammes du dérivé dialcane **27** à pH 7 en l'absence et en présence des différents cations étudiés.

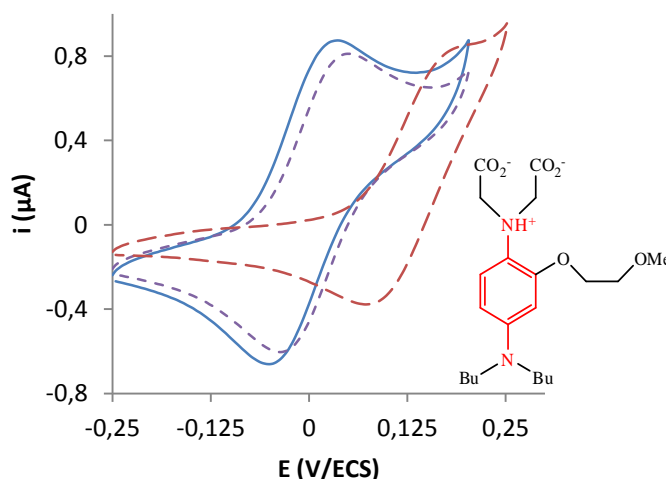


Figure IV-56 : voltammogrammes du composé **27** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ + EGTA $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,2 ; — sans calcium, ···· + 10 équivalents de magnésium, --- + 10 équivalents de magnésium + 10 équivalents de calcium ; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE, Pt, Ref : ECS.

On constate que l'ajout de 10 équivalents de magnésium s'accompagne d'un très léger déplacement de la première vague d'oxydation du dérivé **27** vers les plus hauts potentiels. Mais ensuite, l'ajout de 10 équivalents de calcium se traduit par un déplacement très important de cette vague vers les plus hauts potentiels. Ce système reste donc sélectif pour le calcium à pH 7 et en présence d'EGTA.

ii) Etude à pH 10

Le dérivé **27** ayant un comportement spectrophotométrique très différent selon le pH en présence d'EGTA, nous avons également mené des études électrochimiques à pH = 10,2 en présence d'EGTA. Dans ces conditions, les formes prédominantes en solution du dérivé **27** et de l'EGTA sont les formes basiques polyanioniques amine-carboxylate. La constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium est alors de $6,58 \cdot 10^{11}$.¹⁰⁶

La figure IV-57 présente quelques voltammogrammes du ligand **27** en milieu aqueux contenant de l'EGTA et à pH 10, en fonction de la concentration en calcium.

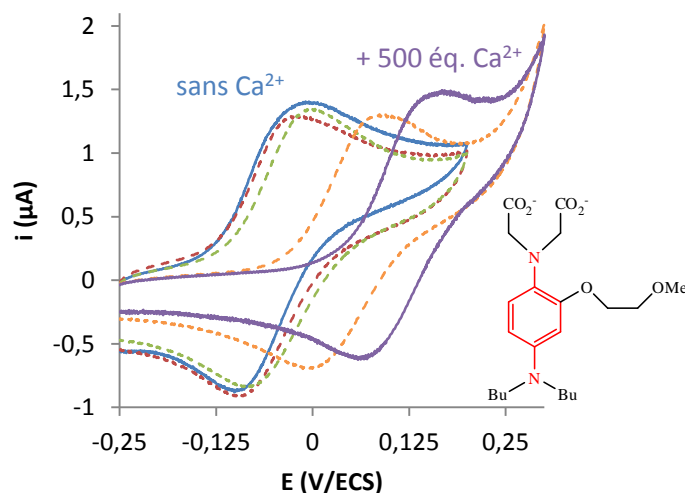


Figure IV-57 : voltammogrammes du composé **27** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ + EGTA $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 10,2 ; — sans Ca^{2+} , ... + 10 équivalents de Ca^{2+} , ... + 15 équivalents de Ca^{2+} , ... + 100 équivalents de Ca^{2+} , — + 500 équivalents de Ca^{2+} ; vitesse de balayage $0,2 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE, Pt, Ref : ECS.

On constate que le voltammogramme du ligand **27** à pH 10 en l'absence de calcium n'est pas modifié par la présence d'EGTA : il présente une vague d'oxydation monoélectronique réversible ayant des potentiels caractéristiques similaires à ceux obtenus en l'absence d'EGTA. On observe également que l'ajout d'une quantité de calcium inférieure à 10-15 équivalents de ligand n'a quasiment aucun effet sur le voltammogramme du ligand **27**. Il faut ajouter de très grandes quantités de calcium pour observer un déplacement significatif de la vague d'oxydation du ligand **27** vers les plus hauts potentiels. Ce résultat est en contradiction avec les observations faites en spectrophotométrie UV-visible, observations ayant mené à la détermination d'une très grande constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium dans ces conditions.

Afin d'essayer de rationaliser ces résultats surprenants, nous avons étudié l'évolution du potentiel de demi-vague $E^{1/2}$ de la première vague redox du dérivé dialcane **27** en fonction du nombre d'équivalents de calcium, ou du logarithme décimal de ce nombre d'équivalents (cf. figure IV-58).

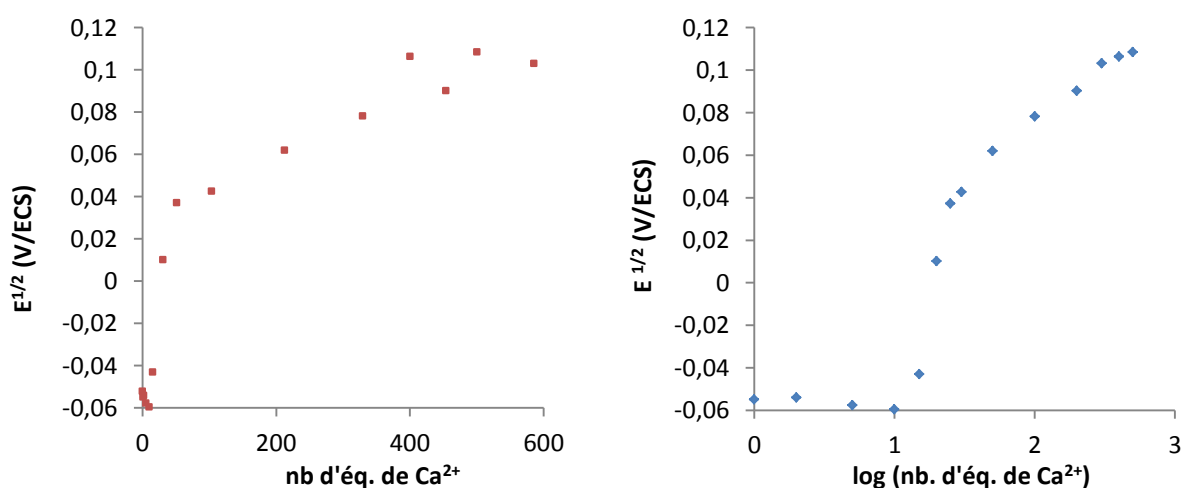


Figure IV-58 : évolution du potentiel de demi-pic $E^{1/2}$ de la première vague d'oxydation du composé **27** 1 mmol.L^{-1} à pH = 10,2 en présence d'EGTA, en fonction du nombre d'équivalents de calcium par rapport au ligand **27** (à gauche), ou du logarithme décimal de ce nombre d'équivalents (à droite).

On constate que le potentiel de demi-pic de la première vague d'oxydation du composé **27** n'évolue qu'à partir du moment où la quantité de calcium est supérieure à 10 équivalents de ligand, soit à partir du moment où la concentration totale en calcium est supérieure à 10 mmol.L⁻¹. Or cette concentration-limite correspond à la concentration du milieu en EGTA. Ceci indique que le calcium est tout d'abord capté par l'EGTA, puis, une fois que l'EGTA est saturée en calcium, l'excès de calcium interagit avec le ligand **27** et est détecté par ce dernier. Ce résultat va à l'encontre des observations spectrophotométriques dans les mêmes conditions, observations ayant mené à l'obtention d'une constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium du même ordre de grandeur que celle de l'EGTA. Une hypothèse envisageable est la formation d'un adduit de trois espèces : le ligand **27**, l'EGTA et le cation calcium. En effet, les études spectrophotométriques ont montré l'existence d'une interaction entre le ligand **27** et l'EGTA, même en l'absence de calcium, et quelque soit le pH du milieu, modifiant fortement le spectre du ligand **27**. En revanche, cette interaction ligand **27** / EGTA n'a pas d'effet sur le voltammogramme du ligand **27**, donc n'affecte pas le centre redox de celui-ci. Au vu de ces différentes observations, il est donc possible que la complexation du calcium par l'EGTA se traduise par une modification du spectre du ligand **27**, mais n'ait aucun impact sur le voltammogramme de ce composé. La constante d'affinité déterminée par spectrophotométrie serait donc en fait la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium à pH 10, et effectivement, dans ce cas la valeur de l'ordre de 10¹¹ est en bon accord avec la littérature.

c) Conclusions

La présence d'EGTA dans le milieu n'affecte pas les propriétés de détection et de relargage du calcium en milieu aqueux du dérivé **27**, mais son rôle est beaucoup plus complexe qu'attendu.

Les études spectrophotométriques ont conduit à l'obtention de constantes d'affinité du ligand **27** pour le calcium bien plus élevées qu'attendu : en présence d'EGTA, à pH 7, la constante d'affinité a été évaluée à 4,5 10⁶ environ, et à pH 10, à 10¹¹ environ. Par ailleurs, ces études ont également montré que le spectre du ligand **27** seul en solution est modifié en présence d'EGTA. Il semble donc qu'il y ait une interaction entre le ligand et l'EGTA quelque soit le pH.

Les études électrochimiques ont montré que, quelque soit le pH de la solution, le voltammogramme du ligand **27** seul en solution n'est quasiment pas modifié par la présence d'EGTA. Un très léger déplacement de la première vague d'oxydation est observé à pH 7 en présence d'EGTA. S'il existe une interaction entre l'EGTA et le ligand, elle n'affecte donc quasiment pas le centre redox. Par ailleurs, les déplacements de vague observés lors de l'ajout de calcium ont la même amplitude maximale en l'absence et en présence d'EGTA, et ce quelque soit le pH (*cf.* figure IV-59).

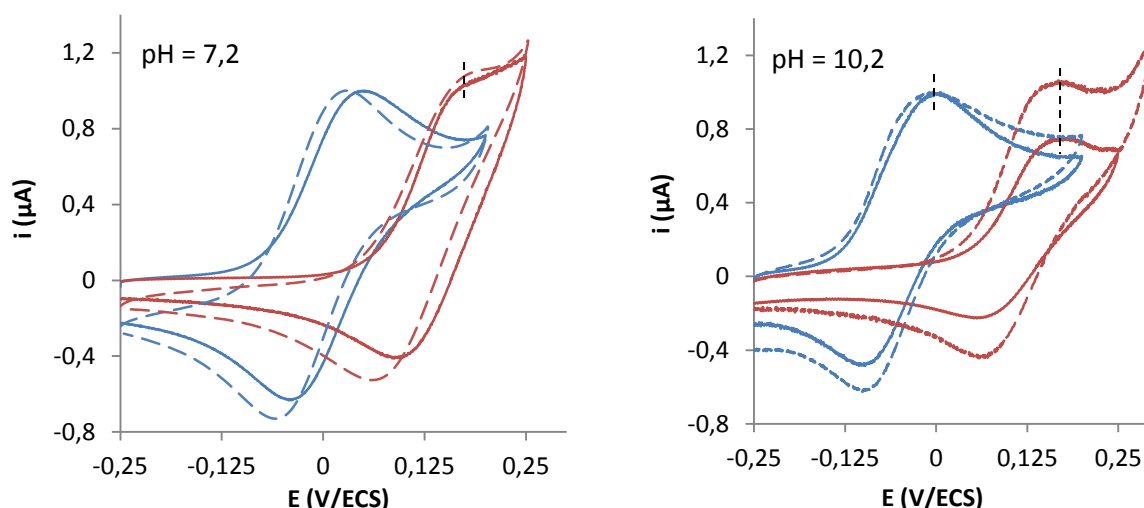


Figure IV-59 : voltammogrammes normalisés du composé **27** dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$;
à gauche pH = 7,2 ; à droite pH = 10,2 ;
— sans Ca^{2+} , sans EGTA, — avec Ca^{2+} , sans EGTA, --- sans Ca^{2+} , avec EGTA, --- avec Ca^{2+} , avec EGTA ;
vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE, Pt, Ref : ECS.

En revanche, ces déplacements de vague se produisent pour des quantités de calcium différentes selon qu'il y a ou non de l'EGTA dans le milieu.

A pH 7, la présence d'EGTA semble améliorer les propriétés de détection et de relargage du calcium en milieu aqueux du dérivé **27** : on observe les phénomènes de détection et de relargage du calcium par le ligand **27** pour des quantités de calcium beaucoup plus faibles que celles nécessaires pour l'observation de ces phénomènes en l'absence d'EGTA. Ce résultat est en accord avec l'augmentation de la constante d'affinité du ligand pour le calcium mise en évidence par spectrophotométrie. Une hypothèse permettant d'expliquer ce comportement est la formation d'un adduit ligand-EGTA, facilitant la déprotonation du ligand par l'EGTA, ce qui favorise la complexation du calcium par le ligand **27**. Le fait que l'EGTA n'ait un effet que si sa concentration est supérieure à une concentration-limite est un argument en faveur de l'hypothèse de la formation d'un adduit.

A pH 10, on ne peut observer les phénomènes de détection et de relargage du calcium par le ligand **27** qu'après avoir ajouté autant de calcium que d'EGTA en solution, soit après avoir neutralisé la totalité de l'EGTA présente en solution par formation du complexe EGTA-calcium. Pourtant une modification du spectre du ligand est observée pour des concentrations en calcium inférieures à la concentration en EGTA. Une hypothèse envisageable est donc la formation d'un adduit EGTA-ligand **27** avant ajout de calcium, puis la formation d'un adduit de trois espèces : le ligand **27**, l'EGTA et le cation calcium. En effet, les études spectrophotométriques ont montré l'existence d'une interaction entre le ligand **27** et l'EGTA, même en l'absence de calcium. En revanche, cette interaction ligand **27** / EGTA n'a pas d'effet sur le voltammogramme du ligand **27**, et par conséquent n'affecte pas le centre redox de celui-ci. Au vu de ces différentes observations, il est possible que la complexation du calcium par l'EGTA se traduise par une modification du spectre du ligand **27**, mais n'ait aucun impact sur le voltammogramme de ce composé. La constante d'affinité déterminée par spectrophotométrie serait donc en fait la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium à pH 10, et effectivement, dans ce cas la valeur de l'ordre de 10^{11} est en bon accord avec la littérature.

L'EGTA ne joue donc pas seulement le rôle de ligand compétiteur du calcium. Elle interagit également avec le ligand **27**, et, à pH 7, facilite la déprotonation du ligand, donc la complexation du calcium par ce dernier.

III) Vers un système en phase adsorbée

La présence de fonctions alcyne terminal sur les dérivés **24** et **25** permet d'envisager une réaction de « chimie-click », la cycloaddition 1,3-dipolaire d'un azoture sur un alcyne, catalysée par le cuivre (I), et menant aux 1,2,3-triazoles 1,4-substitués.^{81, 82, 83, 84} Il a été montré récemment que cette réaction peut être effectuée à la surface d'une électrode modifiée par un thiol portant l'un ou l'autre des groupes fonctionnels mis en jeu, et permettre ainsi de greffer un composé électroactif à la surface de l'électrode.⁸⁵⁻⁸⁹ Comme nous avons déjà isolé des dérivés portant des fonctions alcyne, nous avons préparé un thiol portant une fonction azoture en vue de la formation d'une SAM par greffage sur électrode d'or puis d'une modification par « chimie-click » de cette SAM.

1) Préparation d'un thiol portant un azoture et fonctionnalisation d'électrode

Pour obtenir des SAMs parfaitement organisées, il est nécessaire d'utiliser un thiol à longue chaîne saturée. A l'inverse, pour assurer un transfert électronique assez rapide à travers la SAM, il faut choisir un thiol à chaîne courte. Un bon compromis entre ces deux exigences est d'utiliser un thiol ayant une chaîne de 4 à 8 atomes de carbone. Nous avons donc préparé le dérivé de l'hexanethiol fonctionnalisé par un azoture en position 6, le composé **28**, dont la synthèse est présentée en figure IV-60.

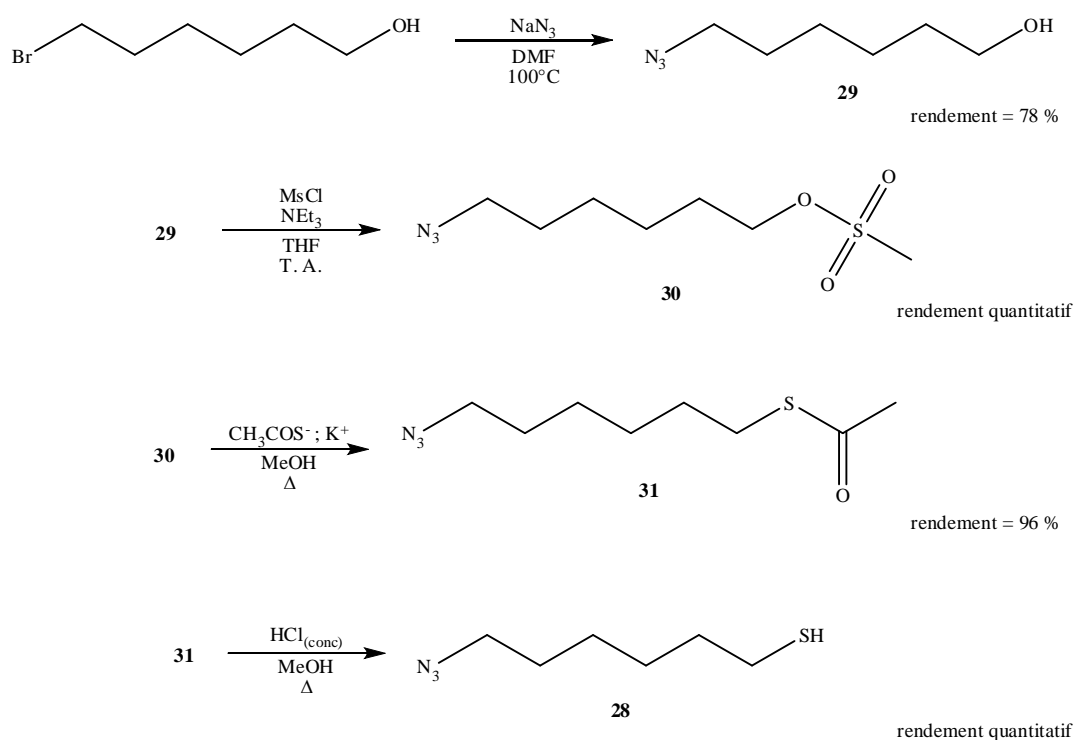


Figure IV-60 : synthèse du composé **28**

Cette synthèse est adaptée de la synthèse du dérivé analogue du décanethiol réalisée par Collman *et al.*⁸⁵ La fonction bromure du 6-bromohexan-1-ol est convertie en fonction azoture par réaction avec l'azoture de sodium avec un rendement de 78 %. La fonction alcool est ensuite convertie en groupe nucléofuge par méthylation avec un rendement quantitatif. Le groupe méthyloxy est alors substitué par le thioacétate pour mener à l'obtention du produit **31** avec un rendement de 96 %. Après hydrolyse du thioacétate **31** en milieu acide, le thiol désiré **28** est isolé avec un rendement quantitatif. L'ensemble des étapes ayant des rendements excellents, il est aisé d'obtenir rapidement de grandes quantités du

thiol **28**. Il est également possible d'isoler le thioacétate **31**, qui permettra de tester la réaction de « chimie-click » en solution si besoin.

L'incubation d'une électrode d'or dans une solution du thiol **28** à 1 mmol.L^{-1} dans l'éthanol pendant une heure permet d'obtenir une SAM pure à la surface de l'électrode. Cette électrode modifiée peut alors être utilisée pour le greffage par « chimie-click » d'un dérivé portant une fonction alcyne.

2) Milieu organique : validation

Pour greffer le dérivé **24** à la surface de l'électrode modifiée précédemment obtenue, cette électrode est incubée environ 3 heures sous argon dans une solution éthanolique désoxygénée contenant le dérivé **24** à 2 mmol.L^{-1} , du sulfate de cuivre (II) à 2 mmol.L^{-1} , de l'ascorbate de sodium à 6 mmol.L^{-1} et du TBTA à 2 mmol.L^{-1} . L'ascorbate de sodium permet de réduire le cuivre (II) en cuivre (I), et le TBTA de stabiliser le cuivre (I) en solution par formation d'un complexe. Dans ces conditions, une SAM modifiée par le dérivé **24** électroactif a pu être obtenue et étudiée par voltammétrie cyclique (cf. figure IV-61).

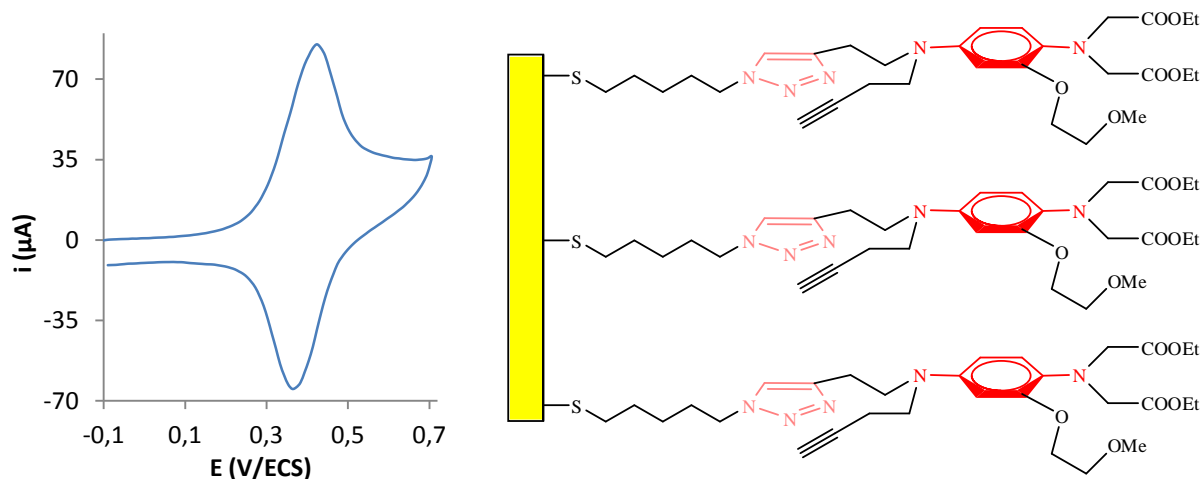


Figure IV-61 : voltammogramme dans l'acétonitrile + NBu_4BF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ d'une SAM pure obtenue par greffage du dérivé diester **24** ; vitesse de balayage 5 V.s^{-1} ; WE : or, CE : Pt, Ref : ECS.

On observe alors une vague d'oxydation réversible monoélectronique, correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical-cation. On remarque que l'écart de potentiel entre le pic d'oxydation et le pic de réduction est quasi-nul, ce qui est caractéristique d'un système redox fixé à la surface de l'électrode. Le dérivé **24** a donc bien été greffé à la surface de l'électrode. Les pics étant fins et bien résolus, la SAM formée est organisée, et tous les centres redox sont équivalents pour l'électrode.

Il est donc bien possible de greffer en milieu organique par « chimie-click » à la surface d'une électrode modifiée un composé couplant une phénylènediamine à un ligand, sans altérer les propriétés redox du composé. Par ailleurs, lors de l'ajout de calcium, il a été observé un déplacement de la vague redox vers les plus hauts potentiels. Les propriétés de ligand du composé ne sont donc pas non plus affectées par le greffage du système par « chimie-click » à la surface de l'électrode.

La modification d'une électrode fonctionnalisée par greffage d'un composé électroactif par « chimie-click » étant validée en milieu organique, nous avons ensuite essayé de travailler en milieu aqueux.

3) Milieu aqueux : perspectives

Pour travailler en milieu aqueux, il faut fonctionnaliser l'électrode avec un dérivé dicarboxylate, le composé **25**. Cette fonctionnalisation doit se faire sous atmosphère inerte car le centre redox du composé **25**, une phénylènediamine est très facilement oxydable. Les temps de réaction pouvant être longs, et vu la difficulté de travailler en milieu aqueux désoxygéné plus de quelques heures, la fonctionnalisation a été effectuée dans le DMSO, et les études électrochimiques ultérieures en milieu aqueux.

Pour greffer le dérivé **25** à la surface de l'électrode modifiée précédemment obtenue, cette électrode est incubée environ 3 heures sous argon dans du DMSO désoxygéné contenant le dérivé **25** à 2 mmol.L^{-1} , du sulfate de cuivre (II) à 2 mmol.L^{-1} , de l'ascorbate de sodium à 6 mmol.L^{-1} et du TBTA à 2 mmol.L^{-1} . Dans ces conditions, une SAM modifiée par le dérivé **25** électroactif a pu être obtenue et étudiée par voltammétrie cyclique (cf. figure IV-62).

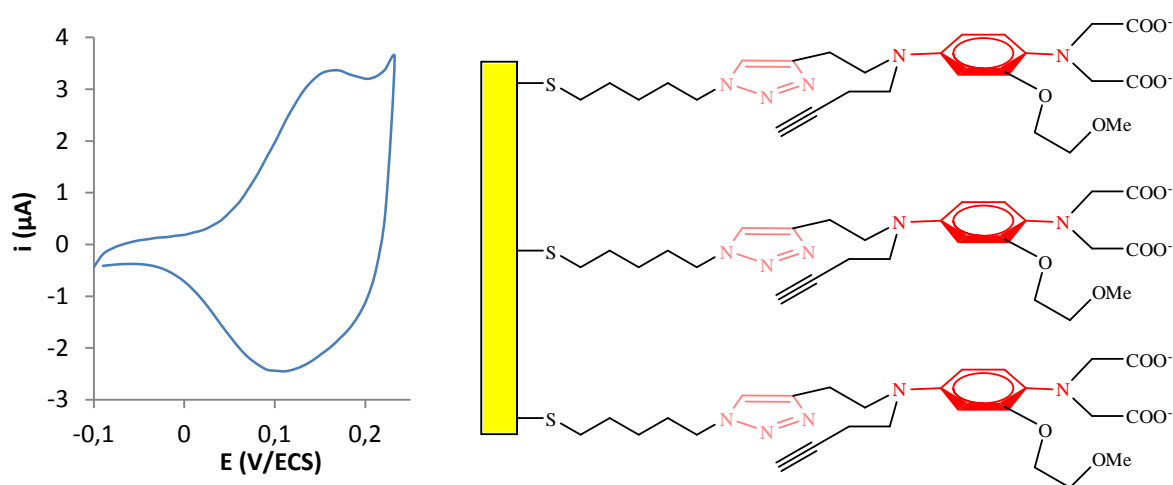


Figure IV-62 : voltammogramme dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ d'une SAM pure obtenue par greffage du dérivé dicarboxylate **25** ; vitesse de balayage 1 V.s^{-1} ; WE : or, CE : Pt, Ref : ECS.

On observe alors une vague d'oxydation quasi-réversible, correspondant probablement à l'oxydation de la phénylènediamine en radical-cation, avec un écart de potentiel entre le pic d'oxydation et le pic de réduction quasi-nul, ce qui est caractéristique d'un système redox fixé à la surface de l'électrode. Cependant, on constate également que les pics sont très larges et mal définis, ce qui les rend inexploitable pour des études ultérieures. En effet, l'ajout de calcium n'a aucun effet sur le voltammogramme de la SAM, le déplacement éventuel de la vague étant peut-être masqué par sa largeur. Cet élargissement des pics est probablement dû à une mauvaise organisation de la SAM, ce qui a pour conséquence que les centres redox ne sont pas tous équivalents.

Afin d'obtenir une SAM mieux organisée, nous avons alors de nouveau préparé une SAM du dérivé diester **24**, et tenté d'hydrolyser les fonctions ester après greffage du composé électroactif pour obtenir une SAM identique à celle présentée en figure IV-62. Cette étape d'hydrolyse est particulièrement délicate : si le temps d'incubation de l'électrode est trop long, ou si la solution utilisée pour l'hydrolyse est trop basique, l'électrode est décapée. Pour éviter cela, les électrodes ont été incubées environ 1 heure dans de l'eau pure désoxygénée. Après optimisation de l'étape d'hydrolyse, nous avons pu isoler une SAM, dont l'étude électrochimique est présentée en figure IV-63.

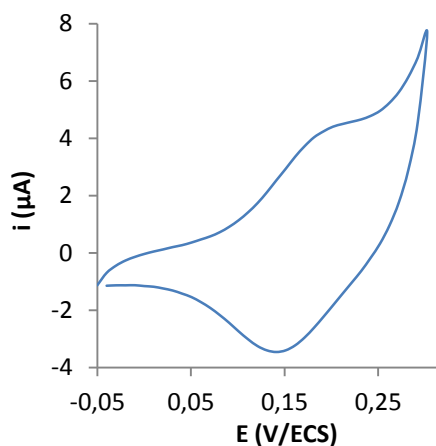


Figure IV-63 : voltammogramme dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ d'une SAM pure obtenue par greffage du dérivé diester **24** puis déprotection ; vitesse de balayage 1 V.s^{-1} ; WE : or, CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que les caractéristiques sont similaires à celles observées par préparation directe d'une SAM du dérivé dicarboxylate **25**.

Les différents essais menés, incluant des essais de préparation de SAMs mixtes, n'ont pas permis d'obtenir de meilleurs résultats que ceux présentés ci-avant. Il semble donc que la présence de carboxylates soit problématique pour la formation de SAMs. Ceci peut avoir deux causes. Tout d'abord, les carboxylates sont des espèces chargées négativement, qui se repoussent donc entre eux. Leur confinement dans une SAM est donc délicat. Cependant, la formation de SAMs mixtes devrait permettre de s'affranchir de ce problème. Mais par ailleurs, les carboxylates peuvent eux-mêmes interagir avec l'or composant l'électrode : le composé peut s'adsorber à la surface de l'électrode par l'extrémité carboxylate. Il est donc possible d'avoir plusieurs populations à la surface de l'électrode : une population de composés fixés par « chimie-click » pour lesquels il n'y a pas d'interaction carboxylate-or, une population de composés fixés par « chimie-click » pour lesquels il y a d'interaction carboxylate-or, et une population de composés non fixés par « chimie-click » pour lesquels il y a d'interaction carboxylate-or. Ceci expliquerait l'élargissement des pics observé. Mais cela signifie également qu'il ne sera probablement pas possible d'obtenir des SAMs fonctionnalisées par des carboxylates de qualité suffisante pour mettre en évidence par électrochimie la détection et le relargage du calcium.

Conclusion

Les premières études en milieu organique ont montré que ce nouveau système de type « demi-BAPTA » présente un potentiel d'oxydation abaissé par rapport aux dérivés d'IDA. Ceci nous a obligés à travailler sous atmosphère inerte pour la suite de nos études car les dérivés sont oxydés par le dioxygène de l'air très rapidement.

Un dosage pH-métrique a permis de déterminer un pK_a d'environ 8,4 en milieu aqueux pour le dérivé **27**. Ceci nous a conduit à réaliser des études dans des conditions proches du milieu physiologique, à savoir à pH 7, pour caractériser la forme acide zwitterionique du dérivé **27**, mais également des études à pH 10 pour caractériser sa forme basique.

A pH 7, les études par spectrophotométrie UV-visible ont permis de déterminer en milieu aqueux une constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium de l'ordre de 10^4 . Cette valeur est de

l'ordre de grandeur de la constante d'affinité du ligand analogue, l'APTRA, pour le calcium dans les mêmes conditions. Les études électrochimiques ont montré que le ligand **27** détecte sélectivement le calcium en présence de magnésium, et ont mis en évidence un phénomène de relargage du calcium en solution par ce nouveau système de type « demi-BAPTA ».

A pH 10, la constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium n'a pas été déterminée par manque de produit et de temps, mais aussi parce que notre objectif premier est l'élaboration d'un système compatible avec le milieu physiologique. Cependant, les études électrochimiques ont montré que la forme basique présente une affinité pour le calcium bien plus importante que la forme acide zwitterionique du ligand, et ont confirmé qu'à des pH plus faibles, il y a d'abord déprotonation du ligand puis complexation.

Par ailleurs, des études en présence d'un ligand compétiteur, l'EGTA, ont été effectuées. Ces études ont montré que l'EGTA ne joue pas seulement le rôle de ligand compétiteur, mais forme un adduit avec le ligand **27**, conduisant à une forte modification des spectres UV-visibles. En revanche, cette interaction EGTA-ligand **27** n'affecte pas le centre redox du ligand.

Enfin, des tentatives de greffage du système sur électrode modifiée par « chimie-click » ont mené à l'obtention de SAMs en milieu organique et en utilisant un dérivé diester, mais se sont révélées peu fructueuses en milieu aqueux en utilisant un dérivé dicarboxylate.

Les systèmes de type « demi-BAPTA » en solution aqueuse s'avèrent donc être efficaces pour relarguer le calcium dans le milieu. Cependant, leur faible potentiel d'oxydation est problématique en vue d'une utilisation *in vivo*, donc en présence d'oxygène. Par ailleurs, pour l'instant il n'a pas été possible de confiner ces systèmes à la surface d'une électrode en milieu aqueux. Et enfin, la constante d'affinité de ces systèmes pour le calcium à pH 7 est trop faible pour permettre la détection ou le relargage de quantités suffisamment faibles de calcium en milieu physiologique.

Afin d'obtenir des dérivés présentant une affinité pour le calcium suffisamment grande pour permettre la détection ou le relargage de quantités de calcium physiologiques, nous nous sommes alors intéressés aux dérivés de BAPTA.

Chapitre V : Dérivés de BAPTA

Le ligand 1,2-bis(*o*-aminophénoxy)éthane-*N,N,N',N'*-tétraacétate (BAPTA), présenté figure V-01, est à ce jour l'un des meilleurs ligands connus sélectifs pour le calcium.

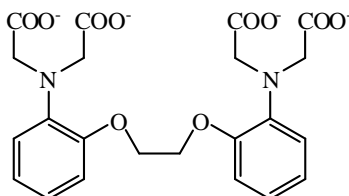


Figure V-01 : ligand 1,2-bis(*o*-aminophénoxy)éthane-*N,N,N',N'*-tétraacétate BAPTA

En effet, ce ligand, préparé pour la première fois par Tsien en 1980,⁶⁹ a une constante d'affinité pour Ca^{2+} de $5,7 \cdot 10^7$ en milieux aqueux à $\text{pH} \approx 7$,⁶⁸ alors que dans les mêmes conditions, sa constante d'affinité pour Mg^{2+} n'est que de $5,9 \cdot 10^4$. De plus, les pK_a des deux fonctions amines étant de 5,47 et 6,36,⁶⁹ l'affinité du ligand BAPTA pour les cations métalliques est quasi-indépendante du pH dans la gamme de pH physiologique, c'est-à-dire pour un pH proche de 7.

En outre, la structure des complexes BAPTA- Ca^{2+} est parfaitement connue, puisque le complexe entre le dérivé de BAPTA difluoré en position 5 et 5' et le cation calcium a pu être cristallisé, et sa structure résolue par diffraction des rayons X.¹⁰⁷ Dans ce type de complexe, la sphère de coordination du calcium est donc octaédrique, impliquant les deux atomes d'azote, les quatre fonctions carboxylate et les deux atomes d'oxygène des fonctions éther du ligand.

Pour l'ensemble de ces raisons, nous avons souhaité préparer des composés couplant un ligand BAPTA avec un centre redox phénylènediamine, comme présenté en figure V-02.

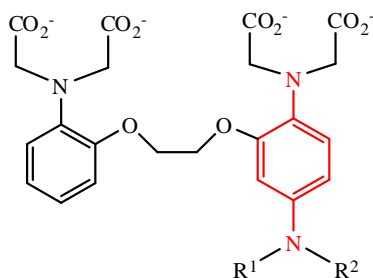


Figure V-02 : dérivé couplant une phénylènediamine et un ligand BAPTA

I) Synthèse

1) Etude bibliographique

De nombreux dérivés substitués de BAPTA ont déjà été isolés. Ceux pouvant présenter un intérêt pour ce projet sont présentés ci-dessous (*cf.* figure V-03).

Les premiers sont des dérivés halogénés (ou méthylés), synthétisés et étudiés par Tsien (*cf.* figure V-03, à gauche).⁶⁹ Mais, en vue de la préparation d'un dérivé couplant une phénylènediamine et un BAPTA, ces dérivés ont deux défauts : tout d'abord ils sont symétriques, et il sera très difficile

de différencier les deux atomes de brome. Et surtout, la substitution de l'un ou l'autre de ces atomes de brome par un atome d'azote par une réaction de S_NAr sera très délicate. En effet, une activation par formation d'un η -complexe de fer n'est pas possible ici : les dérivés aromatiques trisubstitués ne permettent pas la formation d'un tel complexe. Et en l'absence d'activation, les réactions de S_NAr requièrent des conditions très dures, incompatibles avec la présence de fonctions ester.

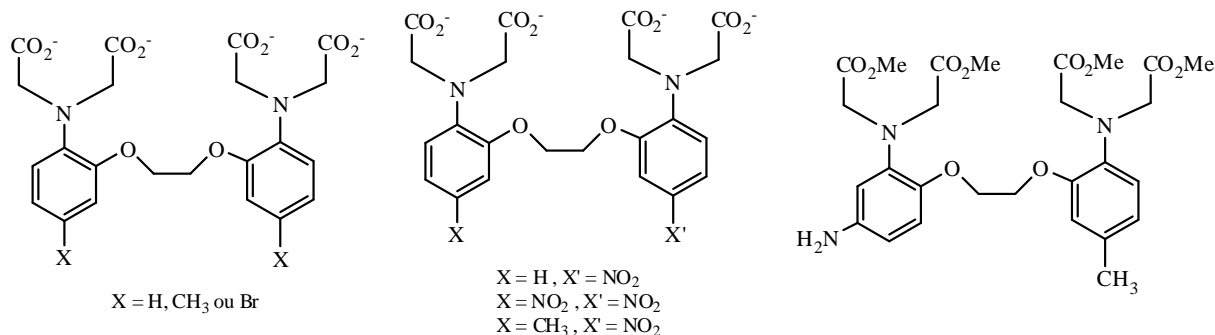


Figure V-03 : sélection de dérivés de BAPTA déjà isolés et étudiés.
 A gauche, par Tsien ; au centre, par Jaffe et al. ; à droite, par Akkaya et al.

Par ailleurs, des dérivés pour lesquels un second atome d'azote a été introduit sur au moins l'un des cycles aromatiques, des dérivés nitrés, ont été préparés et étudiés en 1989 par Jaffe *et al.* (cf. figure V-03, au centre).¹⁰⁸ A partir du dérivé mononitré, il est très simple d'obtenir l'amine primaire, puis de substituer cette dernière, comme cela a été vu au chapitre IV. Ce dérivé a donc particulièrement retenu notre attention.

Enfin, un dérivé portant une seconde fonction amine sur l'un des cycles aromatiques a été isolé par Akkaya *et al.* en 1998 (cf. figure V-03, à droite).¹⁰² Bien que cette fonction soit en position 4 et non en position 5 comme souhaité, il est envisageable de s'inspirer de la synthèse de ce dérivé pour élaborer une stratégie de synthèse des dérivés couplant une phénylènediamine et un BAPTA.

2) Elaboration de stratégies de synthèse

La rétrosynthèse d'un dérivé couplant une phénylènediamine à un BAPTA à partir du précurseur nitré **32** est détaillée en figure V-04. La transformation des fonctions ester en fonctions carboxylate, facilement accessible par une réaction de saponification, n'est pas représentée.

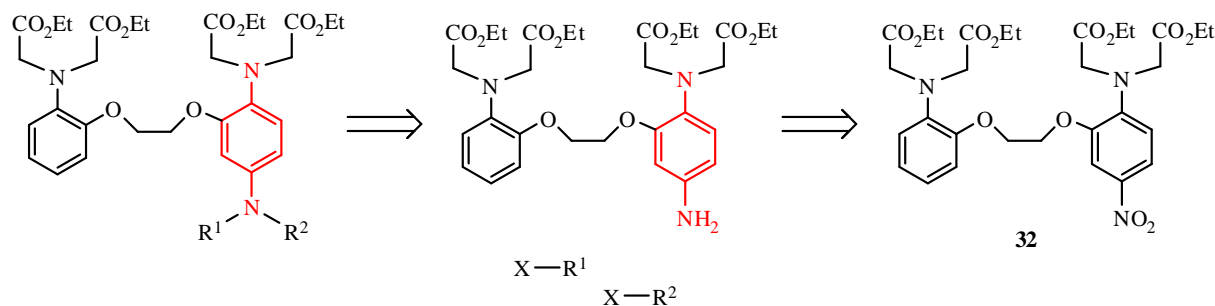


Figure V-04 : de rétrosynthèse d'un dérivé couplant une phénylènediamine à un BAPTA à partir du précurseur nitré **32**

Le diester final pourrait être obtenu par double substitution nucléophile d'une fonction amine aromatique primaire sur un dérivé ayant une fonction nucléofuge, notée X, ou par une double réaction d'amination réductrice entre une fonction amine aromatique primaire et deux dérivés portant une

fonction aldéhyde, notée X. Cette phénylènediamine avec une extrémité amine non substituée pourrait être obtenue par réduction du dérivé nitré correspondant.

Deux stratégies sont envisageables pour la préparation du précurseur nitré **32**. La façon la plus simple de l'obtenir est de procéder à une réaction de nitration sur le dérivé tétraester du BAPTA, comme illustré en figure V-05. Cette réaction est d'ailleurs déjà connue.¹⁰⁸

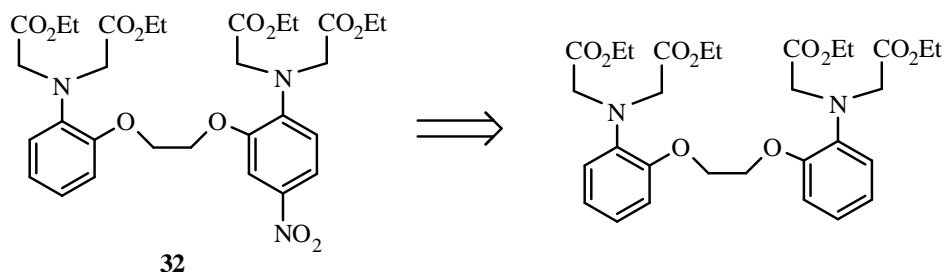


Figure V-05 : rétrosynthèse du précurseur nitré **32** par nitration du dérivé BAPTA-tétraester

Cette stratégie de synthèse a l'avantage de ne présenter qu'une étape de synthèse. Son inconvénient majeur est le coût élevé du produit de départ. Cet inconvénient peut être contourné en préparant ce produit, dont la synthèse a été décrite par Tsien,⁶⁹ à partir de produits commerciaux de faible coût. Mais ceci signifie qu'il est également envisageable de préparer directement le dérivé nitré **32**. C'est ce qu'ont fait Akkaya *et al.* pour préparer le dérivé aminosubstitué en position 4.¹⁰² Malheureusement, il est impossible d'adapter directement leur stratégie de synthèse à la préparation de dérivés nitrosubstitués en position 5. En effet, Akkaya *et al.* ont élaboré leur synthèse à partir du 4-amino-2-nitrophénol, commercial ; en revanche, l'analogue substitué en position 5, le 5-amino-2-nitrophénol, n'est pas commercial. Cet obstacle nous a mené à élaborer, en nous inspirant des travaux d'Akkaya *et al.*, la stratégie de synthèse présentée en figure V-06.

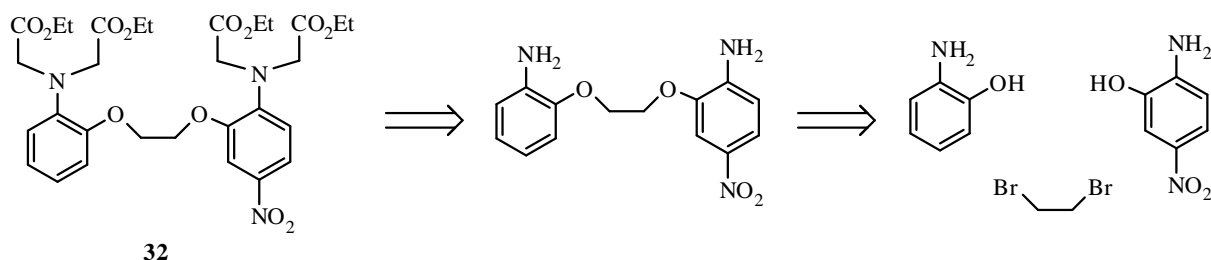


Figure V-06 : rétrosynthèse du précurseur nitré **32** à partir de produits commerciaux de faible coût

Le précurseur nitré être obtenu par quadruple réaction de substitution nucléophile sur le dérivé diamine primaire correspondant, lui-même issu d'une suite de réactions entre trois produits commerciaux de coût peu élevé : le 2-amino-5-nitrophénol, le 2-aminophénol et le 1,2-dibromoéthane.

3) Synthèse de dérivés

a) Première stratégie

Pour des raisons de coût, nous avons d'abord essayé de préparer le précurseur nitré en nous inspirant des travaux d'Akkaya *et al.*¹⁰² La synthèse élaborée est présentée en figure V-07. Malheureusement, cette synthèse n'a pas mené à l'obtention du composé désiré.

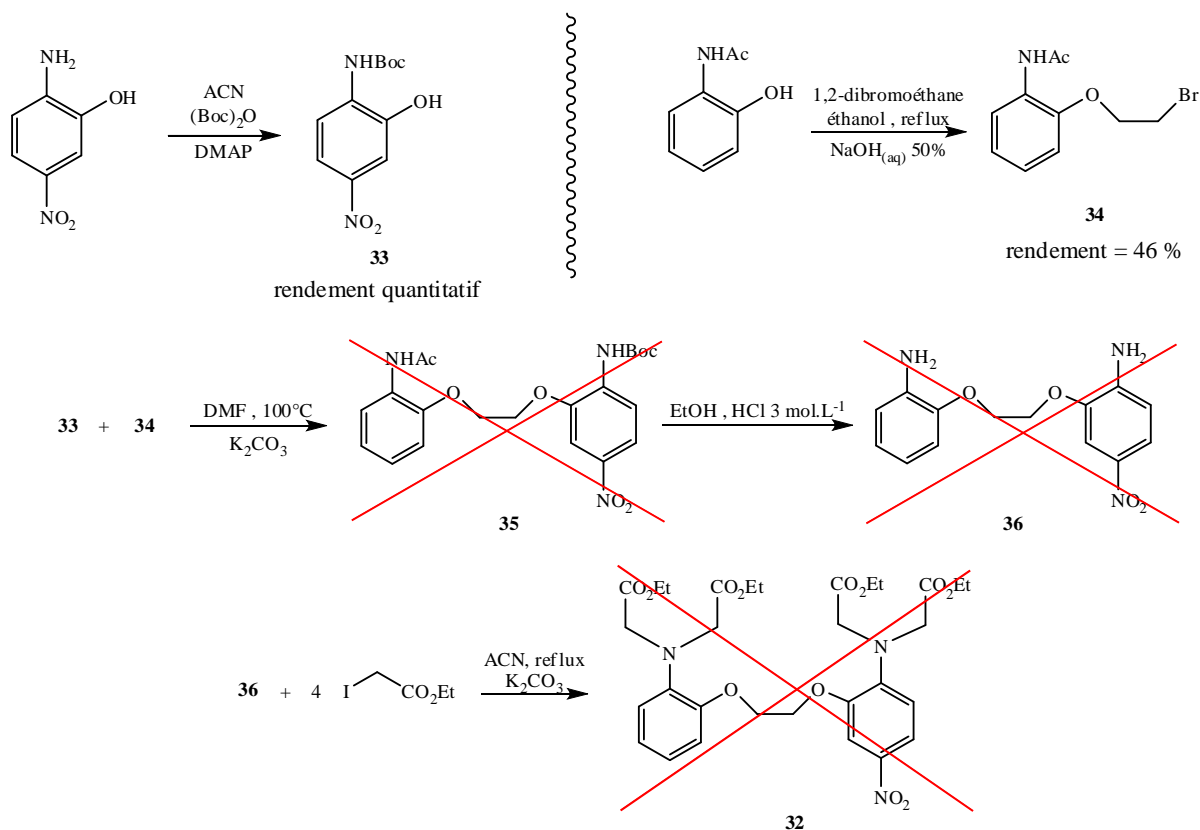


Figure V-07 : essai de synthèse du précurseur nitré **32**, inspiré des travaux d'Akkaya et al.

Deux fragments sont préparés séparément puis couplés. D'une part, la fonction amine du 2-amino-5-nitrophénol est protégée par formation du carbamate **33**. D'autre part, le 2-acétamidophénol est couplé avec le 1,2-dibromoéthane selon un mode opératoire de Jacobs et Heidelberg¹⁰⁹ pour former le composé **34**. Ces deux fragments sont ensuite couplés : par une réaction de substitution nucléophile, on devrait obtenir le dérivé **35**, qui, après déprotection des fonctions amine en milieu acide, pourrait être modifié par tétrasubstitution nucléophile pour mener au dérivé nitré souhaité **32**. Mais les différentes caractérisations montrent que le dérivé obtenu après ces étapes n'est pas le composé désiré **32**. En revanche, le dérivé isolé est bien un composé nitré d'après les études RMN, et de masse molaire identique à celle de **32** d'après les études par spectrométrie de masse : il s'agit donc d'un régioisomère de **32**. L'hypothèse la plus vraisemblable est que la réaction de couplage n'implique pas, comme souhaité, l'atome d'oxygène de la fonction phénol du fragment **33**, mais l'atome d'azote malgré la présence d'un groupe protecteur, pour mener au composé **37** (cf. figure V-08). Un autre argument en faveur de cette hypothèse est que cette réaction de couplage mène à l'obtention d'un mélange de deux produits de couplage, l'un portant toujours le carbamate, et l'autre pour lequel le carbamate a été hydrolysé et l'amine issue du fragment **33** déprotégée. Un schéma de synthèse basé sur cette hypothèse est présenté en figure V-08.

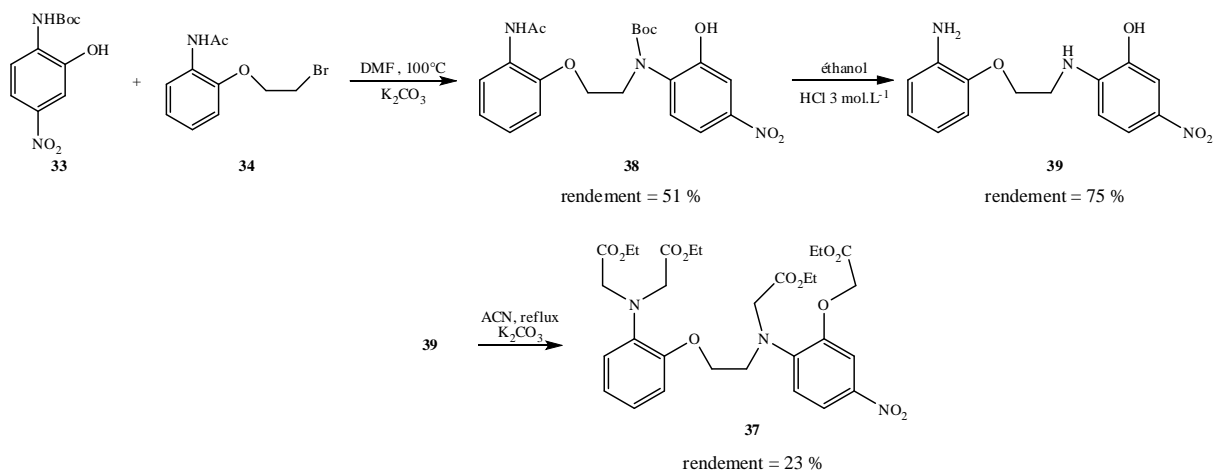


Figure V-08 : synthèse hypothétique menant au régioisomère **37** du dérivé souhaité **32**

Le produit de couplage **38** est obtenu par chauffage à 100°C des fragments **33** et **34** dans le DMF en présence d'une base pendant 30 minutes, et isolé avec un rendement de 51 %. Après hydrolyse des groupes protecteurs des fonctions amine en milieu acide, la dianiline résultante **39** est convertie en tétraester par une quadruple réaction de S_N2 avec un rendement de 23 %. Ce faible rendement est lié à la présence du groupe nitré : en effet, ce groupe, très électroattracteur, appauvrit en densité électronique l'aniline, en particulier l'atome d'azote de l'aniline. La nucléophilie de l'aniline substituée par le groupe nitré est donc très affaiblie, ce qui mène à l'obtention d'un mélange des produits de tétrasubstitution, de trisubstitution et de disubstitution.

Bien que cette stratégie de synthèse ne permette pas d'obtenir le produit désiré, nous avons poursuivi la synthèse afin d'isoler et étudier un nouveau ligand. La synthèse de ce nouveau dérivé **40** est présentée en figure V-09. Le précurseur nitré **37** est réduit en amine **41** par hydrogénation catalytique. Cet intermédiaire **41** est alors converti en imine puis en amine disubstituée **42** par une double réaction d'amination réductrice.

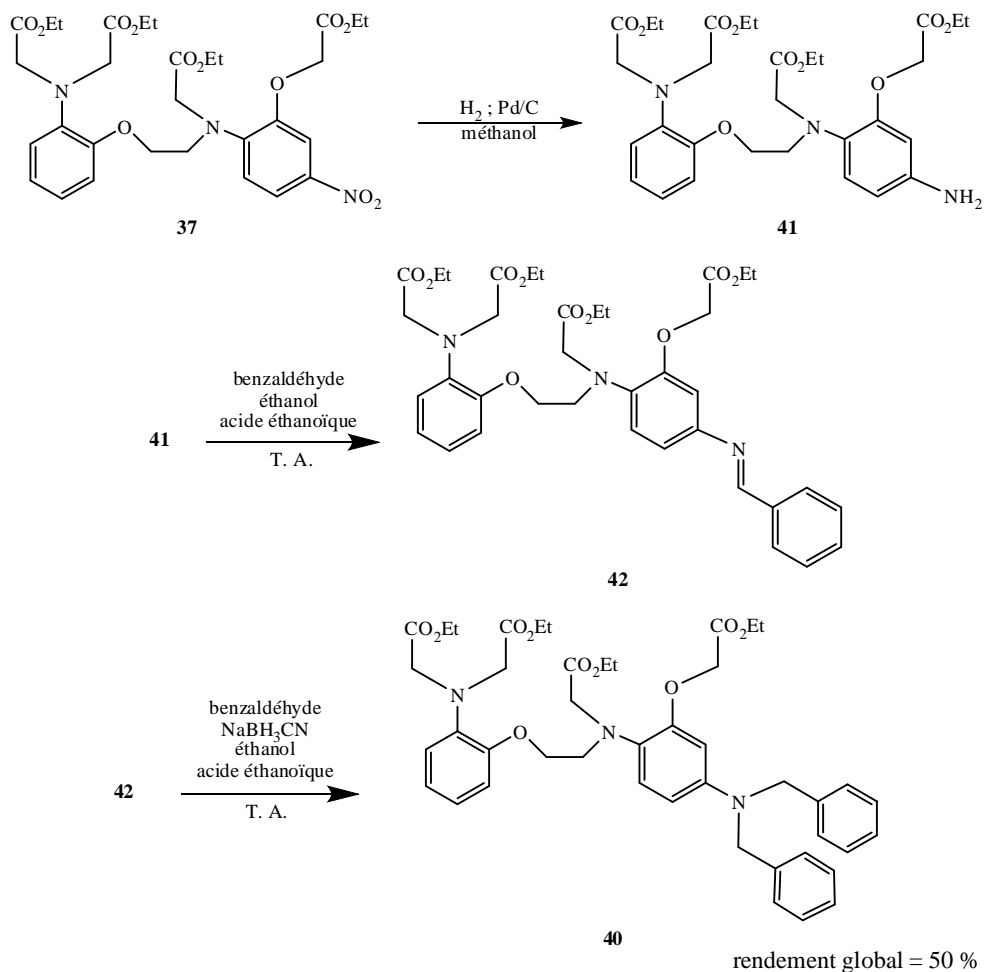


Figure V-09 : synthèse du dérivé 40

b) Seconde stratégie

Nous avons alors essayé de procéder à une réaction de nitration sur le dérivé tétraester du BAPTA. L'emploi d'acide nitrique concentré en milieu acide acétique a conduit à l'obtention exclusive du dérivé dinitré en positions 5 et 5'. Nous avons donc de nouveau utilisé le tétrafluoroborate de nitronium comme agent de nitration, et après purification, nous avons pu isoler le dérivé nitré souhaité **32** avec un rendement de 27 % (cf. figure V-10). Ce faible rendement est dû à la formation concomitante du produit de dinitration et à une réaction incomplète du dérivé tétraester du BAPTA.

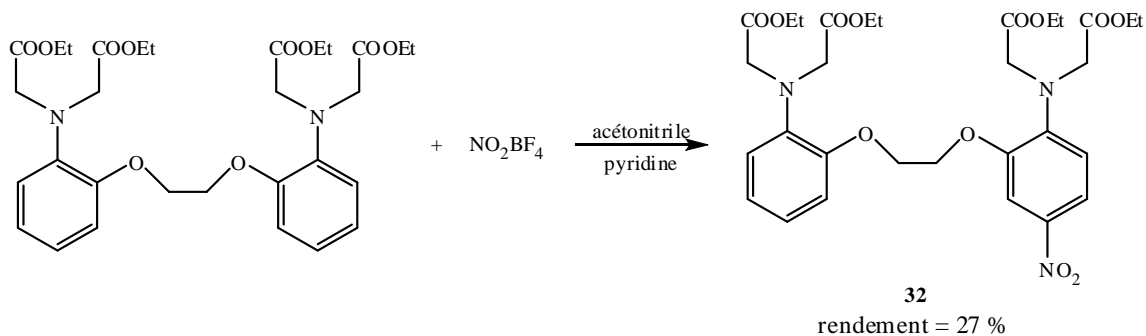


Figure V-10 : synthèse du précurseur nitré 32

De plus, la séparation complète des produits de mononitration et de dinitration est délicate, mais indispensable pour la suite de la synthèse : l'étape de purification, particulièrement longue, et menant à l'obtention de trois fractions, deux contenant chacune l'un des produits purs, et la troisième étant un mélange des deux produits, contribue également à abaisser le rendement de la réaction.

Après avoir isolé l'intermédiaire nitré **32**, nous avons poursuivi la préparation d'un dérivé couplant un BAPTA et une phénylènediamine, le composé **43**, en utilisant les méthodes optimisées précédemment pour la préparation des dérivés de type « demi-BAPTA » (cf. figure V-11).

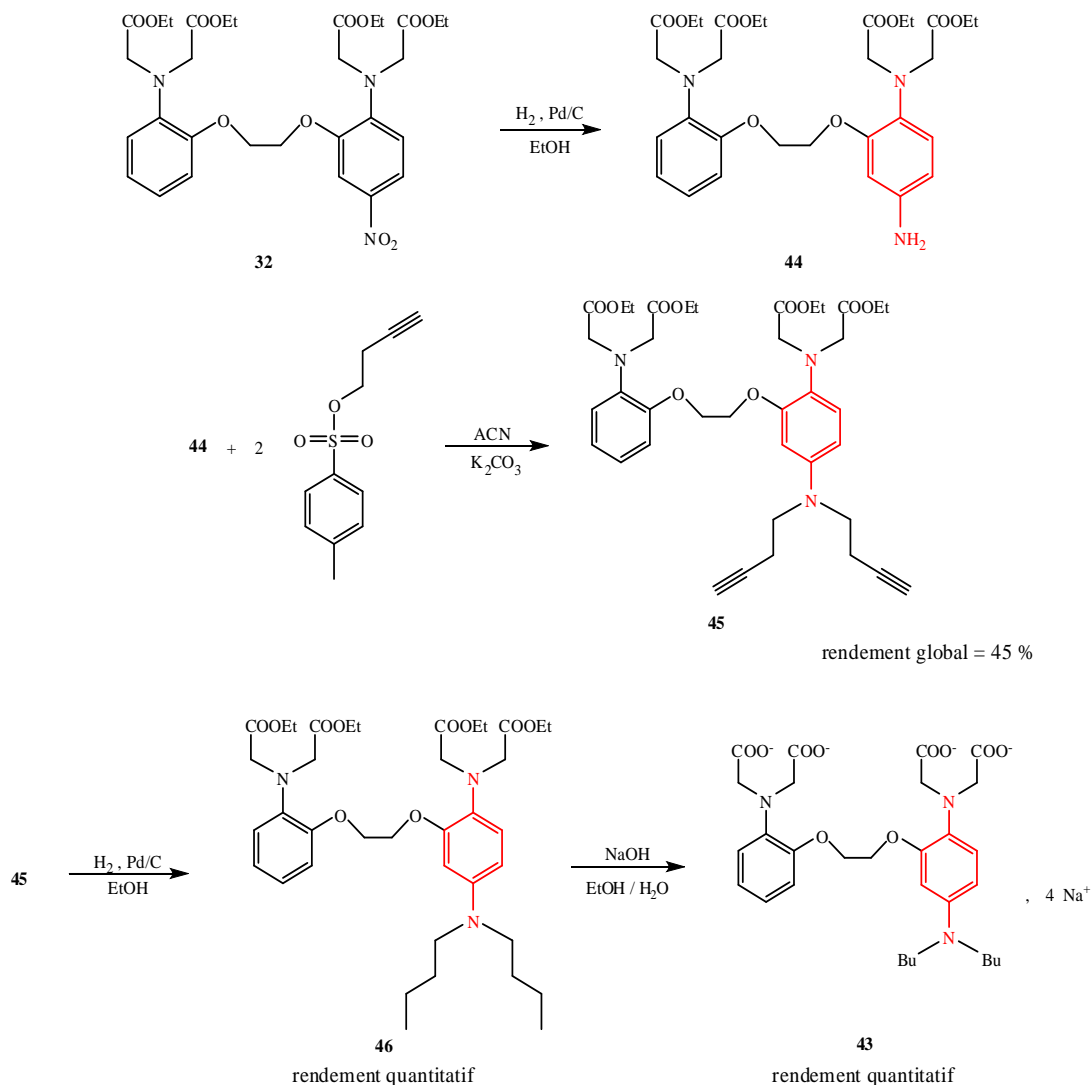


Figure V-11 : synthèse du dérivé **43**

Après réduction du groupe nitré en amine, le composé **44** est transformé en dialcyne **45** par une double réaction de S_N2 sur le *para*-tosylate de but-3-ynyle. Le dialcane correspondant **46** est obtenu par hydrogénation catalytique des fonctions alcyne. Enfin, une réaction de saponification permet d'isoler le tétracarboxylate **43**.

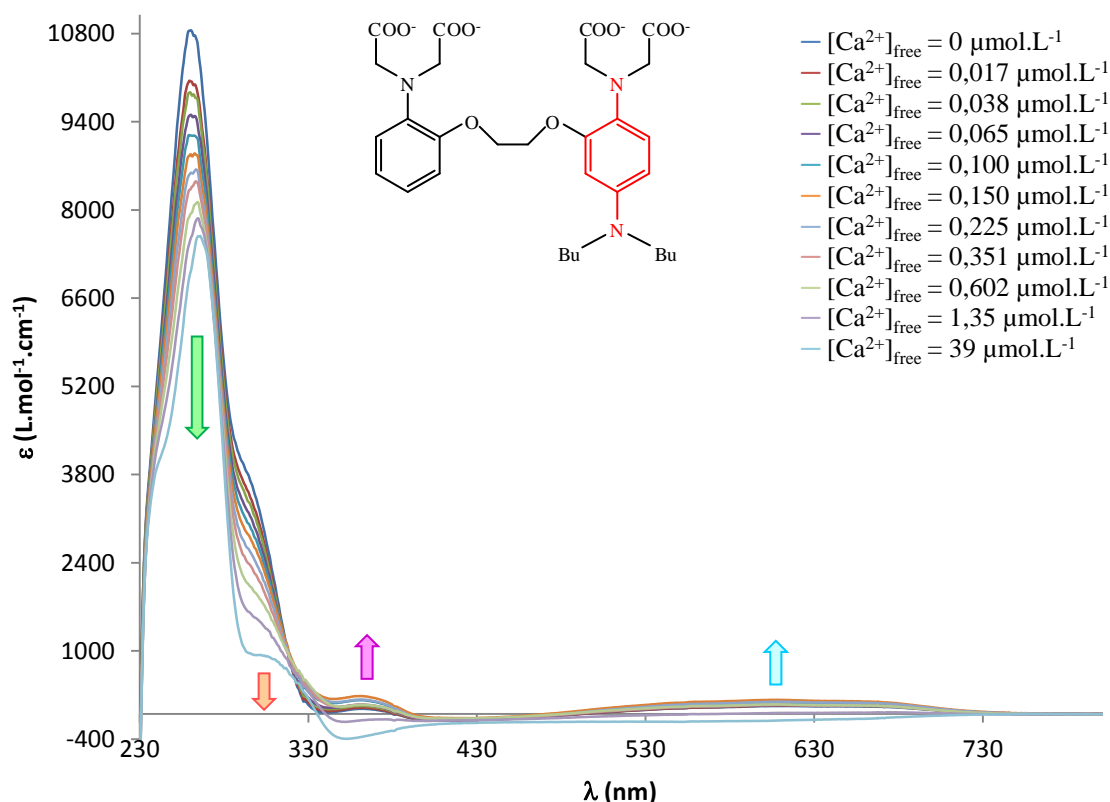
Il est à noter que le dérivé tétracarboxylate-dialcyne pourrait être obtenu très facilement par saponification du composé **45**, et utilisé pour des essais de fonctionnalisation de surface. Ce dérivé sera synthétisé et étudié ultérieurement.

II) Premières études en solution

1) Spectrophotométrie UV-visible

Le dérivé **43** a été étudié par spectrophotométrie UV-visible en milieu aqueux tamponné (à pH = 7,2), en présence d'EGTA, en l'absence et en présence de calcium. Dans ces conditions, la constante d'affinité de l'EGTA pour le calcium est de $6,64 \cdot 10^6$.

Les spectres obtenus sont présentés en figure V-12. En présence d'EGTA et à pH ≈ 7 , le spectre du composé **43** présente deux bandes d'absorption. La première de ces bandes présente un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $10\,800 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 262 nm, la seconde, épaule de la première, un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de $3700 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à une longueur d'onde de 295 nm. La bande d'absorption à 262 nm correspond très probablement à une transition électronique d'une orbitale π vers une orbitale π^* , et celle à 295 nm à une transition électronique d'une orbitale n vers une orbitale π^* .



On remarque que le spectre du dérivé de BAPTA **43** en présence d'EGTA présente des caractéristiques voisines de celles du spectre du BAPTA isolé par Tsien,⁶⁹ et est assez proche du spectre du dérivé analogue de type « demi-BAPTA » **27** en l'absence d'EGTA. Il semble donc que, contrairement à ce qui a été observé pour le dérivé de type « demi-BAPTA » **27**, il n'y ait pas d'interaction entre l'EGTA et le dérivé de BAPTA **43**. Pour confirmer ceci, il faudrait reproduire l'étude spectrophotométrique du composé **43** en l'absence d'EGTA. Ceci n'a pu être effectué faute de temps.

Lors des ajouts successifs de calcium, on observe une diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande à 262 nm, accompagnée d'un léger déplacement de cette bande vers les plus

grandes longueurs d'onde. On observe également une forte diminution du coefficient d'absorption molaire de la bande à 295 nm, tandis que deux nouvelles bandes de faible intensité apparaissent aux longueurs d'onde de 365 nm et 610 nm. On constate alors qu'il existe un point isobestique pour une longueur d'onde de 318 nm. La présence d'un point isobestique est un argument en faveur de la coexistence de seulement deux espèces différentes impliquant le ligand **43** : le ligand libre, et un complexe ligand-calcium.

Malheureusement, on constate aussi que les spectres correspondant aux concentrations de calcium les plus élevées sont fortement décalés et modifiés pour des longueurs d'onde supérieures à 280 nm environ. Ce phénomène est probablement dû à un problème technique que nous n'avons pu résoudre lors de l'expérience en cours. Mais ceci nous empêche d'appliquer les méthodes utilisées précédemment pour déterminer la constante d'affinité du ligand pour le calcium à des longueurs d'onde supérieures à 280 nm puisque ces méthodes impliquent l'utilisation comme références des spectres en l'absence de calcium et avec la concentration maximale en calcium. Cependant, afin d'estimer tout de même la valeur de la constante d'affinité du ligand **43** pour le calcium, nous avons appliqué les deux méthodes employées précédemment à la longueur d'onde de 260 nm.

Nous avons donc tout d'abord utilisé la méthode de Hill en faisant l'hypothèse que la stœchiométrie du complexe est de un cation pour un ligand.¹⁰³ Dans ce cas, à la longueur d'onde choisie, le tracé du logarithme décimal du rapport (soustraction de l'absorbance minimale à l'absorbance / soustraction de l'absorbance à l'absorbance maximale) en fonction du logarithme décimal de la concentration en cation libre est une droite coupant l'axe des abscisses à une valeur égale au logarithme de la constante de dissociation du complexe. Les résultats obtenus en appliquant cette méthode à la longueur d'onde de 260 nm sont présentés en figure V-13.

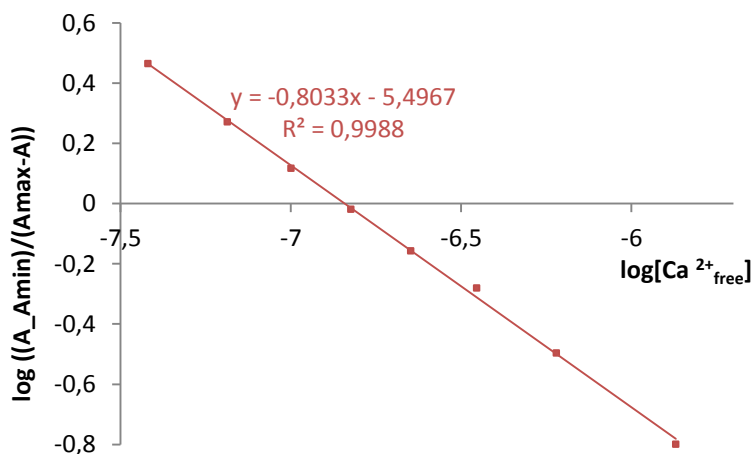


Figure V-13 : méthode de Hill pour le dérivé **43** dans l'eau en présence d'EGTA à pH = 7,2, pour $\lambda = 260$ nm

On constate qu'on obtient une droite. Il est alors possible de déterminer la constante d'affinité du ligand **43** pour le calcium : le calcul donne une valeur de $6,96 \cdot 10^6$. Cette valeur, voisine de 10^7 , est proche de la valeur de constante d'affinité pour le calcium attendue pour un ligand de type BAPTA.

Afin de confirmer ou infirmer ce résultat, nous avons également utilisé la méthode de Benesi-Hildebrand, en faisant la même hypothèse concernant la stœchiométrie du complexe.¹⁰⁵ Dans ce cas, à la longueur d'onde choisie, le tracé de l'inverse de la variation de l'absorbance en fonction de l'inverse de la concentration en cation est une droite dont la pente est le produit de l'ordonnée à l'origine et de

la constante de dissociation du complexe. Les résultats obtenus en appliquant cette méthode à la longueur d'onde de 260 nm sont présentés en figure V-14.

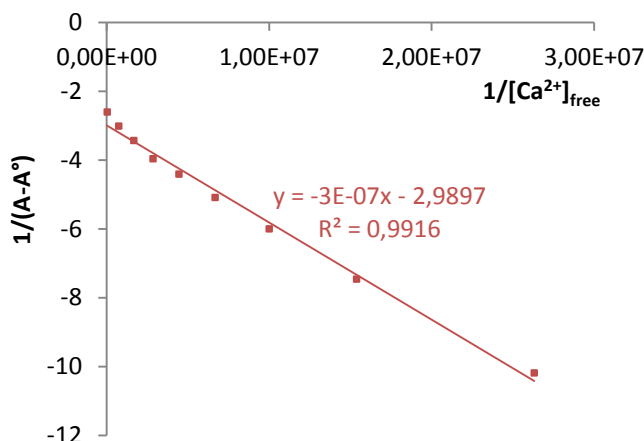


Figure V-14 : méthode de Benesi-Hildebrand pour le dérivé **43** dans l'eau en présence d'EGTA à pH = 7,2, pour $\lambda = 260 \text{ nm}$

On constate qu'on obtient une droite. Il est alors possible, à partir de l'équation de cette droite, de déterminer la constante d'affinité du ligand **43** pour le calcium : le calcul donne une valeur de constante d'affinité de $1,06 \cdot 10^7$. Cette valeur est comparable à celle obtenue en utilisant la méthode de Hill, et est proche de la valeur de constante d'affinité pour le calcium attendue pour un ligand de type BAPTA.

L'emploi de deux méthodes différentes basées sur la même hypothèse de stœchiométrie du complexe menant à l'obtention de valeurs de constante d'affinité proches, il est probable que l'hypothèse est vraie, à savoir que le complexe formé est bien de stœchiométrie un cation pour un ligand **43**, et que la constante d'affinité du ligand **43** pour le calcium est bien de l'ordre de 10^7 , comme attendu.

2) Electrochimie

a) En milieu organique

Bien que n'ayant pas la structure d'un BAPTA, le composé **40** a été étudié par voltammétrie cyclique en milieu organique. Les voltammogrammes obtenus sont présentés en figure V-15.

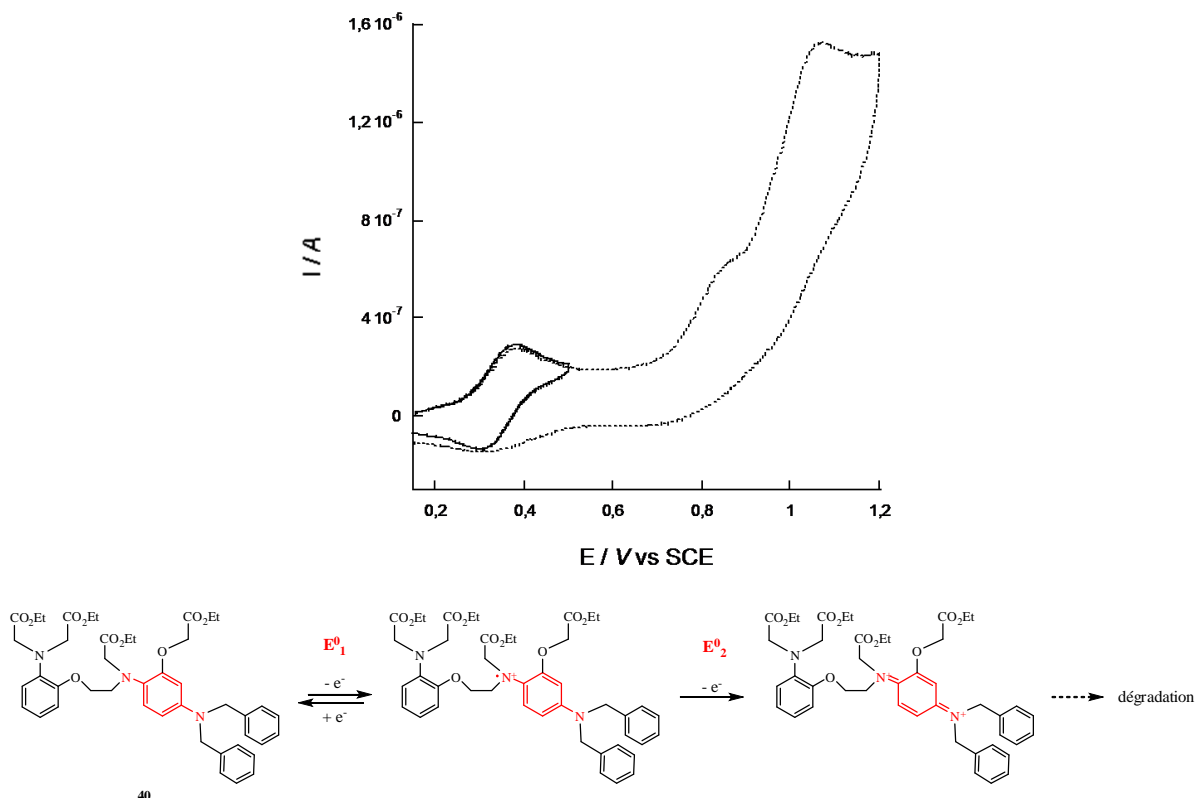


Figure V-15 : voltammogrammes du composé **40** $0,14 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'acétonitrile + Net_4BF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On observe que ce composé présente, comme attendu, une première vague d'oxydation monoélectronique réversible E_1^0 , avec un écart entre les pics de 70 mV, correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation. Mais, comme pour les autres dérivés portant des groupes carboxylate étudiés auparavant, à de plus hauts potentiels une nouvelle vague d'oxydation polyélectronique irréversible E_2^0 apparaît. Cette seconde vague pourrait, comme précédemment, être attribuée à l'oxydation du radical cation issu de la phénylènediamine en dication, suivie de la réduction du centre redox en radical cation par des mécanismes chimiques, ainsi qu'à l'oxydation irréversible de l'aniline : cette oxydation s'accompagne d'une dimérisation, *via* un mécanisme impliquant le transfert de plusieurs électrons.^{96, 97} Au vu de l'irréversibilité de la seconde vague, nous nous sommes limités par la suite à l'étude de la première vague.

Nous avons alors étudié le composé **40** en solution en milieu organique en présence de calcium. La figure V-16 présente les voltammogrammes obtenus pour différentes concentrations en calcium.

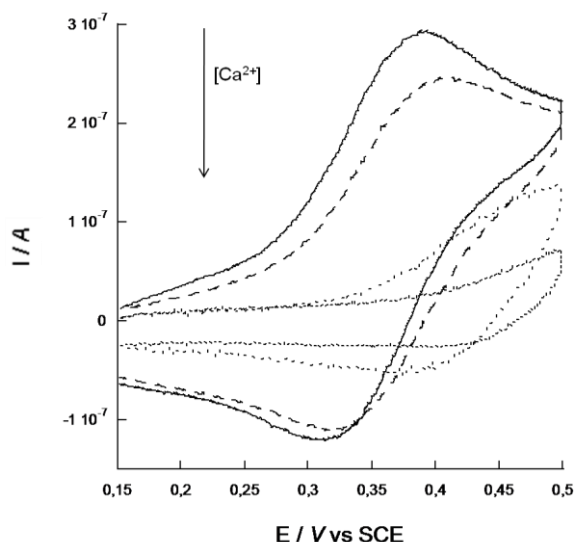


Figure V-16 : voltammogrammes du composé **40** $0,14 \text{ mmol.L}^{-1}$ dans l'acétonitrile + Net_4BF_4 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$;
 — sans calcium, --- + 0,2 équivalent de Ca^{2+} , ··· + 0,5 équivalent de Ca^{2+} , ····· + 1 équivalent de Ca^{2+} ;
 vitesse de balayage $0,1 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC, CE : Pt, Ref : ECS.

On observe que l'intensité de la première vague d'oxydation du composé **40** diminue lors de l'ajout de calcium, et se déplace très légèrement vers les hauts potentiels. Lorsqu'un équivalent de calcium a été ajouté, la première vague d'oxydation du composé **40** a quasiment disparu. Le ligand **40** complexe donc bien le calcium, et semble avoir un comportement de type deux vagues, caractéristique des systèmes à constante d'affinité élevée. C'est pourquoi nous avons essayé d'hydrolyser ce composé, afin de mener la même étude en milieu aqueux. Malheureusement, toutes les tentatives d'hydrolyse ont abouti à la dégradation du système. Ce composé n'étant pas le dérivé initialement souhaité, les études n'ont pas été davantage poursuivies.

b) En milieu aqueux

Le dérivé **43** a été étudié par des méthodes électrochimiques en milieu aqueux à pH 7, en l'absence d'EGTA, et en l'absence et en présence de calcium. Deux voltammogrammes de ce dérivé en solution sont présentés en figure V-17.

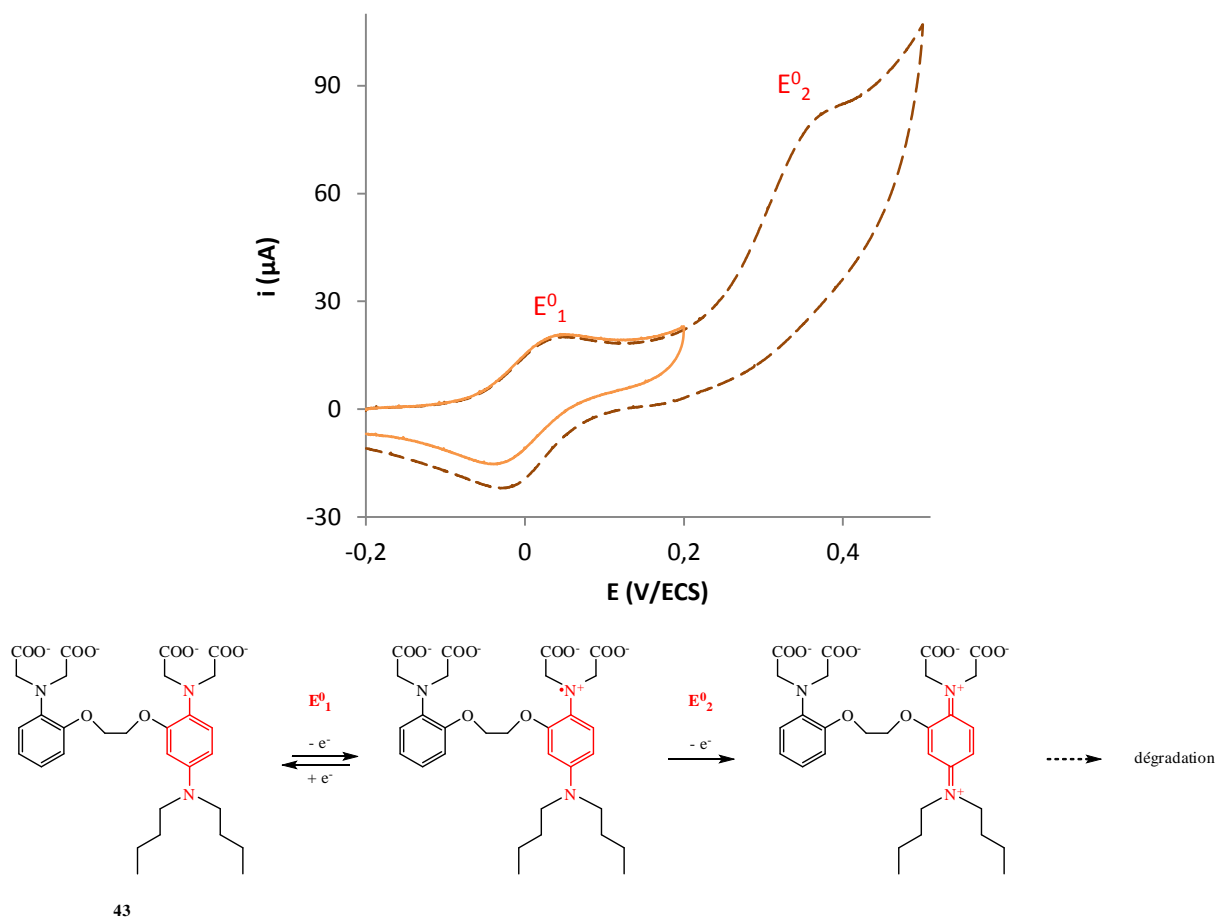


Figure V-17 : voltammogrammes du dérivé **43** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; pH = 7,2 ; vitesse de balayage $0,2 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On observe que ce composé présente, comme attendu, une première vague d'oxydation monoélectronique réversible E_1^0 , correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation. Mais, comme pour les autres dérivés portant des groupes carboxylate étudiés auparavant, à de plus hauts potentiels une nouvelle vague d'oxydation polyélectronique irréversible E_2^0 apparaît. Cette seconde vague pourrait, comme précédemment, être attribuée à l'oxydation du radical cation issu de la phénylènediamine en dication, suivie de la réduction du centre redox en radical cation par des mécanismes chimiques, ainsi qu'à l'oxydation irréversible de l'aniline : cette oxydation s'accompagne d'une dimérisation, *via* un mécanisme impliquant le transfert de plusieurs électrons.^{96, 97}

On remarque aussi que l'amplitude de la première vague d'oxydation est comparable à l'intensité du courant capacitif résiduel. Pour cette raison, lors d'ajout de calcium, le signal électrochimique du ligand **43** n'est plus visible en voltammétrie cyclique. Nous avons donc utilisé une autre méthode électrochimique, permettant de diminuer l'impact du courant capacitif résiduel sur le signal du composé d'intérêt : la « square wave » ou « vague carrée ». Dans cette méthode, le signal obtenu est traité mathématiquement de telle sorte que les intensités des pics d'oxydation et de réduction d'une vague redox sont additionnées, et que le courant capacitif est soustrait. Les pics sont donc exacerbés, mais l'information concernant la réversibilité du système est perdue. Le signal en « vague carrée » du composé **43** est présenté en figure V-18.

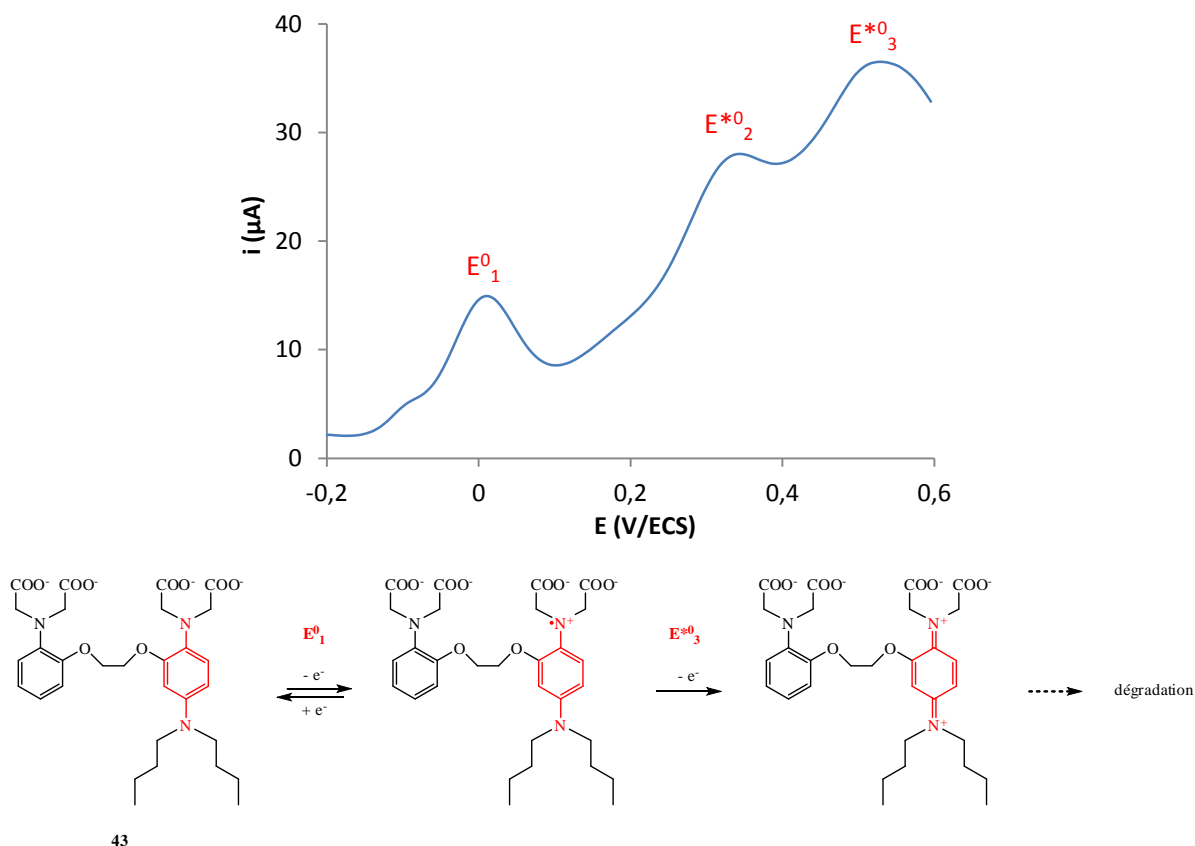


Figure V-18 : signal en « vague carrée » du dérivé **43** 1 mol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,2$; vitesse de balayage $0,2 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On observe, comme en voltammétrie cyclique, une première vague monoélectronique E_1^0 , correspondant à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation. En revanche, la seconde vague polyélectronique irréversible E_2^0 observée en voltammétrie cyclique se révèle en « vague carrée » être composée de deux vagues successives E_2^{*0} et E_3^{*0} , la vague E_2^{*0} étant polyélectronique, et la vague E_3^{*0} semblant être monoélectronique. La vague E_2^{*0} correspondrait donc à l'oxydation de l'aniline voisine, avec dimérisation *via* un mécanisme impliquant le transfert de plusieurs électrons,^{96, 97} et la vague E_3^{*0} correspondrait à l'oxydation du radical cation issu de la phénylènediamine en dication.

Ce ligand a ensuite été étudié par « vague carrée » à $\text{pH} \approx 7$ en présence de calcium. L'évolution de la première vague E_1^0 en fonction de la quantité de calcium ajoutée est présentée en figure V-19.

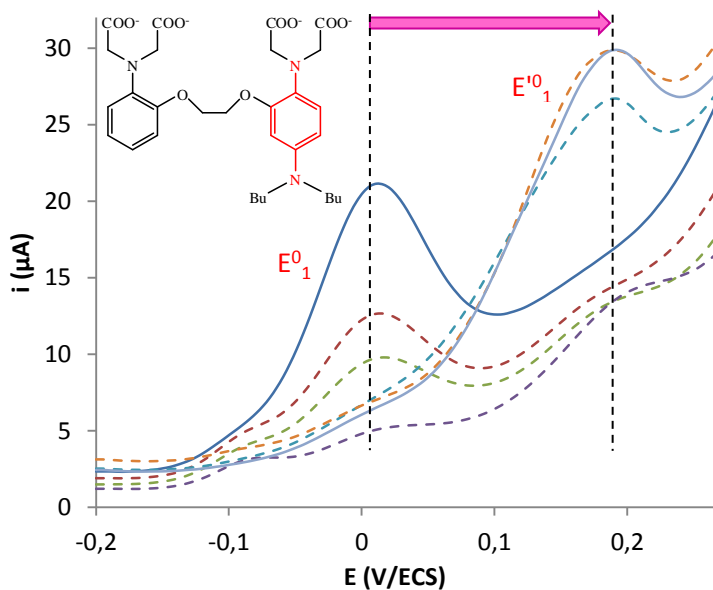


Figure V-19 : signal en « vague carrée » du dérivé **43** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,2$; — 0 équivalent de Ca^{2+} , — 0,1 équivalent de Ca^{2+} , — 0,2 équivalent de Ca^{2+} , — 0,4 équivalent de Ca^{2+} , — 0,6 équivalent de Ca^{2+} , — 0,8 équivalent de Ca^{2+} , — 1 équivalent de Ca^{2+} ; vitesse de balayage $0,2 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que cette vague monoélectronique E^0_1 disparaît progressivement au profit d'une nouvelle vague monoélectronique E'^0_1 à un potentiel plus élevé. Lorsqu'un équivalent de calcium a été ajouté, la vague E^0_1 a complètement disparu au profit de la vague E'^0_1 . Cette nouvelle vague monoélectronique E'^0_1 correspond à l'oxydation de la phénylènediamine en radical cation dans le complexe, rendue plus difficile par la présence du cation. L'écart entre ces deux vagues est d'environ 180 mV. Ce système présente donc un comportement de type deux vagues, comme le laissait présager la valeur élevée de la constante d'affinité estimée par spectrophotométrie.^{21, 22} Par conséquent, ce système présente bien une très forte affinité pour le calcium, comme espéré.

On note également que les courbes pour les ajouts correspondant à 0,1, 0,2 et 0,4 équivalent de calcium sont d'intensité particulièrement basse. Ceci est dû à une modification de l'état de surface de l'électrode lors du balayage, passivant progressivement l'électrode. Une fois ce phénomène identifié, nous avons procédé à un polissage soigneux de l'électrode entre chaque balayage, et nous avons ainsi retrouvé un signal d'intensité comparable à l'intensité du signal du composé **43** seul en solution.

Enfin, nous nous sommes intéressés à l'effet de l'augmentation de la concentration en calcium sur les vagues E^{*0}_2 et E^{*0}_3 . Les résultats obtenus sont présentés en figure V-20.

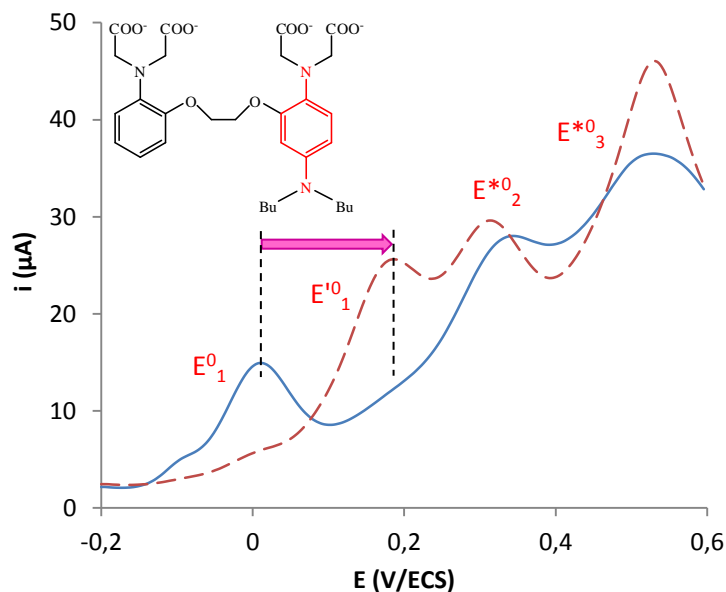


Figure V-20 : signal en « vague carrée » du dérivé **43** 1 mmol.L^{-1} dans l'eau + MOPS $0,03 \text{ mol.L}^{-1}$ + KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$; $\text{pH} = 7,2$; — 0 équivalent de Ca^{2+} , - - 1 équivalent de Ca^{2+} ; vitesse de balayage $0,2 \text{ V.s}^{-1}$; WE : GC (1 mm), CE : Pt, Ref : ECS.

On constate que, en présence d'un équivalent de calcium, alors que la première vague E^0_1 a complètement disparu au profit d'une nouvelle vague E'^0_1 , les vagues E^0_2 et E^0_3 sont peu affectées par la présence de calcium. Il semble donc que, juste après la première oxydation, il y ait décomplexation du calcium, et que les oxydations suivantes se produisent sur le ligand libre.

Conclusion et perspectives

Un dérivé couplant un ligand BAPTA à une phénylènediamine a pu être isolé en faible quantité, quantité toutefois suffisante pour permettre une première série d'études en solution. Une étude par spectrophotométrie UV-visible en présence d'EGTA à $\text{pH} \approx 7$ a permis d'estimer la constante d'affinité du ligand **43** pour le calcium à environ 10^7 . En outre, les premières études électrochimiques ont montré que, à $\text{pH} \approx 7$, en l'absence d'EGTA et en présence de calcium, ce système a un comportement de type deux vagues, confirmant ainsi la très forte affinité du ligand **43** pour le calcium. Ces études semblent également montrer qu'après la première oxydation du complexe, le calcium est relargué dans la solution. Cependant, ce dernier résultat reste à confirmer.

Les premiers résultats obtenus étant encourageants, de nouvelles études sur ce système seront menées. Tout d'abord, il est indispensable de déterminer les pK_a de ce composé, afin de connaître l'impact de la présence de la phénylènediamine sur les pK_a du BAPTA. Il est à craindre que ceci entraîne une élévation de ces pK_a , comme cela a été observé auparavant pour les dérivés de type « demi-BAPTA », et que le couplage d'une phénylènediamine au BAPTA se traduise par une forte dépendance de la constante d'affinité du ligand au pH.

Par la suite, de nouvelles études spectrophotométriques seront menées, de nouveau en présence d'EGTA pour obtenir des spectres complètement exploitables et confirmer l'estimation de la constante d'affinité, mais également en l'absence d'EGTA, afin de s'assurer de l'absence d'interaction entre le ligand **43** et l'EGTA.

Ensuite, de nouvelles études électrochimiques seront menées, tout d'abord en l'absence d'EGTA pour confirmer les premiers résultats obtenus. Ces études seront effectuées à une concentration en ligand plus élevée, afin de pouvoir travailler en voltammétrie cyclique et ainsi avoir une information sur la réversibilité du système. Par ailleurs des études en présence d'EGTA seront également menées.

Enfin, des études en présence de magnésium seront effectuées, afin de s'assurer que le ligand **43** présente bien une bonne sélectivité pour le calcium en présence de magnésium.

Finalement, des essais de greffage de ce système à la surface d'une électrode seront menés.

Conclusion générale et perspectives

Quatre familles de ligands électroactifs basés sur l'association du centre redox para-phénylènediamine avec l'un des ligands suivants :

- l'aza-éther-couronne *N*-15-C-5
- l'iminodiacétate (IDA)
- le 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy)diacétate (composés de type « demi-BAPTA »)
- le 1,2-bis(*o*-aminophénoxy)éthane-*N,N,N',N'*-tétraacétate (BAPTA)

ont été synthétisées et étudiées. Le point commun essentiel de ces quatre familles est que l'un des atomes d'azote du centre redox est également impliqué dans la sphère de chélation du ligand. Ceci assure un couplage étroit du centre redox avec le ligand, donc une excellente communication entre les deux.

L'étude des dérivés d'aza-éther-couronne *N*-15-C-5 a permis de mettre en évidence le relargage de calcium en solution organique, et donc de valider le principe du relargage de cation contrôlé par électrochimie, en solution et en phase adsorbée. En revanche, ces composés se sont révélés presque inefficaces pour complexer (et donc relarguer) du calcium en milieu aqueux, en raison de leur trop faible affinité pour le cation Ca^{2+} . C'est pourquoi nous nous sommes tournés vers des ligands carboxylés par la suite.

Les dérivés carboxylés obtenus ont été étudiés soit sous forme ester en milieu organique, soit sous forme carboxylate en milieu aqueux. Le comportement électrochimique de ces trois familles de composés a mis en évidence la réversibilité de la première vague d'oxydation, mais aussi l'irréversibilité de la seconde, ainsi que la dégradation du produit avec passivation de l'électrode induit par le balayage des potentiels correspondant à cette seconde vague redox. Il est donc plus difficile d'exploiter les propriétés de cette vague redox, et donc de mettre en évidence un relargage éventuel de cations comme cela a été fait pour les composés dérivés de l'aza-éther-couronne *N*-15-C-5.

Des dérivés de l'iminodiacétate (IDA) ont été préparés bien que l'IDA ait une constante d'affinité pour le calcium assez peu élevée, car leur stratégie de synthèse est identique à celle employée pour la synthèse des dérivés de l'aza-éther-couronne *N*-15-C-5. En effet, ces dérivés ont une affinité trop faible pour le calcium pour pouvoir détecter la présence de cet ion en milieu aqueux par électrochimie ou par spectrophotométrie. En revanche, comme attendu, ces dérivés se sont révélés être de bons ligands de certains métaux de transition, en particulier pour le nickel, et pourraient donc mener au développement de capteurs sélectifs pour les cations des métaux de transition, après caractérisation complète, incluant la détermination des pK_a de ce composé, ainsi qu'une étude spectrophotométrique.

Les premières études en milieu organique des dérivés de type « demi-BAPTA » ont montré que ces systèmes présentent un potentiel d'oxydation plus bas, proche de 0 V/ECS. Ceci nous a obligés à travailler sous atmosphère inerte pour la suite de nos études car les dérivés sont oxydés par le dioxygène de l'air rapidement. Un dosage pH-métrique a permis de déterminer un pK_a d'environ 8,4 en milieu aqueux pour le dérivé **27**, ce qui signifie que la constante d'affinité du ligand pour le calcium est très fortement dépendante du pH dans la gamme de pH physiologiques. Les deux formes, acide et basique, du ligand ont été caractérisées par des études spectrophotométriques et électrochimiques à pH 7 et pH 10.

A pH 7, nous avons déterminé par spectrophotométrie UV-visible une constante d'affinité du ligand **27** pour le calcium en milieu aqueux d'environ 10^4 , valeur du même ordre de grandeur que la constante d'affinité du ligand analogue non-électroactif, le tricarboxylate APTRA, pour le calcium dans les mêmes conditions. Les études électrochimiques ont montré que le ligand **27** détecte sélectivement le calcium en présence d'un grand excès de magnésium, et ont mis en évidence le phénomène de relargage du calcium en solution par ce nouveau système. A pH 10, les études électrochimiques ont montré que la forme basique du ligand **27** présente une affinité pour le calcium bien plus importante que la forme acide du ligand, et ont confirmé qu'à pH 7, il y a d'abord déprotonation du ligand puis complexation.

Par ailleurs, des études en présence d'un ligand compétiteur, l'EGTA, ont été effectuées. Ces études ont montré que l'EGTA ne joue pas seulement le rôle de ligand compétiteur, mais forme un adduit avec le ligand **27**, conduisant à une forte modification des spectres UV-visibles. En revanche, cette interaction EGTA-ligand **27** n'affecte pas le centre redox du ligand. La nature de cette interaction, certainement basée sur des liaisons hydrogène, n'est pas connue. Enfin, des tentatives de greffage du système sur électrode modifiée par « chimie-click » ont mené à l'obtention de SAMs en milieu organique et en utilisant un dérivé diester, mais se sont révélées pour l'instant peu fructueuses en milieu aqueux en utilisant un dérivé dicarboxylate.

Les systèmes de type « demi-BAPTA » en solution aqueuse s'avèrent donc être efficaces à relarguer le calcium dans le milieu. Cependant, leur faible potentiel d'oxydation est problématique en vue d'une utilisation *in vivo*, donc en présence de dioxygène. Et enfin, la constante d'affinité de ces systèmes pour le calcium à pH 7 est trop faible pour permettre la détection ou le relargage de quantités de calcium physiologiques.

Afin d'obtenir des dérivés présentant une affinité pour le calcium suffisamment grande pour permettre la détection ou le relargage de quantités de calcium physiologiques, nous nous sommes alors intéressés aux dérivés de BAPTA. Un dérivé couplant un ligand BAPTA à une phénylènediamine a pu être isolé en faible quantité, quantité toutefois suffisante pour permettre une première série d'études en solution. Une étude par spectrophotométrie UV-visible en présence d'EGTA à pH 7 a permis d'estimer la constante d'affinité du ligand **43** pour le calcium à environ 10^7 . En outre, les premières études électrochimiques ont montré que, à pH 7, en l'absence d'EGTA et en présence de calcium, ce système a un comportement de type deux vagues, confirmant ainsi la très forte affinité du ligand **43** pour le calcium. Ces études semblent également montrer qu'après la première oxydation du complexe, le calcium est relargué dans la solution. Cependant, ce dernier résultat reste à confirmer. Les premiers résultats obtenus étant encourageants, de nouvelles études sur ce système seront menées. Tout d'abord, il est indispensable de déterminer les pK_a de ce composé, afin de connaître l'impact de la présence de la phénylènediamine sur les pK_a du BAPTA. Il est à craindre que ceci entraîne une élévation de ces pK_a , comme cela a été observé auparavant pour les dérivés de type « demi-BAPTA », et que le couplage d'une phénylènediamine au BAPTA se traduise par une forte dépendance de la constante d'affinité du ligand au pH. Par la suite, de nouvelles études spectrophotométriques seront menées, de nouveau en présence d'EGTA pour obtenir des spectres complètement exploitables et vérifier l'estimation de la constante d'affinité, mais également en l'absence d'EGTA, afin de s'assurer de l'absence d'interaction entre le ligand **43** et l'EGTA. Finalement, des essais de greffage de ce système à la surface d'une électrode seront menés.

Nous avons constaté que la présence d'une phénylènediamine au voisinage immédiat du ligand affecte les propriétés de ce dernier, en particulier implique une forte dépendance de l'affinité du ligand pour les cations métalliques au pH dans la gamme de pH physiologiques. L'utilisation de

dérivés couplant un ligand à une phénylènediamine demande donc une connaissance très précise du pH du milieu. Pour s'affranchir de cette dépendance au pH dans la gamme de pH physiologiques, il faudrait abaisser le pK_a de la phénylènediamine en incorporant un ou plusieurs substituants fortement électroattracteurs, ce qui permettrait de stabiliser la forme basique du ligand. Ceci permettrait également d'augmenter le potentiel d'oxydation de la phénylènediamine, soit de rendre les dérivés plus stables à l'air, donc de travailler en conditions aérobies, rendant ainsi possibles d'éventuelles applications *in vivo*.

Une autre possibilité serait d'employer un autre centre redox possédant également un hétéroatome aux propriétés de base de Lewis, pouvant être impliqué dans la chélation d'un cation alcalinoterreux, tel qu'une hydroquinone ou un tétrathiafulvalène (TTF).

Annexe 1 : Synthèse et étude de fils moléculaires par voltammétrie cyclique ultrarapide et STM-BJ

Au laboratoire, un axe de recherche important concerne l'étude mécanistique du transfert d'électrons aux interfaces et à travers des fils moléculaires. Il existe plusieurs techniques permettant l'étude de ces transferts électroniques. Quelques-unes d'entre elles sont schématisées en figure A1-01.

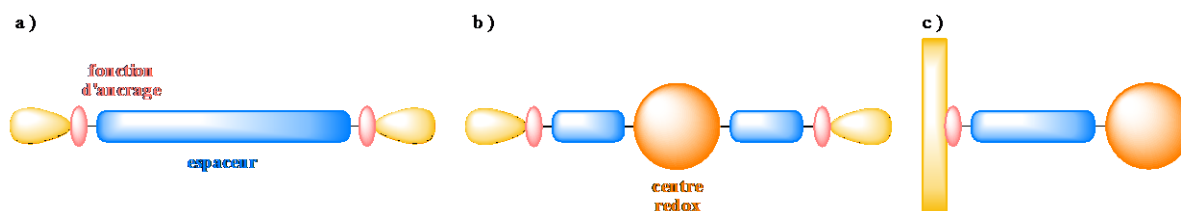


Figure A1-01 : a) jonction cassée avec molécule unique non-électroactive
 b) jonction cassée avec molécule électroactive
 c) électrode fonctionnalisée par une SAM d'un composé électroactif, pour étude par voltammétrie cyclique.

Il est possible de créer un nanogap de taille moléculaire en faisant des jonctions cassées (break junction ou BJ). Lorsque ces jonctions sont incubées dans une solution du composé souhaité, il arrive qu'une molécule unique se fixe dans la jonction. On peut alors déterminer la conductance de cette molécule, qui peut être électroactive ou non (cf. figure A1-01 a) et b)). Une autre possibilité est la microscopie à effet tunnel avec rupture du contact (STM-BJ), qui sera développée ensuite.

Lors d'études par voltammétrie cyclique d'une SAM, on peut déterminer la vitesse du transfert d'électron entre l'électrode et le centre redox de la molécule étudiée, qui est donc nécessairement électroactive (cf. figure A1-01 c)).

Récemment, deux méthodes d'étude ont été utilisées et comparées : la voltammétrie cyclique ultrarapide en phase adsorbée, et la microscopie à effet tunnel avec rupture du contact (break junction) (STM-BJ). Trois familles de composés ont été synthétisées puis étudiés, sous la direction d'Emmanuel Maisonhaute, par voltammétrie cyclique ultrarapide par Philippe Fortgang dans le cadre de sa thèse, et STM-BJ par Xiao-Shun Zhou dans le cadre d'un stage postdoctoral. L'une de ces familles, basée sur des complexes d'osmium, a été préparée par Noureddine Raouafi, une autre basée sur des ferrocènes a été préparée par Anna Serra Muns. Enfin, deux composés basés sur une phénylènediamine ont été préparés pendant ma thèse, en adaptant une stratégie de synthèse utilisée pour la préparation des dérivés d'aza-éther-couronne et d'IDA.

Dans cette annexe, nous présenterons rapidement le principe des méthodes d'étude employées, puis nous développerons la synthèse des fils moléculaires basés sur une phénylènediamine, et enfin, les résultats obtenus seront présentés à travers l'article dans lequel ils sont récapitulés et exploités.¹¹⁰

I) Principe des méthodes d'études

1) Voltammétrie cyclique ultrarapide

La voltammétrie cyclique est une technique d'électrochimie au cours de laquelle on applique à l'échantillon une rampe de potentiel dans un sens puis l'autre afin de revenir au potentiel de départ.

Pendant ce balayage en potentiel, l'intensité du courant est mesurée en fonction du temps, puis tracée en fonction du potentiel, donnant ainsi un voltammogramme. Le balayage en potentiel s'effectue avec une vitesse donnée. Les potentiostats classiques permettent d'atteindre des vitesses de balayage de l'ordre de la centaine au millier de volts par seconde. Au-delà de ces vitesses de balayage, les pertes ohmiques deviennent très importantes, rendant les mesures inexploitable. Afin de pouvoir travailler à des vitesses de balayage pouvant atteindre un million de volts par seconde, un potentiostat fabriqué au laboratoire a été utilisé, dans lequel a été intégrée une boucle de rétro-action permettant de compenser les pertes ohmiques liées à la vitesse de balayage très élevée. Par ailleurs, les pertes ohmiques au niveau des électrodes étant directement corrélées à la surface de ces dernières, afin de minimiser encore davantage ces pertes ohmiques, des microélectrodes lithographiées, également fabriquées au laboratoire, ont été employées.

2) STM-BJ

Le principe de la microscopie à effet tunnel (STM) est présenté en figure A1-02.

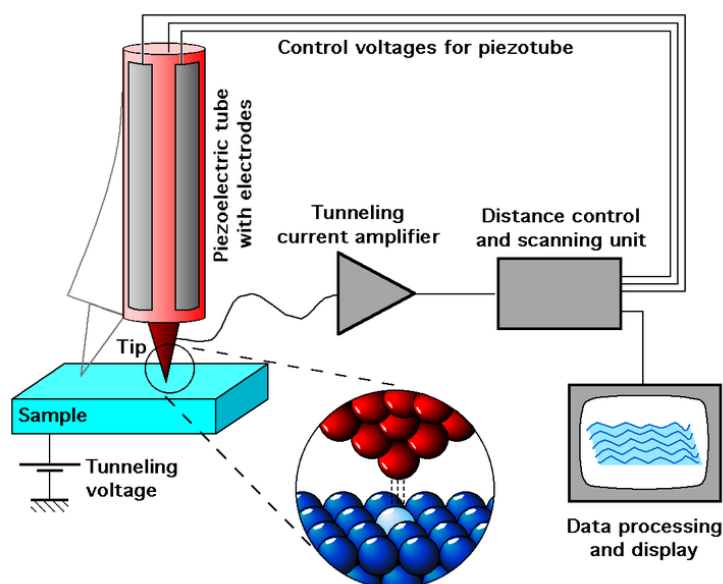


Figure A1-02 : principe du STM

Une pointe conductrice scanne la surface à étudier, également conductrice, à une distance de l'ordre de la taille atomique. Il existe donc un courant résultant du passage d'électrons par effet tunnel entre la pointe et la surface. Ce courant, dit « courant tunnel », est maintenu constant grâce à un système de positionnement de grande précision réalisé à l'aide de piézoélectriques asservi à un ordinateur. Cet ordinateur permet à la fois le contrôle du système et l'enregistrement des déplacements de la pointe, donnant ainsi accès au profil de la surface, avec une précision inférieure aux distances interatomiques.

Dans le cas du STM-BJ, ce procédé est modifié. La surface de l'échantillon est modifiée par adsorption du composé électroactif que l'on souhaite étudier. La pointe est alors amenée au contact de la surface, puis très progressivement remontée. Pendant tout ce processus, l'intensité du courant est enregistrée en fonction de la distance pointe-surface. Lors du contact, l'extrémité libre du dérivé électroactif peut également s'adsorber à la surface de la pointe. Lors du retrait de la pointe, les contacts moléculaires établis par les composés électroactifs entre la surface et la pointe cassent les uns après les autres (cf. figure A1-03).

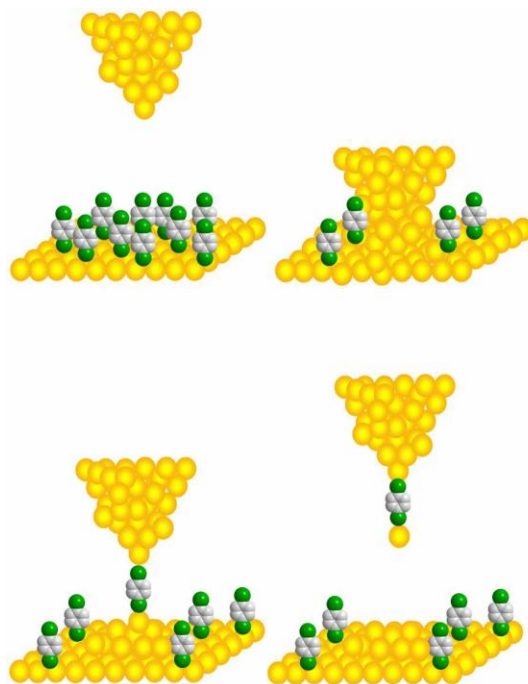


Figure A1-03 : approche de la pointe sur la surface d'or modifiée, puis rétraction pour former un contact moléculaire

L'intensité du courant mesuré entre la pointe et la surface diminue donc par palier, la hauteur de chaque palier étant directement liée à la conductance d'un nombre entier de composé étudié. Cette méthode étant soumise à une très grande variabilité expérimentale, il est indispensable de reproduire les expériences un très grand nombre de fois et de procéder à un traitement statistique des données.

II) Synthèse de fils moléculaires basés sur une phénylènediamine

1) Conception du système

Les études d'un composé électroactif par voltammétrie cyclique ultrarapide en phase adsorbée nécessitent la présence d'une fonction permettant le greffage à la surface de l'électrode. Par ailleurs, lors des études par STM-BJ, le composé étudié doit être à la fois fixé sur une surface et sur une pointe métalliques. Il est donc nécessaire d'introduire deux fonctions permettant un greffage sur une surface métallique. Le métal utilisé étant l'or, nous avons alors de nouveau tiré parti de la très forte affinité du soufre pour l'or, en préparant des dérivés possédant deux fonctions dithiocarbamate ou deux fonctions thiol. Afin d'éviter un fort couplage direct du centre redox avec la surface métallique, il est indispensable d'introduire un groupe espaceur entre les fonctions de greffage et le centre redox. Nous avons choisi d'utiliser un espaceur déjà utilisé précédemment, et facilement fonctionnalisable en groupe soufré : la pipérazine. Nous avons donc préparé les deux composés **44** et **45** présentés en figure A1-04.

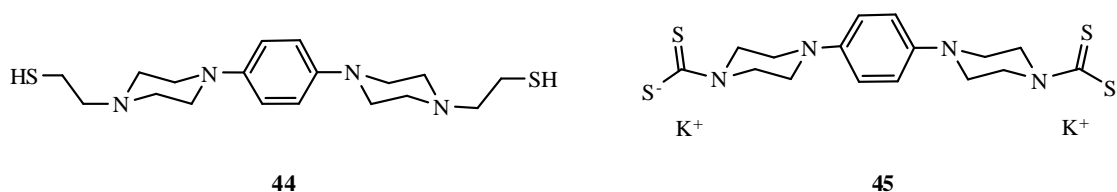
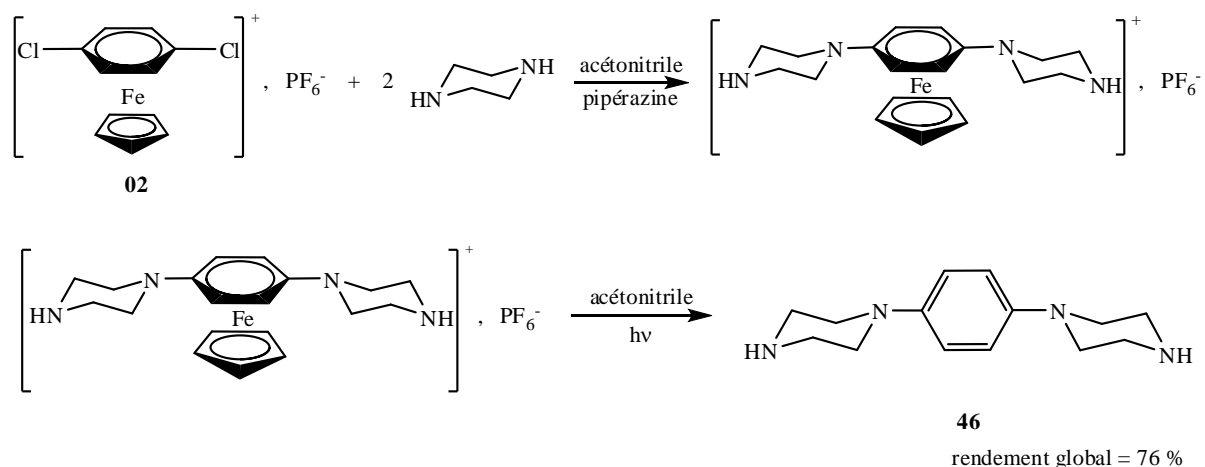


Figure A1-04 : composés **44** et **45**

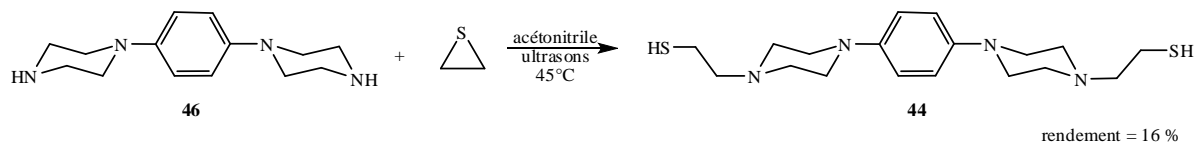
2) Synthèse

Les deux composés **44** et **45** sont des dérivés du même précurseur **46**, cycle benzénique substitué par deux groupes pipérazine, dont la synthèse est présentée en figure A1-05.

Figure A1-05 : synthèse du précurseur **46**

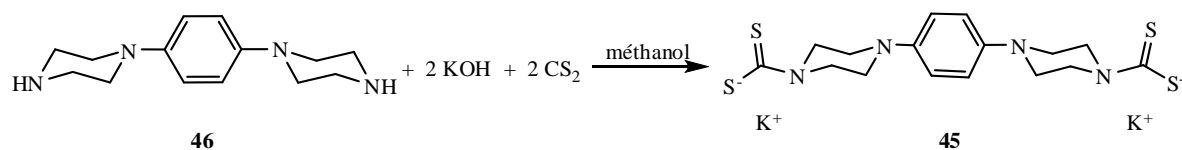
Ce composé **46** a été préparé selon la stratégie de synthèse utilisée pour la préparation des dérivés de phénylènediamine non-substituée, basés sur les ligands aza-éther-couronne ou IDA (*cf.* chapitres II et III). Le complexe **02**, obtenu comme précédemment, est placé en présence de pipérazine. Une double réaction de substitution nucléophile aromatique, rendue possible grâce à l'activation des positions chlorées par la formation d'un η -complexe, conduit à l'obtention d'un nouveau complexe. Après photolyse de ce complexe et purification, le précurseur **46** est isolé avec un rendement global sur les deux étapes de 76 %.

Le dérivé dithiol **44** est obtenu par substitution nucléophile de deux molécules de thiirane par les amines secondaires du précurseur **46**, réaction favorisée thermodynamiquement par l'ouverture du cycle tendu (*cf.* figure A1-06).⁹⁵

Figure A1-06 : synthèse du composé **44** à partir du thiirane

Après purification, le produit désiré est isolé sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 16 %.

Le dérivé bis-dithiocarbamate **45** a pu être isolé par réaction du précurseur **46** sur le disulfure de carbone en milieu basique, suivant la stratégie employée précédemment (*cf.* figure A1-07).⁹⁴

Figure A1-07 : synthèse du composé **45**

Malheureusement, cette stratégie de synthèse conduit à l'obtention d'un produit contenant des traces de potasse que nous n'avons pas réussi à éliminer. Or les techniques d'études utilisées ensuite

requièrent l'utilisation de produits purs. Pour cette raison, seul le dérivé dithiol **44** a été utilisé par la suite.

III) Résultats

La synthèse et l'étude des trois familles de fils moléculaires au laboratoire ont fait l'objet d'une publication ci-jointe, exposant plus en détails les méthodes d'étude employées et développant les résultats obtenus.

La conductance de molécules uniques a été mesurée pour trois systèmes redox différents, auto-assemblés (SAMs) à la surface d'or, par STM-BJ. Ces résultats ont été comparés aux constantes de vitesse du transfert électronique déterminées par voltammétrie cyclique ultrarapide. Il a été observé que les systèmes les plus rapides sont également ceux ayant la conductance la plus élevée. La dépendance monotone de la conductance en fonction du potentiel montre que de grands mouvements moléculaires empêchent les niveaux redox moléculaires d'être situés entre les niveaux de Fermi des électrodes du nanogap. Par conséquent, les facteurs de couplage électronique pour ces deux approches expérimentales ont été évalués sur la base de la théorie du mécanisme de superéchange. Les résultats suggèrent que le couplage est du même ordre de grandeur, voire plus élevé dans les mesures de conductance, alors que le transfert électronique a lieu sur des distances plus élevées qu'en électrochimie transitoire.

Do Molecular Conductances Correlate with Electrochemical Rate Constants? Experimental Insights

Xiao-Shun Zhou,^{▽,†,‡,§} Ling Liu,^{▽,†} Philippe Fortgang,[§] Anne-Sophie Lefevre,[§] Anna Serra-Muns,[§] Noureddine Raouafi,^{§,⊥} Christian Amatore,^{*,§} Bing-Wei Mao,^{*,‡} Emmanuel Maisonhaute,^{*,§,¶} and Bernd Schöllhorn^{*,§,¶}

[†]Zhejiang Key Laboratory for Reactive Chemistry on Solid Surfaces, Institute of Physical Chemistry, Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China

[‡]Chemistry Department and State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surfaces, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China

[§]UMR CNRS 8640 Pasteur, Ecole Normale Supérieure, Université Pierre et Marie Curie – Paris 06, 24 rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05, France

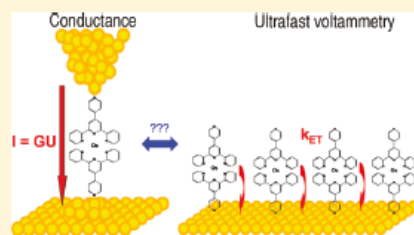
[⊥]Laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie, Département de Chimie, Faculté des Sciences de Tunis, Université El-Manar, 2092 Tunis El-Manar, Tunisia

[¶]LISE-Laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques, UPR 15 du CNRS, Université Pierre et Marie Curie – Paris 06, Case Courrier no. 133, 4 place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05, France

^{*}Laboratoire d'Electrochimie Moléculaire, Université Paris Diderot – Paris 07, CNRS UMR 7591, 15 rue Jean-Antoine de Baïf, Bat. Lavoisier, 75013 Paris, France

S Supporting Information

ABSTRACT: We measured single-molecule conductances for three different redox systems self-assembled onto gold by the STMBJ method and compared them with electrochemical heterogeneous rate constants determined by ultrafast voltammetry. It was observed that fast systems indeed give higher conductance. Monotonous dependency of conductance on potential reveals that large molecular fluctuations prevent the molecular redox levels to lie in between the Fermi levels of the electrodes in the nanogap configuration. Electronic coupling factors for both experimental approaches were therefore evaluated based on the superexchange mechanism theory. The results suggest that coupling is surprisingly on the same order of magnitude or even larger in conductance measurements whereas electron transfer occurs on larger distances than in transient electrochemistry.



1. INTRODUCTION

Evaluation of electron transport properties of molecular structures is under increasing focus, the aim being to provide not only guidance for building efficient signal transduction for future bottom-up devices^{1,2} but also to enable deeper insight into chemical/electrochemical processes. Several experimental approaches are relevant in this field. Among them, transient spectroscopy has proven to be useful to initiate electron transfer between an acceptor A and a donor D separated by a bridge in a molecule.^{3,4} Electrochemical techniques that involve replacement of A or D by an electrode allow a current to be registered toward or from a redox center that is incorporated into the bridge.⁵ Both of these types of techniques afford rate constants and thus kinetic parameters of thermalized electron transfer. Furthermore, though in voltammetry the method is statistical, being performed onto a large number of molecular systems, only a single electron per molecule is transferred, creating a permanent change in the molecule. Conversely, when both A and D are

replaced by electrodes, a steady-state current flows; hence, a conductivity through the bridge can be estimated. Development of the mechanically controllable break junction (MCBJ) technique or the scanning tunneling microscopy break junction (STMBJ) technique has presently reached the single-molecule limit^{6–9} of molecular conductance determination in the junction.

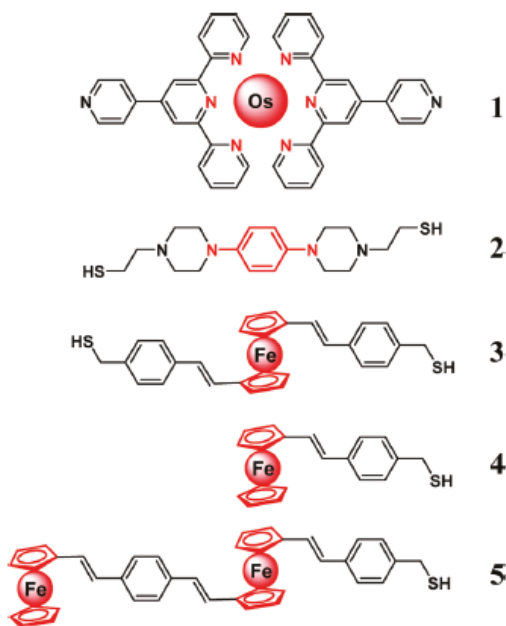
Theoretical formulations relevant for the diverse experimental setups differ in the way the electronic and vibrational states are taken into account. For a molecular entity, there is generally a single electronic state to consider, but a continuous distribution of vibrational states is involved through the so-called Franck–Condon factor:

$$F = \frac{e^{-(\lambda + E_{AD})^2/4\lambda k_B T}}{\sqrt{4\pi\lambda k_B T}} \quad (1)$$

Received: February 2, 2011

Published: April 25, 2011

Scheme 1. Molecular Systems Considered in the Present Work



where λ is the reorganization energy of the redox center and E_{AD} the energy difference between donor and acceptor.⁴ Conversely, for an electrode, the vibrational level influence can be neglected but electron transfer may occur from (or to) a Fermi–Dirac distribution of closely spaced energy levels. In all approaches, the parameter relevant to characterize the communication through the bridge is the electronic coupling factor H .¹⁰

In the case where a redox system is incorporated in the bridge itself, charge transport could become more complicated. Current modulation or rectification may depend on the redox state of the redox moiety.^{11–16} In such a configuration, immersing the bridge into an electrolyte poised to a reference electrode allows the gating command to propagate through the solution. The reference electrode (i.e., the gate) can be placed far from the molecular junction under investigation. Therefore, only two conducting electrodes need to be arranged close enough to form a nanometric gap. However, mechanisms of charge transport would be complicated by fluctuations of solvent polarization and internal modes of the molecule.^{17,18}

Our aim in this study was to contribute to the ongoing discussion about the relationship between conductivity and electron transfer rate constants in bridges equipped with a redox center. Indeed, though there is a formal equivalence, there is a big difference between communicating and localizing electrons or holes in a structure (as we do by our CV method) and simply passing charges through the structure by a tunnel effect favored by the quantum coupling within the structure (as in STMBJ). We thus selected the three very different molecules 1–3, displayed in Scheme 1, with the aim of measuring both their molecular conductance using the STMBJ technique initially implemented by Tao et al.^{7,19,20} and their heterogeneous rate constant by ultrafast cyclic voltammetry.²¹ Molecules 1–3 differ widely in the

nature of their redox center, bridging unit, and metal-contacting atoms but have similar size (about 1.9 nm). Whereas it is relatively easy to measure molecular conductance when conduction rates are rather high, it is conversely more difficult to accurately determine fast electrochemical rate constants because ohmic losses in the solution filter the electrochemical information. We addressed this problem by the employment of microelectrodes with a specific potentiostat that allows compensation of ohmic losses with a sweep rate up to 2.5 megavolts per second in cyclic voltammetry. This setup is equivalent to a few tens of nanoseconds resolution^{21–23} so that transient electrochemistry is now useful to investigate fast transduction which is obviously the most interesting domain for future practical applications of molecular electronic devices.

2. EXPERIMENTAL DETAILS

2.1. Synthesis. The detailed synthesis of compounds 1–3 is reported in the Supporting Information.

2.2. Adsorption Conditions. The adsorption conditions were optimized for each compound. For 1, a gold single crystal was immersed into a CH_3CN solution of 1 (0.1 mM) for 5 min, and then for 10 min in the pure solvent. For 2, the electrode was first immersed into a 0.05 mM CH_2Cl_2 solution of 2 for 1 h at 4 °C and then for 1–2 h in pure solvent after a thorough rinsing. The self-assembled monolayer of 3 was formed by soaking the electrode overnight in a chloroform solution containing 0.1 mM 3 and 0.1 mM pentanethiol 0.1, the latter being used as a diluent to minimize hairpin adsorption of 3 by both thiol functions on the surface (see below). After being thoroughly rinsed with chloroform, the electrode was immersed in pure chloroform for 2–4 h to remove physically adsorbed molecules.²⁴

2.3. STM Experiment. Experiments for 1 and 2 were performed using an Agilent 5100 microscope. Gold tips were prepared electrochemically²⁵ and then insulated using Apiezon wax to obtain a leakage current of less than a few picoamps. A gold 111 crystal from Mateck was used for adsorbing the molecules. Prior to the STMBJ experiment, an image of the substrate was recorded to ensure that a single monolayer was obtained. Approach and retraction of the tip were performed using the custom spectroscopy mode in Picoscan 5.4. The tip was driven toward the surface, and then it was held at a constant distance for typically 200 ms in order to form some molecular junctions. Then the tip was retracted at a typical speed of 5 nm s⁻¹. The feedback was re-established between each measurement.

Experiments with 3 were performed on a Nanoscope E STM (Veeco, Plainview, NY) modified to perform conductance measurements. Mechanically cut gold STM tips were used after insulation with thermosetting polyethylene glue for in situ STM measurements. Platinum wires were used as both counter- and quasireference electrodes. Voltammograms were recorded on a CHI potentiostat with an SCE reference electrode and a Pt counter electrode. All potentials for 3 are thus reported with respect to SCE.

Histograms were obtained by manual selection of conductance traces. Traces displaying monotonous decay or mechanical vibration were discarded. A parallel automatic analysis where conductance plateaus were evaluated numerically by calculation of the current standard deviation over a given interval gave similar results.

2.4. Ultrafast Cyclic Voltammetry. Ultrafast cyclic voltammetry was performed with a homemade potentiostat, allowing online compensation for ohmic losses.^{22,23} Electron transfer rates were estimated from the peak displacement fitting using Laviron plots and supposing a transfer coefficient α of 0.5. The working, reference, and counter electrodes were lithographically produced Au band electrodes for 1.²⁶ Since lower scan rates were necessary for 2, gold balls could be used as

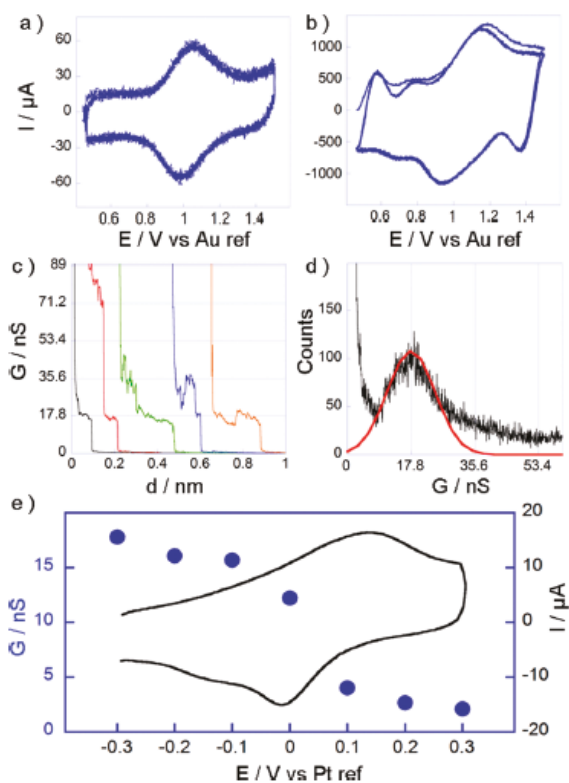


Figure 1. Cyclic voltammograms of molecule **1** at (a) 10400 V s^{-1} and (b) 407000 V s^{-1} , three consecutive scans, no average. Electrolyte: $\text{H}_2\text{O} + 1 \text{ M NaClO}_4$. (c) Some conductance traces obtained for **1** at a sample potential of -0.3 V/Pt and a bias of 50 mV . Electrolyte: 0.1 M NaClO_4 aqueous solution. (d) Histogram obtained from the selection of 211 out of 1000 conductance curves. (e) Filled circles: molecular conductance versus sample potential. Black line: cyclic voltammogram.

working electrodes. The reference was then an SCE, and Pt was used for the counter electrode.

3. RESULTS

3.1. Osmium Bisterpyridine. The first probe **1** was an osmium^{II} bisterpyridine complex that may be reversibly oxidized to Os^{III}. Figure 1a and 1b represents two voltammograms obtained for **1**. At “slow” scan rates, a voltammogram with bell-shape and almost symmetrical is obtained because equilibrium with the electrode is always sustained. At 407000 V s^{-1} , despite the very short time scale of the measurement, the peaks are only slightly shifted compared to their equilibrium position. However, this shift is significant and allows determination of the heterogeneous rate constant k_{ET} (see Supporting Information): $k_{\text{ET}} = 2.0 \times 10^6 \pm 0.5 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$. This value is smaller than the one determined by the same method for the complex $\text{Py}(\text{CH}_2)_2\text{-PyOsCl}(\text{bpy})_2$ ($k_{\text{ET}} = 4 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$, Py standing for pyridine) by the same group²⁷ despite a shorter bridge length. This suggests that the reorganization energy for the Os(tpy)₂ redox center is probably higher than for $\text{PyOsCl}(\text{bpy})_2$. Since the coordination sphere has nearly the same size, it is likely that the difference stems from a higher internal reorganization.

Molecular conductance was determined by the STMBJ method. Figure 1c displays typical stepwise current–distance curves for **1** at a sample potential of -0.3 V , thus within the stability region of Os^{II}. The bias voltage was fixed at 50 mV . Approximately 20% of the curves displayed detectable steps, which agrees with that reported in the literature.⁶ The statistical analysis based on histogram construction displays a characteristic current peak which is attributed to the conductance current of a single-molecule junction (Figure 1d). While keeping the sample potential at -0.3 V , we varied the applied bias voltage from 10 to 200 mV . The conductance remained constant, confirming the reliability of our setup (see Figure S3 in Supporting Information).

The dependence of Au–I–Au junction conductance on the potential is reported in Figure 1e. We varied the sample potential from -0.3 to 0.3 V while the bias remained fixed at 50 mV . A cyclic voltammogram obtained on the Au(111) single crystal used to perform STMBJ measurements is also displayed in Figure 1e for comparison. There was a clear modulation of the conductance by the redox switching from 17.8 nS at -0.3 V to 2.1 nS at $+0.3 \text{ V}$, which provides an on–off ratio of 8.5 .

3.2. Phenylenediaminebisthiol. System **2** conversely contains saturated parts in the bridges, so that the redox center is better isolated from the electrodes. As a consequence, the rate of electron transfer is much slower: $7 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$. Since the resistance was higher, we observed more noise in the conductance curves, and it was more difficult but nevertheless possible to observe well-defined steps as depicted in Figure 2a. This allows the determination of a molecular conductance from the histogram presented in Figure 2b. From the resulting histograms constructed at different potentials (see Figure 2c), we deduced that the conductance shifts from 0.79 nS in the reduced state to 0.33 nS in the oxidized one. Modulation by the potential is thus smaller than for **1** but still appreciable (see Discussion). In the case of gold–sulfur bonds, reports of so-called “low” and “high” conductivity peaks (LC and HC) have often been observed in the literature. The common explanation is that the molecular conductivity depends strongly on the contact configuration, i.e., on the position of the sulfur atom on the electrode.^{19,28,29} Tao initially proposed that when the sulfur is on a hollow site between three gold atoms, the conductivity is higher than when it stands on top of a single gold atom. On the other hand, bridge–bridge geometry has been predicted by Wandlowski to give the higher conductivity.²⁹ More recently, further studies by the Nichols group evidenced multiple sets of conductance values caused by the contact morphology, thus the atomic structure of the substrate surface.³⁰ The ratio HC/LC is usually around 5 . We also observed a switch in the low conductance, with a shift from 0.13 to 0.09 nS (see Supporting Information).

3.3. Ferrocenebisthiol. Our attempts to perform experiments with monolayers formed from a solution of **3** alone did not provide enough curves with clear steps. Therefore, the resulting histograms did not display clear maxima so that the molecular conductance could not be properly evaluated. We assign these complications to the fact that rotation of the cyclopentadienyl rings around the iron possesses a low activation barrier, thus allowing anchoring of the molecule onto the surface with both thiol functions, which prevents single-molecule contacts. In order to avoid this problem, we coadsorbed pentanethiol to **3**. The resulting cyclic voltammograms of a Au(111) electrode modified with a mixture of **3** and pentanethiol are given in Figure 3a. A well-defined couple of redox peaks is present with a peak potential at 0.22 V vs SCE .

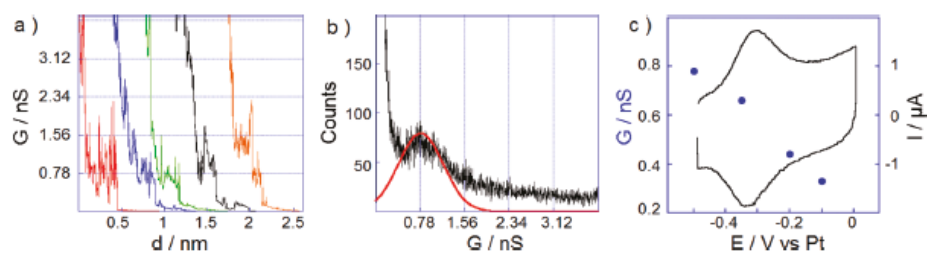


Figure 2. (a) Some conductance traces obtained at a sample potential of -500 mV and a bias of 100 mV for 2. (b) Histograms at a sample potential of -500 mV. 165 out of 1000 curves were selected. (c) Filled circles: conductance as a function of electrode potential (left y axis). Black line: cyclic voltammogram of 2 (right y axis). Electrolyte: 0.1 M tetraethylammonium tetrafluoroborate aqueous solution.

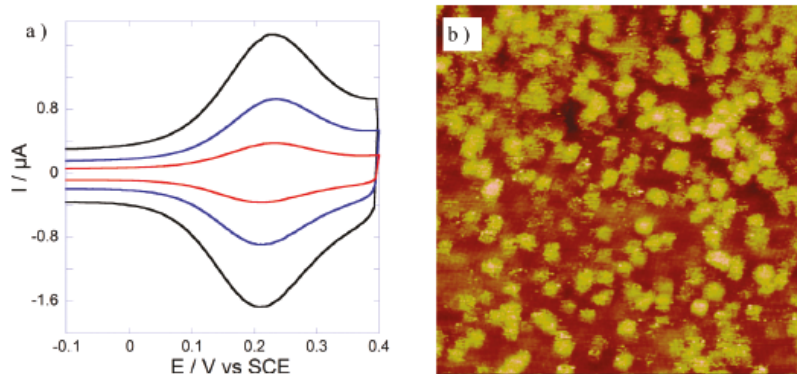


Figure 3. (a) Cyclic voltammograms of 3 coadsorbed with pentanethiol (see text) at 0.02 , 0.05 , and 0.1 V s^{-1} in $\text{H}_2\text{O} + 0.1$ M HClO_4 . (b) Topography of mixed SAMs of 3 and $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{SH}$ adsorbed on $\text{Au}(111)$ in 0.1 M HClO_4 solution at a substrate potential of 0.2 V (100 nm \times 100 nm), $I_t = 15$ pA, bias = -0.1 V, Z-scale = 1 nm).

Figure 3b shows the STM image of the mixed SAM surface. The STM image is composed of big bright spots of diameter 4 to 6 nm ascribed to 3 on a relatively darker background attributed to the underlying pentanethiol monolayer for which molecular resolution is achieved. Several effects may explain the large diameter of the spots. First, similar to that proposed by Tour,^{31–33} the bright spot corresponds to the tip structure imaged by the protruding redox molecules so that the size of the spot is not representative of the size of the molecule. Second, since the molecule in our system is less diluted than in Tour's work, single molecules are not always resolved, and the bright spots may correspond to molecular aggregates of the redox molecules alone or with the pentanethiol diluent. However, the nearly ideal voltametric response demonstrates that interactions between electroactive entities are minimal, suggesting that pentanethiol is likely inserted in the aggregate. More importantly, single-molecule junctions would anyway be formed in the final stage upon tip withdrawal regardless of the original number of molecules present in the aggregates (see below). Third, rotation over the Cp ring to get a twisted conformation would also enlarge the apparent diameter. The height and diameter of the spots remained unchanged upon potential variation from reduced (-0.1 V) to oxidized state (0.4 V) which serves as the first indication of possible conductance invariance with potential (see below).

Under these conditions, single-molecule conductance was measured at reduced (-0.1 V), oxidized ($+0.4$ V), and

intermediate ($+0.2$ V) redox states of 3 which forms mixed SAM with pentanethiol. This presents the advantage to prevent a looping around the cyclopentadienyl ring that could allow an anchoring with both thiols onto the electrode. As can be seen in Figure 4, clear steps could be observed, allowing histogram construction for either high or low conductance. Very surprisingly, the molecular conductance remained almost unchanged with potential, at a value close to 9.4 nS for HC and 2 nS for LC. The slight decrease observed near the standard potential (9.2 and 1.9 nS) is within the experimental error. The high conductivity is in agreement with the one determined previously in a MCBJ experiment without potential control (9.7 nS).³⁴ The conductance invariance observed for 3 severely contrasts with the behavior of systems 1 and 2 and with any other redox molecules that have been reported so far. Moreover, in some cases, we observed large fluctuations in the current while retracting the tip (see Figure 5a). This prompted us to stop the tip movement at a defined current close to high or low conductance and monitor the current as a function of time. Interestingly, discrete conductance switching around HC or LC was observed, two typical examples being displayed in Figure 5b and 5c. This subtle behavior is not directly apparent in the conductance histograms except for broadening of the histograms. Since it occurs for both HC and LC, it cannot be attributed to the contact geometry but rather to a conformational change of the molecule that induces a change in electronic coupling. Recently, it has been demonstrated that a direct contact between the tip and an aromatic ring

could be obtained.^{30,35,36} However, it was also demonstrated that whenever adsorption by both thiols is possible, conductance peaks in the histograms are dominated by Au–S–molecule–S–Au configuration. Observation of HC and LC conductance peaks also confirms that 3 is linked by both thiols to the electrode, which seems plausible considering that the Au–S interaction is stronger than the Au–Cp one. At the present stage, it is impossible to identify the precise molecular changes responsible for these variations. Rotation of the cyclopentadienyl rings may be involved.

Our former ultrafast CV results for molecules 4 and 5 which possess a similar structure compared to 3 are very useful to relate with conductance measurements.³⁷ Very similar rate constants of ca. $5 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ for both 4 and 5 were obtained. In the case of 5, a single two-electron wave was obtained, indicating that the singly oxidized intermediate was thermodynamically as well as

kinetically unstable. The currently accepted explanation is that the positive charge is delocalized over the whole conjugated body and thus cannot be stabilized by the solvent.³⁸ Conversely, the charges are localized in the doubly oxidized molecule, and solvation brings a stabilization that may overcompensate for the initial electrostatic repulsion, particularly in polar media. A dramatic mechanistic change was thus observed when the intermediate redox center was buried inside a hydrophobic diluent. The almost independence of electronic coupling with the molecular length confirmed that phenylenevinyls are indeed very good candidates for building efficient molecular devices.⁵ Hence, this family provides a relatively high conductance and very fast electron transfers.

4. DISCUSSION

For electrochemical systems, theories have been developed to take into account the energy level variations inside the gap when the redox reaction occurs and different limiting situations may be encountered. Initially, Schmickler and co-workers evaluated the case of resonant tunneling when the oxidized or reduced level of the redox center has an energy level comparable with that of the electrodes.³⁹ This situation should in principle lead to a current maximum at potentials close to $E^0 \pm \lambda$ (E^0 is the standard potential) upon varying the sample potential. On the other hand, Ulstrup and co-workers have considered both reduced and oxidized states and electron hopping possibilities.^{13,40–42} Upon electron transfer, the redox level relaxes to another equilibrium position. If coupling with the electrodes is very strong, several electron transfer events may occur during the relaxation. If the coupling is weak, relaxation occurs first, the electron is transferred to the second electrode, and relaxation toward the first equilibrium position ends the cycle. In adiabatic or nonadiabatic situations a conductance peak should thus be observed in the vicinity of the standard potential of the bridge. Influence of some experimental parameters is worth mentioning. First, the local potential at the redox site may be different because the potential drop is strongly affected by the tip potential. Second, the access of solvent molecules to the nanogap is restricted and the effective dielectric constant may differ, inducing a slower energy reorganization. Finally a conformational change may occur in the nanogap, hindering the resonance and leading to a so-called “soft gating” transition,^{18,40,43} i.e., the one where a monotonous variation of the conductance is observed. This last point also

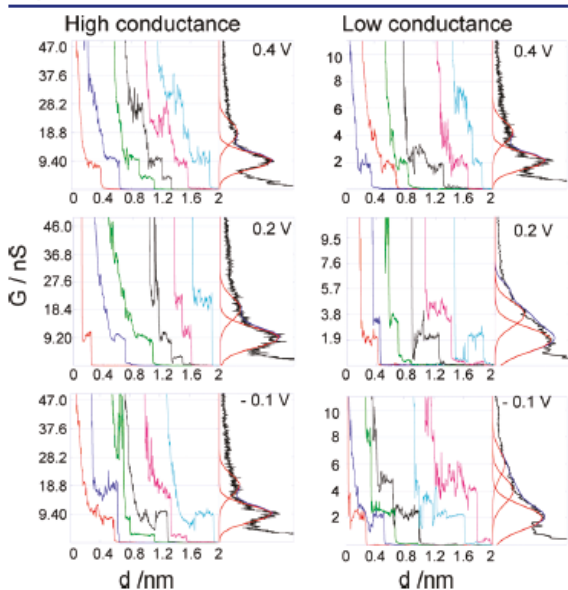


Figure 4. Typical conductance traces and histograms for high and low conductance at different potentials for molecule 3. Potentials refer to SCE.

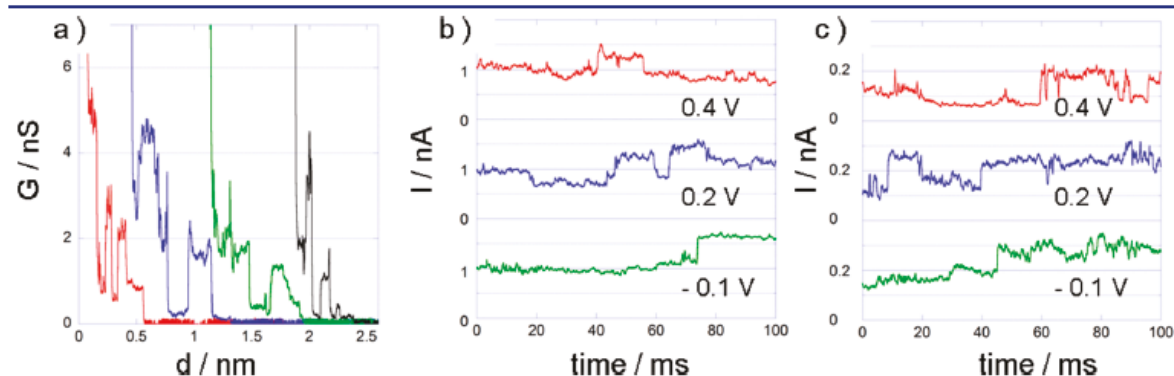


Figure 5. (a) Examples of stepwise conductance fluctuation shown in some conductance traces curves for low conductance. Sample potential 0.2 V vs SCE, bias: 100 mV for 3. (b) Example of stepwise conductance fluctuations obtained by $I-t$ measurements near the high conductance at different potentials. Bias: 100 mV. (c) Example of stepwise conductance fluctuations obtained by $I-t$ measurements near the low conductance. Bias: 100 mV.

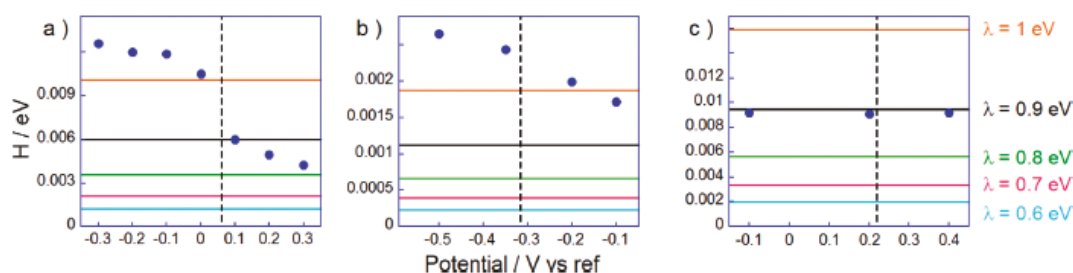


Figure 6. Estimated electronic coupling elements from conductance measurements (filled circles) and from ultrafast voltammetry (horizontal lines) for a range of reorganization energies ranging from 0.6 to 1 eV for 1 (a), 2 (b), and 3 (c). The vertical dashed line indicates standard potential. The potential scale refers to Pt for panels a and b, and to SCE for panel c.

depends on the precise experimental setup used to construct the nanogap since it may play a role in the local organization of the molecules inside the junction.

Experimentally, two different situations have been encountered in literature. The first class of systems is composed of electroactive self-assembled monolayers and investigated by tunneling spectroscopy. In this situation, many systems display a current maximum when the sample is poised near the standard potential. This is the case, for example, for a protoporphyrin,⁴⁴ several osmium and ferrocene complexes,^{42,45,20} viologens,⁴⁶ and azurin, a redox protein.⁴⁷ The second category is composed of systems chemically anchored at both ends.^{24,43,46,48,49} In that case, only the tetrathiofulvalenebisalkylthiol displayed a maximum.⁴³ For other systems of this category including ferrocenes or viologens, a monotonous variation of the conductance was observed. Perylene-tetracarboxylic diimine derivatives displayed intermediate behavior.^{16,48}

For our systems, the absence of any current maximum near the standard potential indicates a “soft-gating” mechanism, thus involving configurational dynamics of the molecule in the nanogap, as depicted by Ulstrup et al.^{40,43} Electron transfer is assisted by the redox molecular levels that are not, however, in resonance with the Fermi levels of the electrode. Here, a potential variation modulates the coupling factor H_{conduc} but the mechanism continues to be a superexchange.^{50,51} This demonstrates that large conformational fluctuations occur in the nanogap. It is noticeable that the larger on–off current ratio is higher for the more rigid system 1. In the extending nanogap more degrees of freedom may be available for flexible molecules which would extend beyond the height of the diluent molecules, and the situation may thus greatly differ from the behavior in single-component types of self-assembled monolayers where the molecules are well-organized. In the framework of superexchange, theoretical equivalence between conductance measurements through a bridge and electron transfer from an electrode to a redox center separated from the electrode by the same bridge has been examined by several authors^{4,52} and reinforce the intuitive idea that electron transfer rate constants should be correlated to single-molecule conductance.⁵³ From the Lewis formulation,^{10,52} one deduces the following expressions for k_{ET} and G :

$$k_{\text{ET}} = \frac{2\pi^2}{h} \rho_M H_{\text{ET}}^2 \sqrt{\frac{\pi k_B T}{\lambda}} \times \exp\left(-\frac{\lambda}{4k_B T}\right) \quad (2)$$

$$G = \frac{4\pi^2 e^2}{h} H_{\text{conduc}}^2 \rho_M^2 \quad (3)$$

where e is the elementary charge, and ρ_M is the electronic state density in the metal (supposedly identical in both electrodes). A currently accepted value for gold is $\rho_M = 0.27 \text{ state eV}^{-1}$.^{10,52} H_{ET} is the electronic coupling energy controlling the electron transfer rate constant and H_{conduc} imposes the conductance value.

The coupling factors H_{conduc} and H_{ET} were evaluated for a range of reasonable reorganization energies. For H_{conduc} , we resorted to the high conductance value since it is expected to be closer to the relaxed conformation of the SAM. Results are reported in Figure 6. For ferrocene and phenylene diamine derivatives λ is in the range 0.6–1 eV.^{54–56} No reported λ value exists for 1, but it may be expected to fall in the same range (see Supporting Information). Comparison of system 3 with 4 and 5 gives an excellent agreement ($H_{\text{conduc}} = 9.2 \times 10^{-3} \text{ eV}$; $H_{\text{ET}} = 9.5 \times 10^{-3} \text{ eV}$) for $\lambda = 0.9 \text{ eV}$, a very plausible value for ferrocenyl derivatives.^{5,37} This may be correlated to the invariance of k_{ET} with the molecular length.³⁷ For 1 and 2, H_{conduc} obtained at low potentials, therefore in the conformation for which the SAM is created, is clearly higher than H_{ET} . Since electron transfer operates over a longer distance in the conductance mode, this result is rather surprising, particularly for 2 whose redox center is connected through long saturated bridges. In the present study, we do not have a clear reference for the electrode–tip distance. For the conductance steps being observed within 0.2 nm, it is possible that while a step is observed, the molecule is in a stressed conformation, for example a partially folded or twisted one. Conversely, cyclic voltammetry is performed onto a relaxed geometry.^{57–61} By temperature measurements of single-molecule conductance performed in air for dithioalkyls, Haiss et al. demonstrated that different high energy conformers indeed lead to higher conduction.⁶² Conformational changes may be induced by the current itself,^{63,64} or by the tip movement while or after the contact is established. A softer method to realize the contact could minimize the molecular fluctuations and lead to a better correlation.⁸ Other recent evolutions of the STM/BJ technique may also enable analysis and help to resolve this issue by allowing conductance measurements at various nanogap widths (i.e., at different molecular conformations).^{8,65} These results, and particularly those for 3, although showing a qualitative correlation between k_{ET} and G , highlight the need for further theoretical and experimental insights to fully understand the performances of complex molecular systems. These results also emphasize the need for independent and complementary experimental methods to estimate the device possibilities.

5. CONCLUSIONS

Molecular conductance and heterogeneous rate constants were evaluated for three molecular systems. Qualitatively, it was observed that fast electron transfer rate constants correspond to rather high conductances. Conductance variation with the potential suggests that superexchange, not electron hopping, is the predominant mechanism for the investigated molecules. The almost fully conjugated ferrocenebisthiol 3 even displayed a complete independence of conductance on potential when constructing histograms from $I-d$ curves. However, slight flips of conductance ascribable to conformational changes were observed when the tip movement was stopped after establishing an otherwise stable molecular junction. Tentative evaluations of electronic coupling revealed that, except for compound 3, this parameter is surprisingly higher for steady-state conductance measurements than for transient electron transfer albeit the charge had to travel over a larger distance in the former case. This emphasizes that information derived from molecular structures should be evaluated through various experimental and theoretical approaches to elucidate intrinsic molecular complexity.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information. Reorganization energy evaluation of molecule 1, additional data for conductance measurement and ultrafast cyclic voltammetry, synthesis of molecules 1–3. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

emmanuel.maisonhaute@upmc.fr; bwmao@xmu.edu.cn; christian.amatore@ens.fr; bernd.schollhorn@univ-paris-diderot.fr

Author Contributions

These two authors contributed equally to this work.

■ ACKNOWLEDGMENT

In Paris, this work was supported by the CNRS (UMR 8640 and LIA XiamENS), Ecole Normale Supérieure, UPMC, and the French Ministry of Research through ANR. In China, this work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 20973141, 20911130235, and 21003110). X.S.Z. and N.R. thank ANR and DGRST, respectively, for postdoctoral grants.

■ REFERENCES

- (1) Ratner, M. *Nature* 2005, 435, 575.
- (2) Joachim, C.; Ratner, M. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005, 102, 8801.
- (3) Nitzan, A. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 2001, 52, 681.
- (4) Nitzan, A. *J. Phys. Chem. A* 2001, 105, 2677.
- (5) Sikes, H. D.; Smalley, J. F.; Dudek, S. P.; Cook, A. R.; Newton, M. D.; Chidsey, C. E. D.; Feldberg, S. W. *Science* 2001, 291, 1519.
- (6) Chen, F.; Tao, N. J. *Acc. Chem. Res.* 2009, 42, 429.
- (7) Xu, B. Q.; Tao, N. J. *Science* 2003, 301, 1221.
- (8) Nichols, R. J.; Haiss, W.; Higgins, S. J.; Leary, E.; Martin, S.; Bethell, D. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, 12, 2801.
- (9) Tian, J. H.; Yang, Y.; Liu, B.; Schollhorn, B.; Wu, D. Y.; Maisonhaute, E.; Muns, A. S.; Chen, Y.; Amatore, C.; Tao, N. J.; Tian, Z. Q. *Nanotechnology* 2010, 21, 274012.

- (10) Traub, M. C.; Brunshwig, B. S.; Lewis, N. S. *J. Phys. Chem. B* 2007, 111, 6676.
- (11) Yeganeh, S.; Galperin, M.; Ratner, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 13313.
- (12) Galperin, M.; Ratner, M. A.; Nitzan, A. *Nano Lett.* 2005, 5, 125.
- (13) Albrecht, T.; Guckian, A.; Ulstrup, J.; Vos, J. G. *Nano Lett.* 2005, 5, 1451.
- (14) Diez-Perez, I.; Hihath, J.; Lee, Y.; Yu, L. P.; Adamska, L.; Kozhushner, M. A.; Oleynik, I. I.; Tao, N. J. *Nat. Chem.* 2009, 1, 635.
- (15) Gittins, D. I.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Nichols, R. J. *Nature* 2000, 408, 67.
- (16) Xu, B. Q.; Xiao, X. Y.; Yang, X. M.; Zang, L.; Tao, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 2386.
- (17) Galperin, M.; Ratner, M. A.; Nitzan, A.; Troisi, A. *Science* 2008, 319, 1056.
- (18) Zhang, J. D.; Kuznetsov, A. M.; Medvedev, I. G.; Chi, Q. J.; Albrecht, T.; Jensen, P. S.; Ulstrup, J. *Chem. Rev.* 2008, 108, 2737.
- (19) Zhou, X. S.; Chen, Z. B.; Liu, S. H.; Jin, S.; Liu, L.; Zhang, H. M.; Xie, Z. X.; Jiang, Y. B.; Mao, B. W. *J. Phys. Chem. C* 2008, 112, 3935.
- (20) Li, Z. H.; Liu, Y. Q.; Mertens, S. F. L.; Pobelov, I. V.; Wandlowski, T. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 8187.
- (21) Amatore, C.; Maisonhaute, E. *Anal. Chem.* 2005, 77, 303A.
- (22) Amatore, C.; Maisonhaute, E.; Simonneau, G. *Electrochem. Commun.* 2000, 2, 81.
- (23) Amatore, C.; Maisonhaute, E.; Simonneau, G. *J. Electroanal. Chem.* 2000, 486, 141.
- (24) Xiao, X. Y.; Brune, D.; He, J.; Lindsay, S.; Gorman, C. B.; Tao, N. J. *Chem. Phys.* 2006, 326, 138.
- (25) Ren, B.; Picardi, G.; Pettinger, B. *Rev. Sci. Instrum.* 2004, 75, 837.
- (26) Fortgang, P.; Amatore, C.; Maisonhaute, E.; Schollhorn, B. *Electrochem. Commun.* 2010, 12, 897.
- (27) Amatore, C.; Bouret, Y.; Maisonhaute, E.; Abruna, H. D.; Goldsmith, J. I. C. *R. Chim.* 2003, 6, 99.
- (28) Li, X. L.; He, J.; Hihath, J.; Xu, B. Q.; Lindsay, S. M.; Tao, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 2135.
- (29) Li, C.; Pobelov, I.; Wandlowski, T.; Bagrets, A.; Arnold, A.; Evers, F. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 318.
- (30) Haiss, W.; Martin, S.; Leary, E.; van Zalinge, H.; Higgins, S. J.; Bouffier, L.; Nichols, R. J. *J. Phys. Chem. C* 2009, 113, 5823.
- (31) Moore, A. M.; Mantooth, B. A.; Donhauser, Z. J.; Yao, Y. X.; Tour, J. M.; Weiss, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129, 10352.
- (32) Cygan, M. T.; Dunbar, T. D.; Arnold, J. J.; Bumm, L. A.; Shedlock, N. F.; Burgin, T. P.; Jones, L.; Allara, D. L.; Tour, J. M.; Weiss, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 2721.
- (33) Bumm, L. A.; Arnold, J. J.; Cygan, M. T.; Dunbar, T. D.; Burgin, T. P.; Jones, L.; Allara, D. L.; Tour, J. M.; Weiss, P. S. *Science* 1996, 271, 1705.
- (34) Tian, J. H.; Yang, Y.; Zhou, X. S.; Schollhorn, B.; Maisonhaute, E.; Chen, Z. B.; Yang, F. Z.; Chen, Y.; Amatore, C.; Mao, B. W.; Tian, Z. Q. *ChemPhysChem* 2010, 11, 2745.
- (35) Martin, S.; Grace, I.; Bryce, M. R.; Wang, C. S.; Jitchati, R.; Batsanov, A. S.; Higgins, S. J.; Lambert, C. J.; Nichols, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 9157.
- (36) Schneebeli, S. T.; Kamenetska, M.; Cheng, Z.; Skouta, R.; Friesner, R. A.; Venkataraman, L.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 2136.
- (37) Amatore, C.; Maisonhaute, E.; Schollhorn, B.; Wadhawan, J. *ChemPhysChem* 2007, 8, 1321.
- (38) Hapiot, P. F.; Kispert, L. D.; Kononov, V. V.; Saveant, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 6669.
- (39) Schmickler, W.; Tao, N. J. *Electrochim. Acta* 1997, 42, 2809.
- (40) Haiss, W.; Albrecht, T.; van Zalinge, H.; Higgins, S. J.; Bethell, D.; Hobenreich, H.; Schiffrin, D. J.; Nichols, R. J.; Kuznetsov, A. M.; Zhang, J.; Chi, Q.; Ulstrup, J. *J. Phys. Chem. B* 2007, 111, 6703.
- (41) Albrecht, T.; Moth-Poulsen, K.; Christensen, J. B.; Guckian, A.; Bjornholm, T.; Vos, J. G.; Ulstrup, J. *Faraday Discuss.* 2006, 131, 265.
- (42) Albrecht, T.; Guckian, A.; Kuznetsov, A. M.; Vos, J. G.; Ulstrup, J. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 17132.

- (43) Leary, E.; Higgins, S. J.; van Zalinge, H.; Haiss, W.; Nichols, R. J.; Nygaard, S.; Jeppesen, J. O.; Ulstrup, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12204.
- (44) Tao, N. J.; Cardenas, G.; Cunha, F.; Shi, Z. *Langmuir* **1995**, *11*, 4445.
- (45) Ricci, A. M.; Calvo, E. J.; Martin, S.; Nichols, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2494.
- (46) Pobelov, I. V.; Li, Z. H.; Wandlowski, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16045.
- (47) Chi, Q. J.; Farver, O.; Ulstrup, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 16203.
- (48) Li, X. L.; Hihath, J.; Chen, F.; Masuda, T.; Zang, L.; Tao, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11535.
- (49) Li, C.; Mishchenko, A.; Li, Z.; Pobelov, I.; Wandlowski, T.; Li, X. Q.; Wurthner, F.; Bagrets, A.; Evers, F. *J. Phys.: Condens. Matter* **2008**, *20*, 374122.
- (50) Potential dependence of electroinactive molecules is usually negligible, though a slight effect was observed for 4,4'-bipyridine.⁵¹
- (51) Li, X. L.; Xu, B. Q.; Xiao, X. Y.; Yang, X. M.; Zang, L.; Tao, N. J. *Faraday Discuss.* **2006**, *131*, 111.
- (52) Royea, W. J.; Fajardo, A. M.; Lewis, N. S. *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 11152.
- (53) In the present experimental situation the bridge size is thus double that in the Lewis theoretical formulation.
- (54) Nielson, R. M.; McManis, G. E.; Safford, L. K.; Weaver, M. J. *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 2152.
- (55) Nelsen, S. F.; Ramm, M. T.; Ismagilov, R. F.; Nagy, M. A.; Trieber, D. A.; Powell, D. R.; Chen, X.; Gengler, J. J.; Qu, Q. L.; Brandt, J. L.; Pladziewicz, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5900.
- (56) Nelsen, S. F.; Ismagilov, R. F.; Gentile, K. E.; Nagy, M. A.; Tran, H. Q.; Qu, Q. L.; Halfen, D. T.; Odegard, A. L.; Pladziewicz, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8230.
- (57) Basch, H.; Cohen, R.; Ratner, M. A. *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1668.
- (58) Vonlanthen, D.; Mishchenko, A.; Elbing, M.; Neuburger, M.; Wandlowski, T.; Mayor, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 8886.
- (59) Mishchenko, A.; Vonlanthen, D.; Meded, V.; Burkle, M.; Li, C.; Pobelov, I. V.; Bagrets, A.; Viljas, J. K.; Pauly, F.; Evers, F.; Mayor, M.; Wandlowski, T. *Nano Lett.* **2010**, *10*, 156.
- (60) Park, Y. S.; Widawsky, J. R.; Kamenetska, M.; Steigerwald, M. L.; Hybertsen, M. S.; Nuckolls, C.; Venkataraman, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10820.
- (61) Taniguchi, M.; Tsutsui, M.; Shoji, K.; Fujiwara, H.; Kawai, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14146.
- (62) Haiss, W.; van Zalinge, H.; Bethell, D.; Ulstrup, J.; Schiffrin, D. J.; Nichols, R. J. *Faraday Discuss.* **2006**, *131*, 253.
- (63) Huang, Z. F.; Xu, B. Q.; Chen, Y. C.; Di Ventra, M.; Tao, N. J. *Nano Lett.* **2006**, *6*, 1240.
- (64) Kihira, Y.; Shimada, T.; Matsuo, Y.; Nakamura, E.; Hasegawa, T. *Nano Lett.* **2009**, *9*, 1442.
- (65) Kamenetska, M.; Quek, S. Y.; Whalley, A. C.; Steigerwald, M. L.; Choi, H. J.; Louie, S. G.; Nuckolls, C.; Hybertsen, M. S.; Neaton, J. B.; Venkataraman, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6817.

Annexe 2 : Partie expérimentale

I) Généralités

1) Synthèse

Les réactifs et solvants ont été achetés à Sigma Aldrich (France) ou Alfa Aesar (France). Les réactifs ont été utilisés directement. Les solvants ont été utilisés directement, sauf mention contraire. Lorsqu'indiqué, les solvants ont été séchés par passage sur colonne d'alumine.

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AC-250 dans les solvants indiqués à 298 K. Les spectres de masse ont été obtenus en utilisant un spectromètre Jeol JMS-700. Les analyses élémentaires ont été réalisées au Service de Microanalyses de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN, Gif sur Yvette, France).

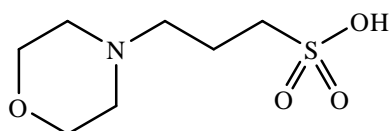
2) Etudes

L'acétonitrile utilisé comme solvant pour quelques-unes des études est préalablement distillé sur chlorure de calcium sous atmosphère d'argon. L'eau utilisée pour les études est de qualité milli-Q.

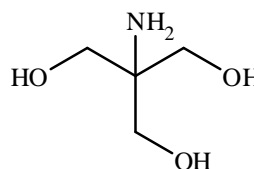
Les spectres UV-visible ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Lambda 45-Perkin Elmer commandé par ordinateur.

Pour les études électrochimiques, une cellule ordinaire, à un compartiment et trois électrodes, a été utilisée avec un potentiostat AUTOLAB PGSTAT 30 commandé par ordinateur. Un fil de platine et une électrode au calomel saturé (ECS) ont été utilisés comme contre-électrode (CE) et électrode de référence (Ref) respectivement. L'électrode de référence est séparée de la cellule électrochimique par une garde munie d'un fritté et remplie de l'électrolyte support. L'électrode de travail est selon les manipulations un disque d'or, un disque de carbone vitreux (GC), une boule d'or ou une demi-boule d'or. Les électrodes-disques (or ou GC) sont polies sur alumine $0,3\ \mu\text{m}$ déposée sur tissu à polir humide avant chaque mesure pour les études en solution, ou avant incubation pour les études en phase adsorbée. Les électrodes-boules ou demi-boules (or) sont flammées au chalumeau à hydrogène avant chaque mesure pour les études en solution, ou avant incubation pour les études en phase adsorbée. Avant chaque expérience, l'électrolyte support est désoxygéné par bullage d'argon, et durant les mesures, un flux d'argon est maintenu dans la cellule, au-dessus de la solution. Les voltammogrammes ont été enregistrés à température ambiante (soit environ 20°C).

Les tampons de pH utilisés sont représentés ci-dessous.



MOPS
pKa = 7,20



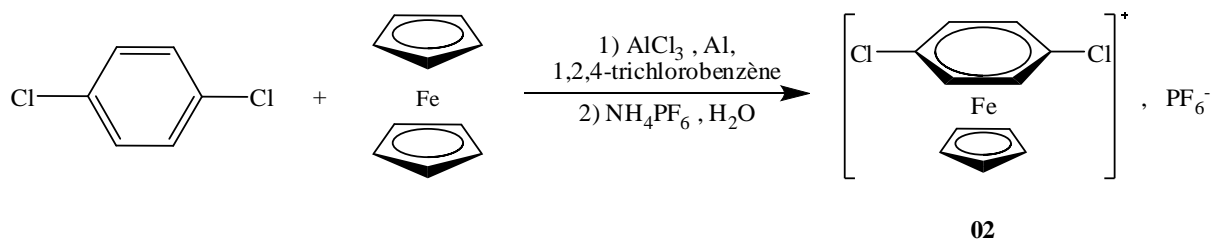
TRIS
pKa = 8,30

II) Synthèse

1) Préparation de dérivés de l'aza-éther-couronne N-15-C-5

a) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1,4\text{-dichlorobenzène})\text{fer(II)})$ **02**

Cette synthèse a été reproduite d'après Pearson *et al.*.⁹¹



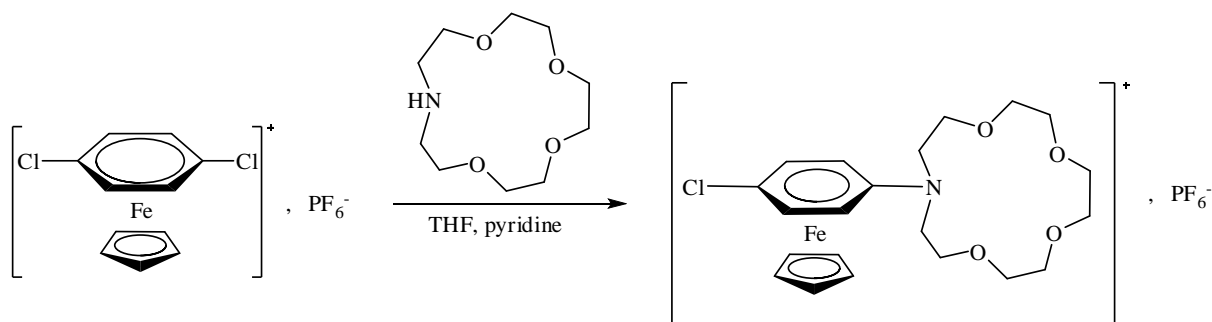
	$\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Fe}$	Al	AlCl_3	trichlorobenzène	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{FePF}_6$
M	147	186	27	133		385
n	60 mmol	15 mmol	75 mmol	60 mmol		
m	8,8 g	2,8 g	2,0 g	8,0 g	15+5 mL	
nb d'éq.	4	1	5	4		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. 2,8 g de ferrocène (15 mmol, 1 éq.) et 8,8 g de *para*-dichlorobenzène (60 mmol, 4 éq.) sont finement broyés et mélangés de manière homogène dans un becher de 250 mL. Trois réactifs sont alors ajoutés dans l'ordre suivant, en l'absence de toute trace d'humidité, chaque addition étant suivie d'une agitation vigoureuse durant le temps indiqué : a) 1,2,4-trichlorobenzène (15 mL, 15 min d'agitation) ; b) poudre d'aluminium (2,0 g, 75 mmol, 5 éq., 5 min d'agitation) ; c) chlorure d'aluminium (8,0 g, 60 mmol, 4 éq., 5 min d'agitation). Après irradiation du becher couvert par un système condenseur rempli de carboglace) dans un four micro-onde ordinaire à puissance moyenne (400 W) pendant 7 min (2 fois 3,5 min séparées par une période de refroidissement de 5 min) la solution vert foncé résultante est laissée à refroidir pendant 15 min. 40 g de glace pillée sont alors ajoutés lentement. Le fin résidu solide de la mixture verdâtre est éliminé par filtration par gravité. Le filtrat est alors lavé 3 fois par 20 mL de dichlorométhane. La phase aqueuse est de nouveau filtrée pour donner une solution verte limpide. Lors de l'addition d'une solution d'hexafluorophosphate d'ammonium saturée, un solide jaune pâle précipite. Le précipité est isolé par filtration sur fritté (porosité 3) et séché 24 h à l'étuve (environ 70°C) pour donner 1,57 g du produit **02** pur. (rendement = 25%)

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 7,03 (s, 4H, phényle) ; 5,49 (s, 5H, cyclopentadiényle).

b.) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-}(1\text{-aza-4,7,10,13\text{-tétraoxacyclopentadécyl)-4-chlorobenzène})\text{fer(II)})]$

Cette synthèse a été reproduite d'après Pearson *et al.*.⁹¹



02

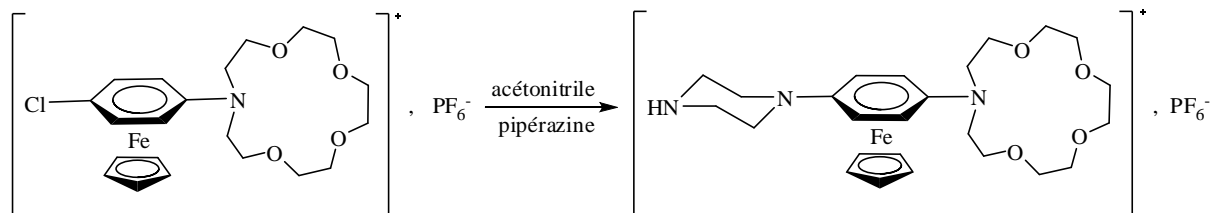
	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{FePF}_6$	$\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{NO}_4$		$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{ClFeNO}_4\text{PF}_6$
M	412,90	219	15 mL THF	595,72
n	1,93 mmol	3,11 mmol	+ 1 mL pyridine	
m	798 mg	680 mg		
nb d'éq.	1	1,6		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. Dans un ballon purgé à l'argon, 798 mg (1,93 mmol) de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1,4\text{-dichlorobenzène})\text{fer(II)})$ **02** et 680 mg (3,11 mmol) d'éther-couronne sont dissous dans 15 mL de THF anhydre, puis 1 mL de pyridine anhydre est ajouté. La solution est chauffée à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 24 h de chauffage la réaction est terminée. Le solvant est alors distillé sous courant d'argon et le solide résultant est utilisé sans purification pour la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-}(1\text{-aza-4,7,10,13\text{-tétraoxacyclopentadécyl)-4-pipérazin-N-ylbenzène})\text{fer(II)})]$.

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 6,51 (d, 2H, $J = 6,83$ Hz, phényle) ; 6,12 (d, 2H, $J = 6,83$ Hz, phényle) ; 5,15 (s, 5H, cyclopentadiényle).

c) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentdiényl})(\eta^6\text{-}(1\text{-}(1\text{-aza-4,7,10,13\text{-tétraoxacyclopentadécyl)-4-pipérazin-N-ylbenzène})\text{fer(II)]}$

Cette synthèse a été reproduite d'après Pearson *et al.*.⁹¹



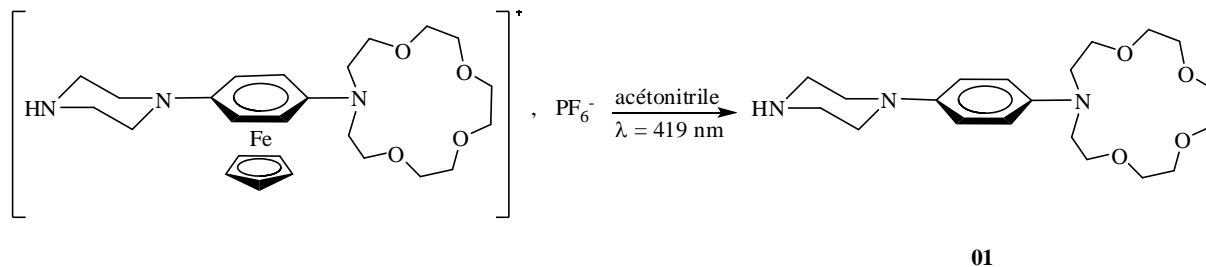
	$\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{ClFeNO}_4\text{PF}_6$	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_2$	acétonitrile	$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{FeN}_3\text{O}_4\text{PF}_6$
M	595,72	86,14	15 mL	645,40
n	(1,93 mmol)	8,28 mmol		
m	(1,150 g)	712 mg		
nb d'éq.	1	4,2		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. Au solide résultant de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentdiényl})(\eta^6\text{-}(1\text{-}(1\text{-aza-4,7,10,13\text{-tétraoxacyclopentadécyl)-4-chlorobenzène})\text{fer(II)]}$ sont ajoutés 712 mg (8,28 mmol) de pipérazine et 15 mL d'acétonitrile anhydre. La solution est chauffée à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 48 h de chauffage la réaction est terminée. La solution résultante est utilisée directement pour la synthèse du 13-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)-1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane **01**.

RMN ^1H (CD_3OCD_3 , 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 5,74 (s, 4H, phényle) ; 4,98 (s, 5H, cyclopentadiényle).

d) Synthèse du 13-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)-1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane **01**

Cette synthèse a été reproduite d'après Pearson *et al.*.⁹¹



M	$C_{25}H_{38}FeN_3O_4PF_6$	acétonitrile	$C_{20}H_{33}N_3O_4$
n	645,40	+ 50 mL	379,49
m	(1,93 mmol) (1,246 g)		

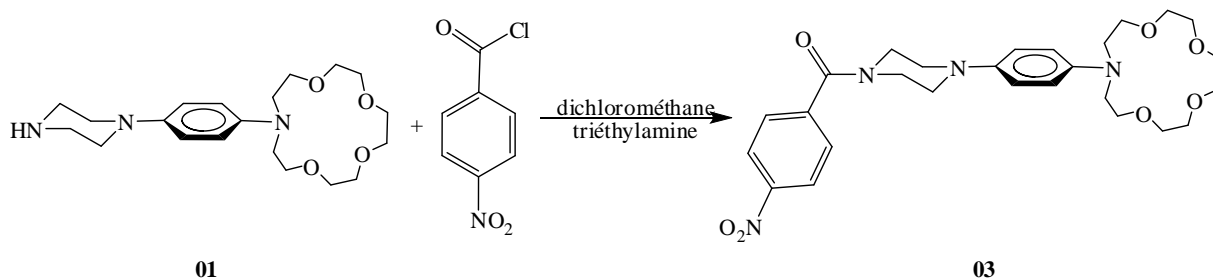
Au mélange réactionnel issu de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentdiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-}(1\text{-aza-4,7,10,13-tétraoxacyclopentadécyl)-4\text{-pipérazin-}N\text{-ylbenzène)})\text{ fer(II)}$] sont ajoutés 50 mL d'acétonitrile. La solution obtenue est irradiée 5 heures à $\lambda = 419\text{ nm}$. Le précipité obtenu est alors filtré et rincé avec de petites quantités d'acétonitrile, puis le filtrat est concentré sous vide pour donner une huile brune. Après purification de cette huile par chromatographie sur silice (dichlorométhane/méthanol/triéthylamine : 80/16/4) 657 mg d'un solide de couleur non-uniforme sont isolés. Ce solide est placé dans une petite quantité de méthanol. La suspension résultante est alors filtrée pour donner 401 mg d'un solide beige clair. (rendement des trois étapes = 55 %)

RMN 1H (CD_3CN , 250 MHz) : δ (ppm) 6,94 (d, 2H, $J=9,0\text{ Hz}$, aromatique) ; 6,74 (d, 2H, $J=9,0\text{ Hz}$, aromatique) ; 3,80-3,65 (m, 16H, CH_2) ; 3,39 (t, 4H, $J = 4,8\text{ Hz}$, $CH_2\text{-N}$) ; 3,09 (t, 4H, $J = 4,5\text{ Hz}$, pipérazinyl- CH_2) ; 2,77 (t, 4H, $J = 4,5\text{ Hz}$, pipérazinyl- CH_2).

IR (ATR) : ν (cm^{-1}) 3060 w (ν_{N-H}) ; 2980 w (ν_{C-H}) ; 2960 w (ν_{C-H}) ; 2900 w (ν_{C-H}) ; 2865 w (ν_{C-H}) ; 2360 m ; 2325 w ; 1608 w ; 1516 m ($\nu_{C\text{aromatique}}$) ; 1456 w ; 1244 m ; 1129 m ; 1099 m ; 1067 m ; 1034 m ; 925 m ; 835 s.

e) Synthèse de la (4-(4-(1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane-13-yl)phényl)pipérazin-1-yl)(4-nitrophényl)méthanone **03**

Cette synthèse a été reproduite d'après Amatore *et al.*.⁹²



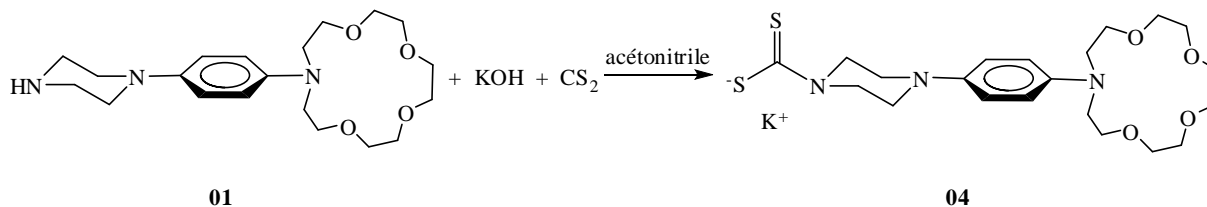
	$C_{18}H_{33}N_3O_4$	$C_7H_4ClNO_3$	$C_6H_{15}N$	CH_2Cl_2	$C_{27}H_{36}N_4O_7$
M	379,49	185,56	101,19		528,60
n	0,47 mmol	0,52 mmol	0,70 mmol		
m	178 mg	96 mg	71 mg		
d			0,726		
V			98 μ L	5 mL	
nb. d'éq.	1	1,1	1,5		

Une solution de 13-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)-1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane **01** (178 mg, 0,47 mmol, 1 éq.) et de triéthylamine (98 μ L, 0,70 mmol, 1,5 éq.) dans 5 mL de dichlorométhane anhydre est saturée en argon et refroidie à 0°C. Après addition de 96 mg de chlorure de 4-nitrobenzoyle (0,52 mmol, 1,1 éq.), le mélange réactionnel est agité 15 min à 0°C, puis est ramené à température ambiante. 5 mL de dichlorométhane et 1 mL d'eau distillée sont alors ajoutés et le mélange biphasique résultant est agité 45 min. La phase organique est alors isolée, séchée et concentrée sous vide pour donner une huile marron. Après purification par chromatographie sur silice (dichlorométhane/méthanol : 9/1, révélation UV/ninhydrine) 161 mg d'un produit marron sont isolés. Ce produit est redissous dans 20 mL de dichlorométhane : la solution obtenue est lavée une fois avec une solution aqueuse de carbonate de sodium à 10 % puis 4 fois avec de l'eau. Après concentration sous vide de la phase organique, 121,5 mg du produit désiré **03** sont isolés sous forme d'un solide jaune-brun. (rendement = 49 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 8,30 (d, 2H, J = 8,6 Hz, nitrophényle) ; 7,61 (d, 2H, J = 8,6 Hz, nitrophényle) ; 6,87 (d, 2H, J = 9,0 Hz, phénylènediamine) ; 6,62 (d, 2H, J = 9,0 Hz, phénylènediamine) ; 3,95 (m, 2H, CH_2) ; 3,74 (m, 4H, CH_2) ; 3,65 (m, 12H, CH_2) ; 3,55 (m, 6H, CH_2) ; 3,11 (m, 2H, CH_2) ; 2,97 (m, 2H, CH_2).

f) Synthèse du 4-(4-(1,4,7,10-tetraoxa-13-azacyclopentadecan-13-yl)phényl)piperazine-1-carbodithioate de potassium **04**

Cette synthèse a été adaptée d'après Zagidullin *et al.*.⁹⁴



	$C_{18}H_{33}N_3O_4$	KOH	CS_2	acétonitrile	$C_{19}H_{32}N_3O_4S_2K$
M	379,49	56,11	76,15		493,72
n	0,132 mmol	0,158 mmol	0,158 mmol		
m	50 mg	9 mg	12 mg		
d			1,2620		
V			9,5 μ L	10 mL	
éq	1	2	2		

50 mg (0,132 mmol, 1 éq.) de 13-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)-1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane **01** sont mis en solution dans 10 mL d'acétonitrile. 9 mg de potasse puis 9,5 μ L de disulfure de carbone sont alors ajoutés. La solution résultante est agitée 1 h 15 min à température ambiante. Il y a apparition d'un solide blanc. La solution est filtrée puis concentrée sous vide pour donner 46 mg d'un solide blanc composé du produit souhaité **04** et de l'excès de potasse.

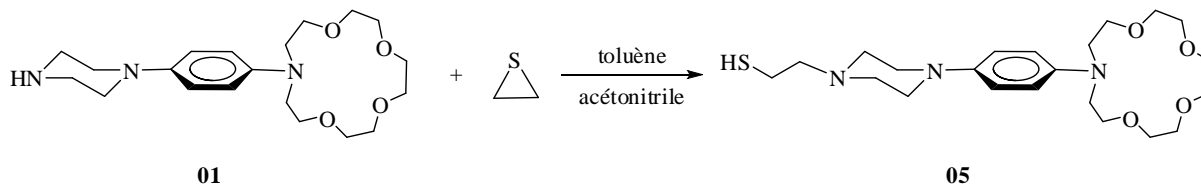
RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 6,88 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, aromatique) ; 6,64 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, aromatique) ; 3,77-3,61 (m, 18H, CH_2) ; 3,52 (t, 4H, $J = 5,9$ Hz, CH_2-N) ; 3,14-3,00 (m, 6H, CH_2).

RMN ^{13}C ($DMSO-d_6$, 62 MHz) : δ (ppm) 206,32 (CS_2) ; 141,76 ($C_{ar}-N$) ; 141,29 ($C_{ar}-N$) ; 118,33 ($C_{ar}-H$) ; 111,92 ($C_{ar}-H$) ; 70,22 (CH_2-O) ; 69,33 (CH_2-O) ; 69,01 (CH_2-O) ; 68,08 (CH_2-O) ; 51,86 (CH_2-N) ; 50,33 (CH_2-N) ; 48,95 (CH_2-N).

IR (ATR) : ν (cm^{-1}) 2862 m (ν_{C-H}) ; 1516 s ($\nu_{CCaromatique}$) ; 1455 w ; 1347 w ; 1266 w ; 1211 m ; 1117 m ; 1003 w ; 981 w ; 918 w ; 809 m.

g) Synthèse du 2-(4-(4-(1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécan-13-yl)phényl)pipérazin-1-yl)éthanethiol **05**

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson et al.⁹⁵



M	$C_{20}H_{33}N_3O_4$ 379,49	C_2H_4S 60,12		$C_{22}H_{37}N_3O_4S$ 439,61
n	0,132 mmol	0,527 mmol	5 mL toluène +	
m	50 mg	31,7 mg	2 mL acétonitrile	
d		1,01		
V		31,4 μ L		
nb. d'éq.	1	4		

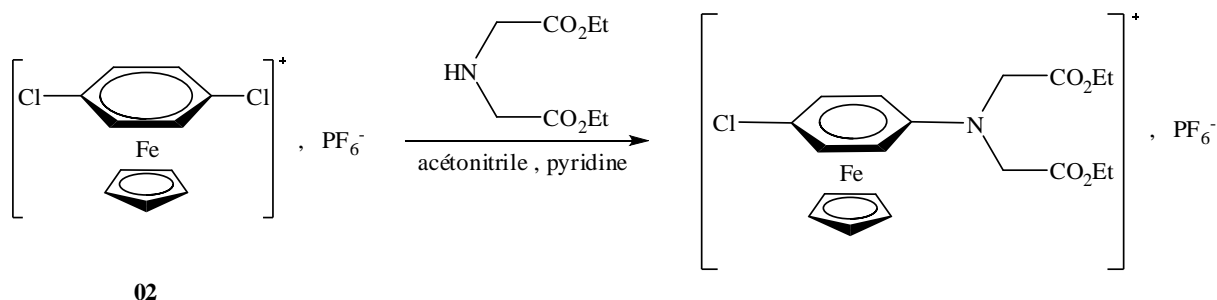
50 mg (0,132 mmol, 1 éq.) de 13-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)-1,4,7,10-tétraoxa-13-azacyclopentadécane **01** sont mis en solution dans 5 mL de toluène et 2 mL d'acétonitrile sous argon. La solution résultante est chauffée à environ 45°C. 31,4 μ L (31,7 mg, 0,527 mmol, 4 éq.) de thiirane dans 1 mL de toluène sont alors ajoutés lentement, puis la solution est chauffée une nuit à 45°C sous argon. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide. Quelques millilitres de toluène sont ajoutés au solide obtenu. La suspension résultante est filtrée sous vide pour donner 35,6 mg d'un solide blanc. (rendement = 61 %)

RMN 1H (CD_3CN , 250 MHz) : δ (ppm) 6,90 (d, 2H, $J=8,9$ Hz, aromatique) ; 6,77 (d, 2H, $J=8,9$ Hz, aromatique) ; 3,72-3,64 (m, 16H, CH_2) ; 3,40 (t, 4H, $J = 4,8$ Hz, CH_2-N) ; 3,09 (t, 4H, $J = 4,8$ Hz, pipérazinyl- CH_2) ; 2,81 (m, 4H, pipérazinyl- CH_2) ; 2,09 ($s_{\text{élargi}}$, 4H, éthanethiol).

2) Préparation de dérivés de l'IDA

a) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-diéthoxycarbonyldiéthylamine})\text{-4-chlorobenzène})\text{fer(II)}$

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



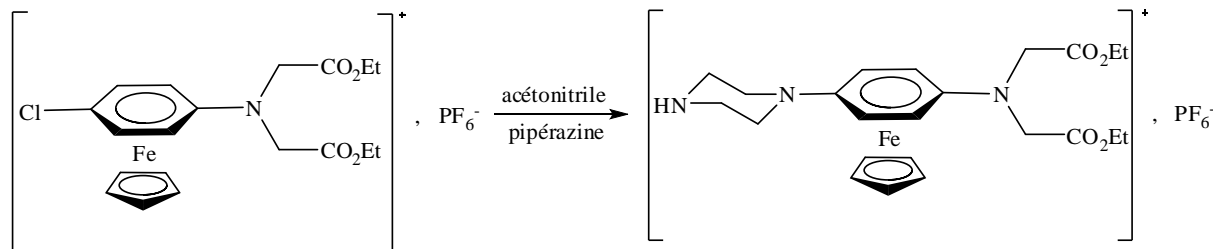
	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{FePF}_6$	$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_4$		$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClFeNO}_4\text{PF}_6$
M	412,90	189,21	15 mL acétonitrile	565,65
n	1,82 mmol	18,16 mmol	+ 1 mL pyridine	
m	750 mg	3,437 g		
d		1,056		
V		3,25 mL		
nb d'éq.	1	10		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. Dans un ballon purgé à l'argon, 750 mg (1,82 mmol) de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1,4\text{-dichlorobenzène})\text{fer(II)})$ **02** et 3,25 mL (18,16 mmol) d'iminodiacétate sont mis en solution dans 15 mL d'acétonitrile anhydre, puis 1 mL de pyridine anhydre est ajouté. La solution est chauffée à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 96 h de chauffage la réaction est terminée. Le milieu réactionnel résultant est utilisé sans purification pour la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-Cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-diéthoxycarbonyldiéthylamine})\text{-4-pipérazin-N-ylbenzène})\text{fer(II)}$.

RMN ^1H (CD_3CN , 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 6,34 (d, 2H, $J = 6,41$ Hz, phényle) ; 5,62 (d, 2H, $J = 6,41$ Hz, phényle) ; 5,00 (s, 5H, cyclopentadiényle).

b) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-Cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-}(\text{diéthoxycarbonyldiéthylamine})\text{-4-pipérazin-N-ylbenzène})\text{fer(II)})]$

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



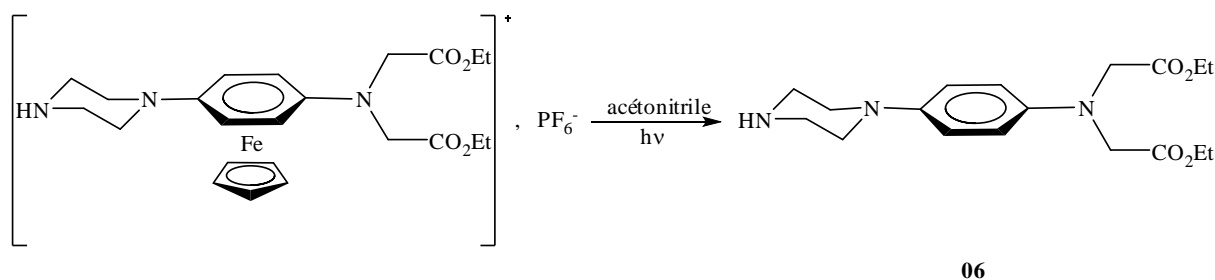
	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClFeNO}_4\text{PF}_6$	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_2$	acétonitrile	$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{FeN}_3\text{O}_4\text{PF}_6$
M	565,65	86,14	15 mL	615,33
n	(1,82 mmol)	9,10 mmol		
m	(1,029 g)	784 mg		
nb d'éq.	1	5		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. Au brut résultant de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-}(\text{diéthoxycarbonyldiéthylamine})\text{-4-chlorobenzène})\text{fer(II)})]$ sont ajoutés 784 mg (9,10 mmol) de pipérazine. La solution est chauffée à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 24 h de chauffage la réaction est terminée. La solution résultante est utilisée directement pour la synthèse du 2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phénylazanediyldiacétate de diéthyle.

RMN ^1H (CD_3CN , 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 5,53 (d, 2H, $J = 6,90$ Hz, phényle) ; 5,37 (d, 2H, $J = 6,90$ Hz, phényle) ; 4,87 (s, 5H, cyclopentadiényle).

c) Synthèse du 2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle **06**

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹

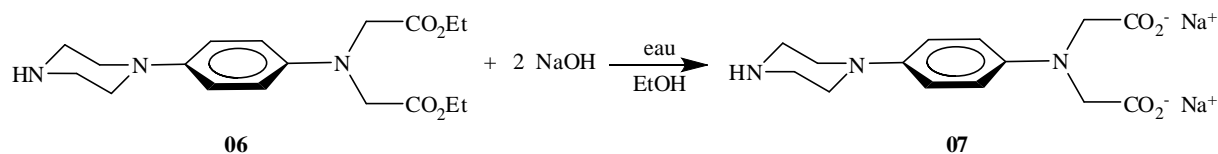


	$C_{23}H_{32}FeN_3O_4PF_6$	acétonitrile	$C_{18}H_{27}N_3O_4$
M	615,33		349,42
n	(1,82 mmol)	+ 50 mL	
m	(1,120 g)		

Au mélange réactionnel issu de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-diéthoxycarbonyldiéthylamine})\text{-4-pipérazin-}N\text{-ylbenzène})\text{fer(II)}$ sont ajoutés 50 mL d'acétonitrile. La solution obtenue est irradiée 5 heures à $\lambda = 419$ nm. Le précipité obtenu est alors filtré et rincé avec de petites quantités d'acétonitrile, puis le filtrat est concentré sous vide pour donner une huile brune. Après purification de cette huile par chromatographie sur silice (dichlorométhane/mélange méthanol-ammoniaque : 90/10 ; mélange méthanol/ammoniaque à 30% 70/30) 280 mg du produit souhaité **06** sont isolés sous forme d'une huile brune. (rendement des trois étapes = 44 %)

RMN 1H (CD_3CN , 250 MHz) : δ (ppm) 6,82 (d, 2H, $J=9,07$ Hz, aromatique) ; 6,53 (d, 2H, $J=9,07$ Hz, aromatique) ; 4,14 (q, 4H, $J = 7,11$ Hz, $CH_2\text{ester}$) ; 4,06 (s, 4H, $CH_2\text{-N}$) ; 2,89 ($s_{\text{élargi}}$, 8H, pipérazinyl- CH_2) ; 1,23 (t, 6H, $J = 7,11$ Hz, $CH_3\text{-ester}$).

RMN ^{13}C (CD_3CN , 62 MHz) : δ (ppm) 171,87 (COO) ; 145,65 ($C_{ar}\text{-N}$) ; 142,87 ($C_{ar}\text{-N}$) ; 118,74 ($C_{ar}\text{-H}$) ; 114,20 ($C_{ar}\text{-H}$) ; 61,50 (CH_2) ; 54,16 (CH_2) ; 52,47 (CH_2) ; 46,91 (CH_2) ; 14,50 (CH_3).

d.) Synthèse du 2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phénylazanediyldiacétate de sodium **07**

	$C_{18}H_{27}N_3O_4$	NaOH		$C_{14}H_{17}N_3Na_2O_4$
M	349,42	40,00	éthanol 5 mL	337,28
n	0,401 mmol	0,923 mmol	+ eau 10 mL	
m	140 mg	36,9 mg		
nb. d'éq.	1	2,3		

Une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium est préparée par dissolution de 369 mg d'hydroxyde de sodium dans 100 mL d'eau.

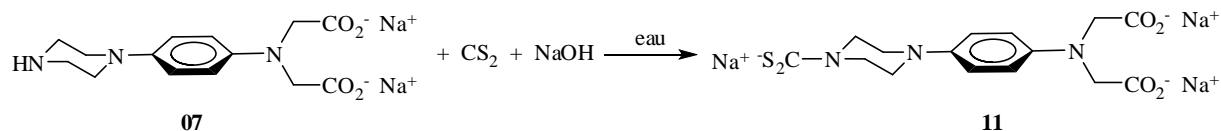
140 mg (0,401 mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **06** dissous dans 5 mL d'éthanol et 10 mL de la solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (36,9 mg, 0,923 mmol, 2,3 éq.) sont mélangés et chauffés à reflux sous agitation pendant 2 heures. L'avancée de la réaction est suivie par CCM (dichlorométhane/mélange méthanol-ammoniaque : 90/10 ; mélange méthanol/ammoniaque à 30% 70/30). La réaction est terminée après 2 heures de chauffage à reflux. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide pour donner 133 mg du produit désiré **07** sous forme d'un solide jaune orangé. (rendement = 99 %)

RMN 1H (D_2O , 250 MHz) : δ (ppm) 6,99 (d, 2H, $J=8,94$ Hz, aromatique) ; 6,49 (d, 2H, $J=8,94$ Hz, aromatique) ; 3,84 (s, 4H, CH_2-N) ; 2,92 ($s_{\text{élargi}}$, 8H, pipérazinyl- CH_2).

RMN ^{13}C (D_2O , 62 MHz) : δ (ppm) 180,02 (COO) ; 146,59 (C_{ar-N}) ; 143,12 (C_{ar-N}) ; 120,61 (C_{ar-H}) ; 113,92 (C_{ar-H}) ; 57,98 (CH_2) ; 53,67 (CH_2) ; 46,10 (CH_2).

e) Synthèse du 2,2'-(4-(4-dithiocarboxylatopipérazin-1-yl)phényl)azanediyldiacétate de sodium **11**

Cette synthèse a été adaptée d'après Zagidullin *et al.*.⁹⁴



	$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{Na}_2\text{O}_4$	NaOH	CS_2	eau	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{Na}_3\text{O}_4\text{S}_2$
M	337,29	40,00	76,15		493,72
n	0,148 mmol	0,148 mmol	0,296 mmol		
m	50 mg	5,93 mg	22 mg	3,6 mL	
d			1,2620		
C		3,69 g.L ⁻¹			
V		1,6 mL	17,8 μL		
éq	1	1	2		

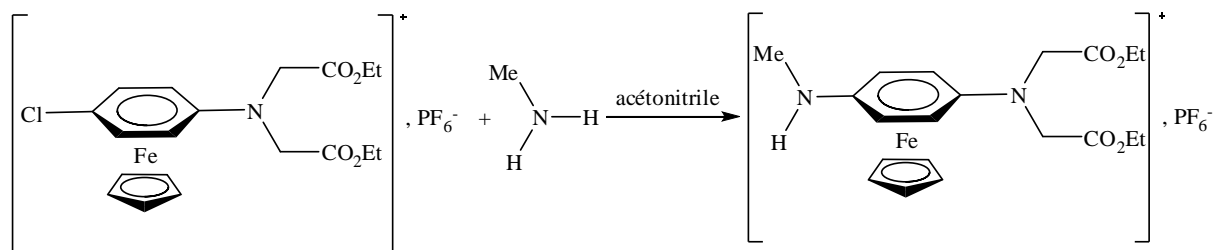
50 mg (0,148 mmol) de 2,2'-(4-(pipérazin-1-yl)phényl)azanediyldiacétate de sodium **07** sont mis en solution dans 2 mL d'eau et 1,6 mL de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 3,69 g.L⁻¹. 17,8 μL de disulfure de carbone sont alors ajoutés. La solution résultante est agitée 2 h 30 min à température ambiante. La solution est alors concentrée sous vide pour donner un solide blanc composé du produit souhaité **11** et de l'excès de soude.

RMN ¹H (D₂O, 250 MHz) : δ (ppm) 7,00 (d, 2H, J=8,66 Hz, aromatique) ; 6,49 (d, 2H, J=8,66 Hz, aromatique) ; 4,44 (s_{élargi}, 4H, pipérazinyl-CH₂) ; 3,82 (s, 4H, CH₂-N) ; 3,03 (s_{élargi}, 4H, pipérazinyl-CH₂).

RMN ¹³C (D₂O, 62 MHz) : δ (ppm) 209,82 (CS₂) ; 180,31 (COO) ; 148,93 (C_{ar}-N) ; 145,59 (C_{ar}-N) ; 120,69 (C_{ar}-H) ; 112,93 (C_{ar}-H) ; 56,61 (CH₂) ; 51,79 (CH₂) ; 51,19 (CH₂).

f) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-Cyclopentadiényl}(\eta^6\text{-(1-(diéthoxycarbonyldiéthylamine)-4-méthylaminylbenzène)fer(II))]$

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



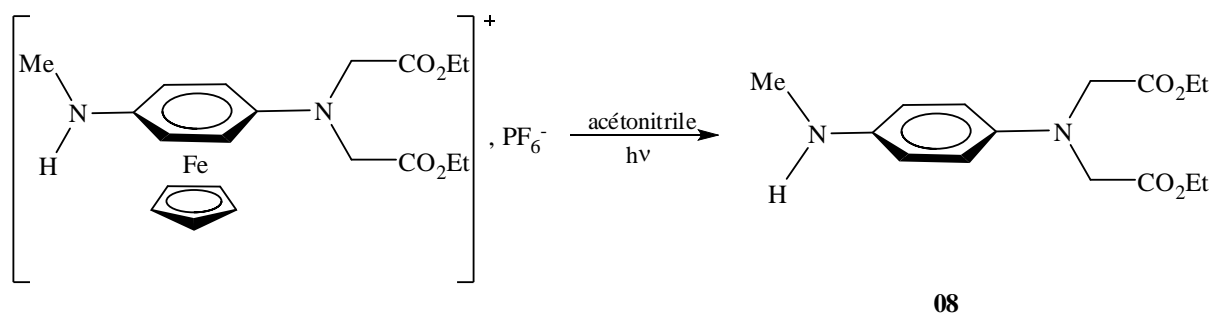
	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClFeNO}_4\text{PF}_6$	H_3CNH_2	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{FeN}_2\text{O}_4\text{PF}_6$
M	565,65	31,06	560,25
n	(1,83 mmol)	9,15 mmol	
m	(1,037 g)	284 mg	
C		2 mol.L ⁻¹ dans THF	
V		4,58 mL	
nb d'éq.	1	5	

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. A température ambiante, 4,58 mL de solution de méthylamine à 2 mol.L⁻¹ dans le THF sont ajoutés au brut résultant de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}(\eta^6\text{-(1-(diéthoxycarbonyldiéthylamine)-4-chlorobenzène)fer(II))]$. La solution est chauffée à 45 °C. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 24 h de chauffage la réaction est terminée. La solution résultante est utilisée directement pour la synthèse du 2,2'-(4-(méthylamino)phénylzanediyl)diacétate de diéthyle **08**.

RMN ¹H (CD₃CN, 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 5,42 (d, 2H, J = 6,5 Hz, phényle) ; 5,34 (d, 2H, J = 6,5 Hz, phényle) ; 4,78 (s, 5H, cyclopentadiényle).

g.) Synthèse du 2,2'-(4-(méthylamino)phénylazanediyloxy)diacétate de diéthyle **08**

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



M	$C_{20}H_{24}FeN_2O_4PF_6$	acétonitrile	$C_{15}H_{22}N_2O_4$
n	560,25	+ 50 mL	349,42
m	(1,83 mmol)		
	(1,025 g)		

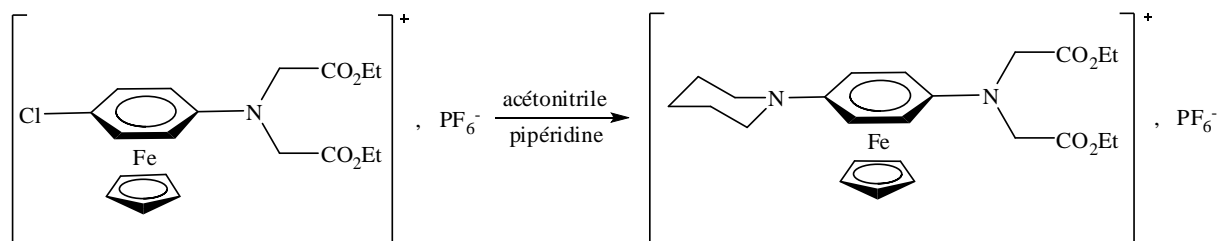
Au mélange réactionnel issu de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-diéthoxycarbonyldiéthylamine})\text{-4-méthylaminylbenzène})\text{fer(II)}$ sont ajoutés 50 mL d'acétonitrile. La solution obtenue est irradiée 5 heures à $\lambda = 419$ nm. Le précipité obtenu est alors filtré et rincé avec de petites quantités d'acétonitrile, puis le filtrat est concentré sous vide pour donner une huile brune. Après purification de cette huile par chromatographie sur silice (dichlorométhane/mélange méthanol-ammoniaque : 96/4 ; mélange méthanol/ammoniaque à 30% 70/30) 156 mg du produit souhaité **08** sont isolés sous forme d'une huile brune. (rendement des trois étapes = 29 %)

RMN 1H (CD_3CN , 250 MHz) : δ (ppm) 6,56 (m, 4H, aromatique) ; 4,15 (q, 4H, $J = 7,1$ Hz, $CH_2\text{ester}$) ; 4,10 (s, 3H, $CH_3\text{-N}$) ; 2,73 et 2,71 ($s_{\text{superposés}}$, 4H, $CH_2\text{-N}$) ; 1,23 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz, $CH_3\text{-ester}$).

RMN ^{13}C (CD_3CN , 62 MHz) : δ (ppm) 171,25 (COO) ; 147,88 ($C_{ar}\text{-N}$) ; 129,65 (C_{ar}) ; 129,61 (C_{ar}) ; 114,55 (C_{ar}) ; 114,22 (C_{ar}) ; 61,75 (CH_2) ; 53,94 (CH_2) ; 30,65 ($CH_3\text{-N}$) ; 14,47 ($CH_3\text{ ester}$).

h) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-diéthoxycarbonyldiéthylamine)\text{-}4\text{-pipéridin-}N\text{-ylbenzène})\text{fer(II)}$

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



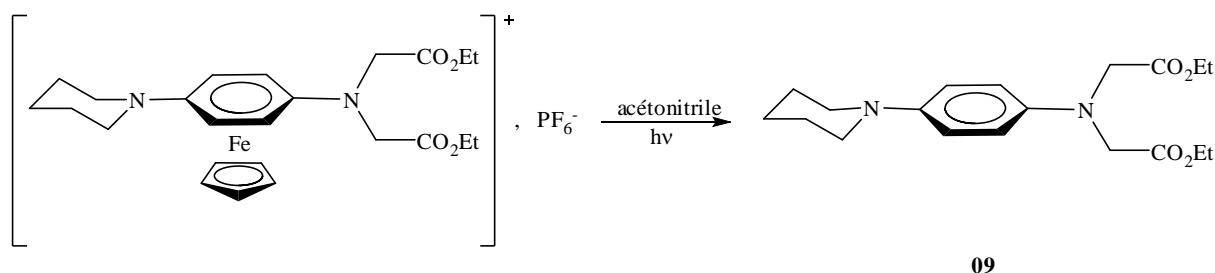
	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClFeNO}_4\text{PF}_6$	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}$	acétonitrile	$\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{FeN}_2\text{O}_4\text{PF}_6$
M	565,65	85,15		614,34
n	(1,05 mmol)	10,53 mmol		
m	(596 g)	897 mg		
d		0,861		
V		1,04 mL	15 mL	
nb d'éq.	1	10		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. Au brut résultant de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1\text{-diéthoxycarbonyldiéthylamine)\text{-}4\text{-chlorobenzène})\text{fer(II)}$ sont ajoutés 1,04 mL (897 mg, 10,53 mmol) de pipéridine. La solution est chauffée à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 24 h de chauffage la réaction est terminée. La solution résultante est utilisée directement pour la synthèse du 2,2'-(4-(pipéridin-1-yl)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle **09**.

RMN ^1H (CD_3COCD_3 , 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 8,59-8,55 (m, 2H, phényle) ; 7,38-7,30 (m, 2H, phényle) ; 5,02 (s, 5H, cyclopentadiényle).

i) Synthèse du 2,2'-(4-(pipéridin-1-yl)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **09**

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹

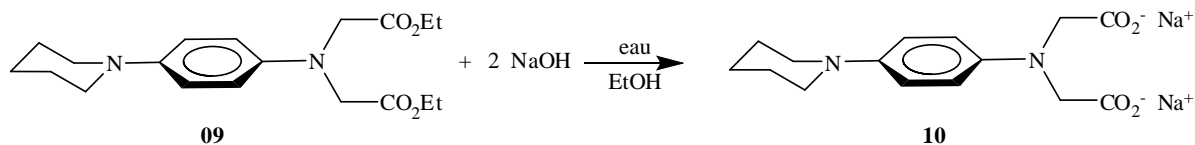


M	$C_{24}H_{33}FeN_2O_4PF_6$	acétonitrile	$C_{19}H_{28}N_2O_4$
n	614,34	+ 80 mL	348,43
m	(1,05 mmol) (647 mg)		

Au mélange réactionnel issu de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-1-(diéthoxycarbonyldiéthylamine)-4-pipéridin-N-ylbenzène})\text{fer(II)}$ sont ajoutés 80 mL d'acétonitrile. La solution obtenue est irradiée 6 heures à $\lambda = 419 \text{ nm}$, puis une nuit sous lumière blanche. La solution est alors concentrée sous vide pour donner un solide brun. Ce solide est repris dans un mélange dichlorométhane-eau. La phase organique est récupérée et concentrée sous vide. Après purification par chromatographie sur silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle/dichlorométhane/triéthylamine 63/25/10/2) 60 mg du produit souhaité **09** sont isolés sous forme d'une huile brune. (rendement des trois étapes = 16 %)

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 6,87 (d, 2H, $J = 8,9 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H}_{\text{aromatique}}$) ; 6,57 (d, 2H, $J = 8,9 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H}_{\text{aromatique}}$) ; 4,18 (q, 4H, $J = 7,2 \text{ Hz}$, $2 \times \text{CH}_2\text{-ester}$) ; 4,09 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$) ; 2,97 (t, 4H, $2 \times \text{CH}_2\text{-N}_{\text{pipéridine}}$) ; 1,76-1,62 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}_{\text{pipéridine}}$) ; 1,57-1,45 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-extrême}_{\text{pipéridine}}$) ; 1,25 (t, 6H, $J = 7,2 \text{ Hz}$, $2 \times \text{CH}_3\text{-ester}$).

j) Synthèse du 2,2'-(4-(pipéridin-1-yl)phénylazanediy)diacétate de sodium **10**



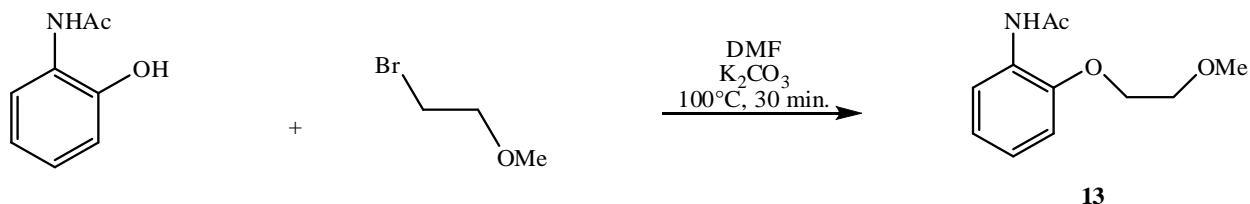
	$C_{19}H_{28}N_2O_4$	NaOH	éthanol	$C_{15}H_{18}N_2Na_2O_4$
M	348,43	40,00		336,29
n	$2,0 \cdot 10^{-2}$ mmol	$4,0 \cdot 10^{-2}$ mol		
m	7,0 mg	1,6 mg		
C		$3,20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$		
V		$503 \mu\text{L}$	1 mL	
nb. d'éq.	1	2		

7 mg ($4,0 \cdot 10^{-2}$ mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-(pipéridin-1-yl)phénylazanediy)diacétate de diéthyle **09** dissous dans 1 mL d'éthanol désoxygéné à l'argon, et 503 μL (1,6 mg, $4,0 \cdot 10^{-2}$ mmol, 2 éq.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à $3,20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sont mélangés et chauffés à reflux sous agitation et sous argon pendant 2 heures. L'avancée de la réaction est suivie par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 50/50). La réaction est terminée après 2 heures de chauffage à reflux. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide et le solide résultant est utilisé directement pour les études électrochimiques.

3) Préparation de dérivés de type « demi-BAPTA »

a) Synthèse du *N*-(2-(2-méthoxyéthoxy)phényl)acétamide **13**

Cette synthèse a été inspirée d'après Akkaya *et al.*,¹⁰² Tsien *et al.*¹⁰³ et Coudert *et al.*¹¹¹



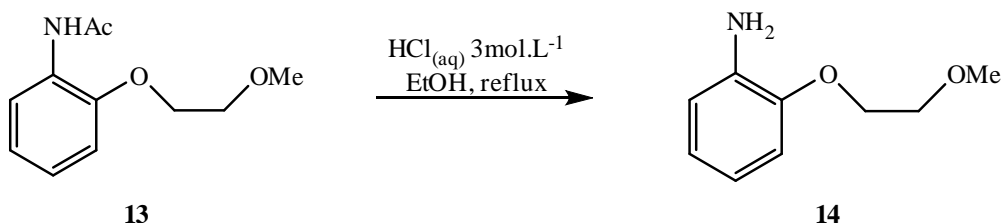
	C ₈ H ₉ NO ₂	C ₃ H ₇ OBr	K ₂ CO ₃	DMF	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃
M	151,16	138,99	138,21		209,24
n	1,323 mmol	6,616 mmol	2,646 mmol		
m	200 mg	919 mg	366 mg		
d		1,479			
V		621 μL		10 mL	
nb. d'éq.	1	5	2		

200 mg (1,323 mmol, 1 éq.) d'*ortho*-acétamidophénol sont mis en solution dans 10 mL de DMF préalablement séché sur alumine. La solution résultante est placée sous argon. 621 μL (6,616 mmol, 919 mg, 5 éq.) de 1-bromo-2-méthoxyéthane puis 366 mg (2,646 mmol, 2 éq.) de carbonate de potassium sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est alors agité 5 minutes sous flux d'argon, puis chauffé à 100°C sous argon pendant 2 heures. Après refroidissement, le DMF est distillé sous pression réduite. Le solide brun résultante est repris dans un mélange eau/dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane, puis les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. Le solide résultant est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 20/80) pour donner 222 mg du produit désiré **13**. (rendement = 80 %)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 8,40-8,35 (m, 1H, 1H_{aromatique}) ; 8,16 (s_{large}, 1H, NH) ; 7,03-6,99 (m, 2H, 2H_{aromatique}) ; 6,97-6,91 (m, 1H, 1H_{aromatique}) ; 4,16 (t, 2H, CH₂, J = 4,5 Hz) ; 3,72 (t, 2H, CH₂, J = 4,5 Hz) ; 3,46 (s, 3H, OCH₃) ; 2,19 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 62 mHz) : δ (ppm) 168,28 (CNO) ; 146,87 (C_{aromatique}) ; 129,55 (C_{aromatique}) ; 123,49 (C_{aromatique}) ; 122,60 (C_{aromatique}) ; 120,05 (C_{aromatique}) ; 114,38 (C_{aromatique}) ; 70,86 (CH₂) ; 69,86 (CH₂) ; 59,04 (OCH₃) ; 24,82 (CH₃).

MS (CI) : *m/z* 210 [M+H]⁺ ; 227 [M+NH₄]⁺ ; 419 [2M+H]⁺.

b.) Synthèse de la 2-(2-méthoxyéthoxy)aniline **14**

	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	$\text{HCl}_{(aq)}$	éthanol	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_2$
M	209,24			167,20
n	1,061 mmol			
m	222 mg			
C		3 mol.L ⁻¹		
V		10 mL	10 mL	

222 mg (1,061 mmol) de N-(2-(2-méthoxyéthoxy)phényl)acétamide **13** sont dissous dans 10 mL d'éthanol. 10 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 3 mol.L⁻¹ sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 4 heures. Après refroidissement, le milieu est porté à pH ≈ 9-10 par ajout de carbonate de potassium solide. L'éthanol est alors concentré sous vide. La phase aqueuse résultante est extraite trois fois au dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont alors séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide pour donner 130 mg du produit souhaité **14** sous forme d'une huile orange-brun. (rendement = 73 %)

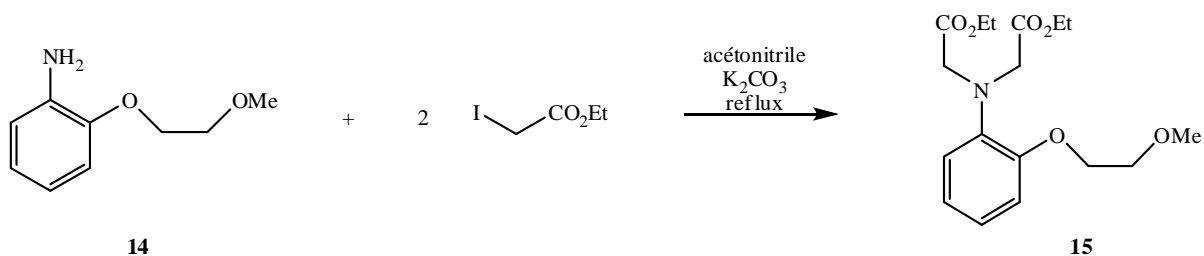
RMN 1H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 6,83-6,78 (m, 2H, 2Haromatique) ; 6,74-6,70 (m, 2H, 2Haromatique) ; 4,15 (t, 2H, CH₂, J = 4,75 Hz) ; 3,85 (slarge, 2H, NH₂) ; 3,76 (t, 2H, CH₂, J = 4,75 Hz) ; 3,45 (s, 3H, OCH₃).

RMN 13C (CDCl₃, 62 mHz) : δ (ppm) 146,36 (Caromatique) ; 136,71 (Caromatique) ; 121,73 (Caromatique) ; 118,41 (Caromatique) ; 115,34 (Caromatique) ; 112,74 (Caromatique) ; 71,30 (CH₂) ; 68,20 (CH₂) ; 59,05 (OCH₃).

MS (GCCl) : m/z 168 [M+H]⁺ ; 335 [2M+H]⁺.

c.) Synthèse du 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **15**

Cette synthèse a été adaptée d'après Akkaya *et al.*¹⁰² et Tsien *et al.*¹⁰³



	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_2$	$\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2\text{I}$	K_2CO_3	acétonitrile	$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_6$
M	167,20	214,00	138,21		339,38
n	0,299 mmol	1,794 mmol	1,794 mmol		
m	50 mg	384 mg	245 mg		
d		1,81			
V		212 μL		2 mL	
nb. d'éq	1	6	6		

50 mg (0,299 mmol, 1 éq.) de 2-(2-méthoxyéthoxy)aniline **14** sont mis en solution dans 2 mL d'acétonitrile sec et placés sous argon. 245 mg (1,794 mmol, 6 éq.) de carbonate de potassium sont alors ajoutés, puis 212 μL (384 mg, 1,794 mmol, 6 éq.) de iodoacétate d'éthyle. Le mélange est alors chauffé à reflux sous argon pendant 4 heures. Après refroidissement, la suspension résultante est filtrée sur fritté et le solide lavé à l'acétonitrile. Le filtrat est alors concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (chloroforme/acétate d'éthyle : 85/15), le produit souhaité **15** est isolé sous forme d'une huile jaune. (101 mg, rendement quantitatif)

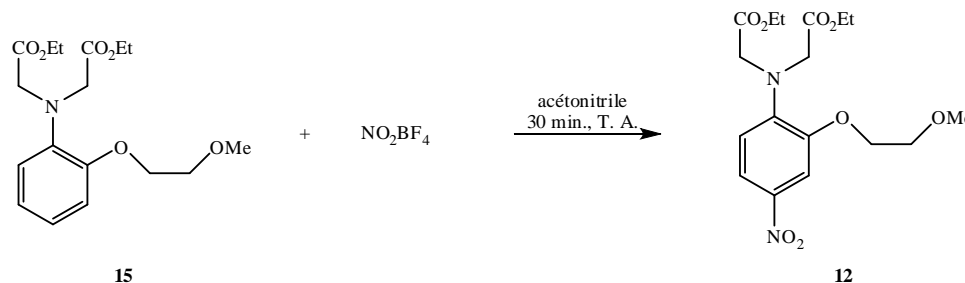
RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 6,90-6,82 (m, 4H, $4\text{H}_{\text{aromatique}}$) ; 4,25-4,10 (m, 10H, 5^*CH_2) ; 3,71 (t, 2H, CH_2 , $J = 5,0$ Hz) ; 3,41 (s, 3H, OCH_3) ; 1,26 (t, 6H, 2^*CH_3 , $J = 7,1$ Hz).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62 MHz) : δ (ppm) 171,41 (COO) ; 150,48 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 139,34 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 122,21 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 121,50 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 119,25 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 114,17 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 70,91 (CH_2) ; 67,94 (CH_2) ; 60,57 (CH_2) ; 58,91 (OCH_3) ; 53,54 (CH_2) ; 14,19 (CH_3).

MS (EI) : m/z 266 $[\text{M} - \text{CO}_2\text{Et}]^+$; 339 $[\text{M}]^+$.

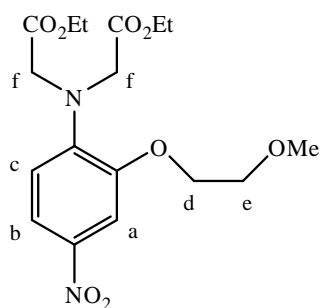
d) Synthèse du 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)-4-nitrophénylazanediyl)diacétate de diéthyle **12**

Cette synthèse a été adaptée d'après Stagliano *et al.*.¹⁰⁴



	$C_{17}H_{25}NO_6$	NO_2BF_4	acétonitrile	$C_{17}H_{24}N_2O_8$
M	339,38	132,82		384,38
n	0,147 mmol	0,203 mmol		
m	50 mg	27 mg		
C		0,15 mol.L ⁻¹		
V		1,177 mL	1 mL	
nb. d'éq	1	1,38		

50 mg (0,147 mmol, 1 éq.) de 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyl)diacétate de diéthyle **15** sont dissous dans 1 mL d'acétonitrile préalablement séché sur alumine et placés sous argon. 1,00 mL d'une solution 0,15 mol.L⁻¹ de tétrafluoroborate de nitronium (20 mg, 0,150 mmol, 1,02 éq.) dans l'acétonitrile est alors ajouté. La solution brun foncé résultante est agitée quelques minutes sous argon. L'avancée de la réaction est contrôlée par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). La réaction n'étant pas terminée, 177 μ L de la solution 0,15 mol.L⁻¹ de tétrafluoroborate de nitronium (7 mg, 0,053 mmol, 0,36 éq.) dans l'acétonitrile sont ajoutés et la solution noire résultante est agitée quelques minutes sous argon. La réaction est alors terminée. Le milieu est alors amenée à pH \approx 8 par ajout de solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Après ajout d'eau et de dichlorométhane, la phase aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de magnésium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 36 mg du produit souhaité **12** sont isolés sous forme d'un solide jaune. (rendement = 64%)



RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 7,80 (dd, 1H, H_(b), J₁ = 8,9 Hz, J₂ = 2,4 Hz) ; 7,70 (d, 1H, H_(a), J = 2,4 Hz) ; 6,65 (d, 1H, H_(c), J = 8,9 Hz) ; 4,29-4,21 (m, 8H, 2*CH_{2(f)} et 2*CH_{2(éthyle)}) ; 4,17 (t, 2H, CH_{2(d)}, J = 4,6 Hz) ; 3,70 (t, 2H, CH_{2(e)}, J = 4,6 Hz) ; 3,40 (s, 3H, OCH₃) ; 1,30 (t, 6H, 2*CH₃, J = 7,1 Hz).

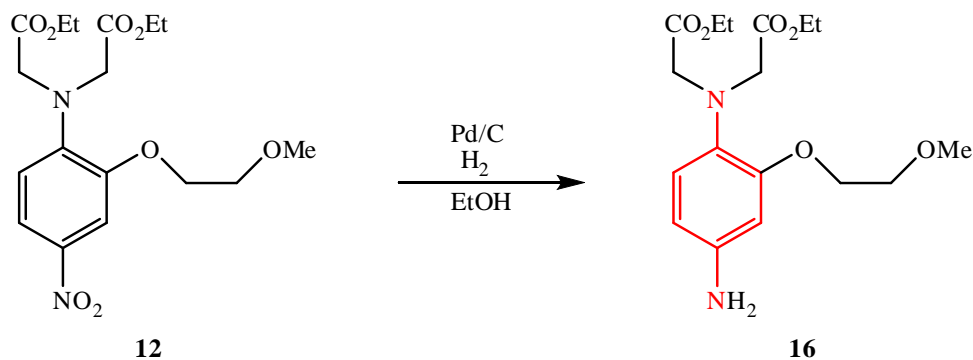
RMN ¹³C (CDCl₃, 62 MHz) : δ (ppm) 170,41 (COO) ; 148,62 (C_(o)) ; 145,26 (C_(N)) ; 140,85 (C_(nitro)) ; 118,28 (C_(b)) ; 115,81 (C_(c)) ; 108,64 (C_(a)) ; 70,33 (CH_{2(e)}) ; 68,44 (CH_{2(d)}) ; 61,18 (CH_{2(éthyle)}) ; 58,86 (OCH₃) ; 54,00 (CH_{2(f)}) ; 14,21 (CH₃).

MS (EI) : m/z 311 [M - CO₂Et]⁺ ; 384 [M]⁺.

Analyse élémentaire : calculé pour C₁₇H₂₄N₂O₈ : C 53,12 ; H 6,29 ; N 7,29 ; trouvé : C 52,49 ; H 6,06 ; N 7,22.

e) Synthèse du 2,2'-(4-amino-2-(2-méthoxyéthoxy)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle **16**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savéant *et al.*.¹¹²



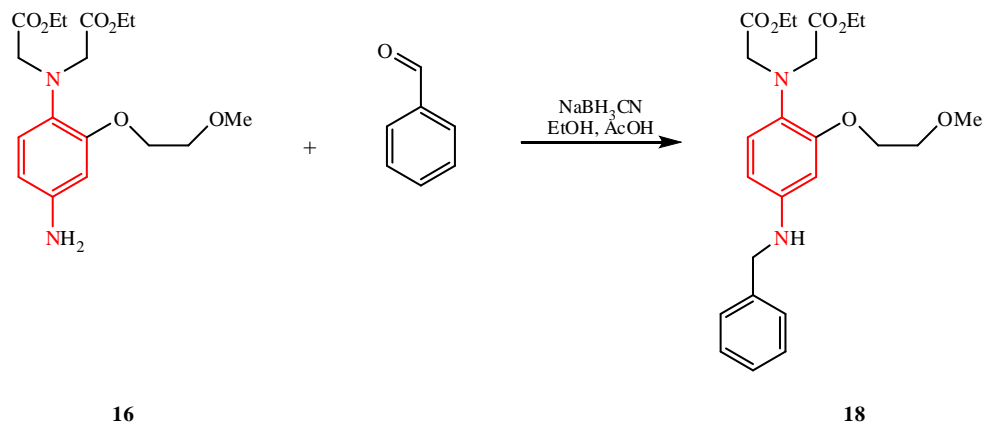
M	$C_{17}H_{24}N_2O_8$	éthanol	$C_{17}H_{26}N_2O_6$
n	384,38		354,40
m	0,130 mmol	5 mL	
	50 mg		

50 mg (0,130 mmol) de 2,2'-(2-(2-méthoxyéthoxy)-4-nitrophényl)azanediyldiacétate de diéthyle **12** sont mis en solution dans 5 mL d'éthanol absolu préalablement désoxygéné par bullage d'argon. Le milieu réactionnel est ensuite désoxygéné par bullage d'argon pendant 5 minutes, puis ultrasoniqué sous argon 5 minutes. Une pointe de spatule de palladium sur charbon est alors ajoutée. Le milieu réactionnel est de nouveau désoxygéné par bullage d'argon pendant 10 minutes, puis purgé au dihydrogène et agité sous atmosphère de dihydrogène. L'avancée de la réaction est contrôlée par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 50/50). Après 2 heures d'agitation sous atmosphère de dihydrogène, la réaction est terminée. Le milieu réactionnel est alors purgé à l'argon, puis filtré sur celite. Après rinçage abondant de la celite à l'éthanol, le filtrat est concentré sous vide pour donner le produit souhaité **16** sous forme d'une huile brun pâle avec un rendement quantitatif.

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 6,78 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 8,3$ Hz) ; 6,24 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 2,3$ Hz) ; 6,20 (dd, 1H, $H_{aromatique}$, $J_1 = 8,3$ Hz, $J_2 = 2,3$ Hz) ; 4,18-4,08 (m, 10H, $5 \cdot CH_2$) ; 3,70 (t, 2H, CH_2 , $J = 5,0$ Hz) ; 3,40 (s, 3H, OCH_3) ; 1,23 (t, 6H, $2 \cdot CH_3$, $J = 7,1$ Hz).

f) Synthèse du 2,2'-(4-(benzylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylzanediyl)diacétate de diéthyle **16**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savoia *et al.*,¹¹³ Gmeiner *et al.*,¹¹⁴ et Tourwé *et al.*¹¹⁵



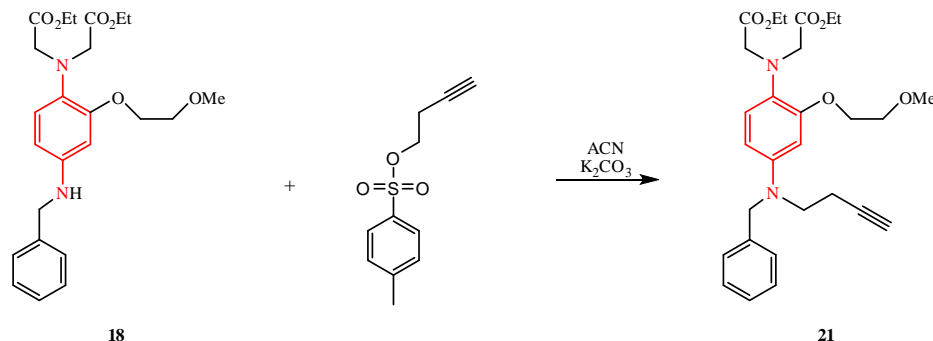
	$C_{17}H_{26}N_2O_6$	C_7H_6O	$NaBH_3CN$	$AcOH$	éthanol	$C_{31}H_{38}N_2O_6$
M	354,40	106,12	62,84	60,05		444,52
n	0,0065 mmol	0,130 mmol	0,260 mmol	0,585 mmol		
m	23 mg	13,8 mg	16,3 mg	35,1 mg		
d		1,045		1,049		
V		13,2 μ L		33,5 μ L	2 mL	
nb. d'éq.	1	2	4	9		

23 mg (0,0065 mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-amino-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylzanediyl)diacétate de diéthyle **16** sont dissous dans 2 mL d'éthanol absolu et placés sous argon. 13,2 μ L (13,8 mg, 0,130 mmol, 2 éq.) de benzaldéhyde puis 14,9 μ L (15,6 mg, 0,260 mmol, 4 éq.) d'acide éthanoïque sont ajoutés. La solution devient jaune vif. 16,3 mg (0,260 mmol, 4 éq.) de cyanoborohydrure de sodium puis 18,6 μ L (19,5 mg, 0,325 mmol, 5 éq.) d'acide éthanoïque sont alors ajoutés. La solution se décolore. Le milieu réactionnel est amenée à pH \approx 10 par ajout de solution aqueuse de carbonate de sodium. Après ajout d'eau et de dichlorométhane, la phase aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. Le résidu résultant est ensuite chauffé à 50°C sous pression réduite pendant 6 heures afin d'éliminer l'excès de benzaldéhyde. Le produit souhaité **18** est alors isolé sous forme d'une huile brune. (29 mg, rendement = 76 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 7,40-7,22 (m, 5H, 5* $H_{benzyle}$) ; 6,70 (d, 1H, $H_{aromatique}$, J = 8,4 Hz) ; 6,23 (d, 1H, $H_{aromatique}$, J = 2,5 Hz) ; 6,07 (dd, 1H, $H_{aromatique}$, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 4,71 (S_{large} , 1H, NH) ; 4,25 (s, 2H, CH_2) ; 4,11-3,94 (m, 10H, 5* CH_2) ; 3,62 (t, 2H, CH_2 , J = 4,6 Hz) ; 3,33 (s, 3H, OCH_3) ; 1,17 (t, 6H, 2* CH_3 , J = 7,1 Hz).

g) Synthèse du 2,2'-(4-(benzyl(but-3-ynyl)amino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **21**

Cette synthèse a été adaptée d'après Patel *et al.*.¹¹⁶



	$C_{23}H_{32}N_2O_6$	$C_{11}H_{12}O_3S$	K_2CO_3	acétonitrile	$C_{28}H_{36}N_2O_6$
M	444,52	224,28	138,21		496,59
n	$4,50 \cdot 10^{-2}$ mmol	1,800 mmol	0,450 mmol		
m	20 mg	404 mg	62 mg		
d		1,27			
V		318 μ L		2 mL	
nb. d'éq.	1	40	10		

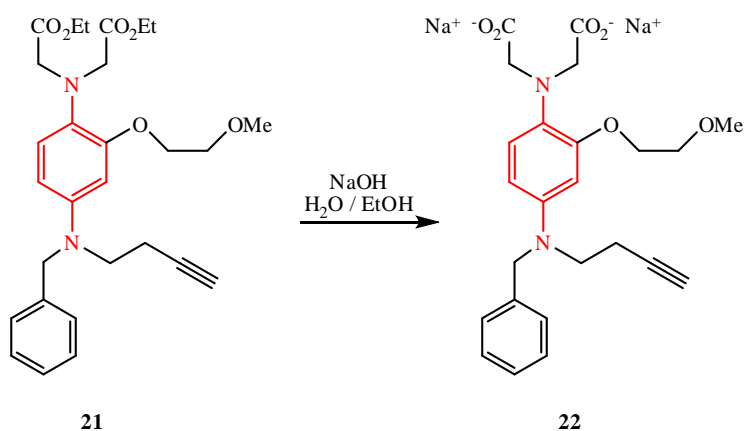
20 mg ($4,50 \cdot 10^{-2}$ mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-(benzylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **18** sont mis en solution dans 2 mL d'acétonitrile et placés sous argon. 62 mg (0,450 mmol, 10 éq.) de carbonate de potassium puis 318 μ L (404 mg, 1,800 mmol, 40 éq.) de *para*-toluènesulfonate de but-3-ynyle sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 5 nuits. Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur fritté, puis le filtrat est concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 13 mg du produit souhaité **21** sont isolés sous forme d'une huile jaune clair. (rendement = 59 %)

RMN 1H (CD_3CN , 250 MHz) : δ (ppm) 7,35-7,21 (m, 5H, 5* $H_{benzyle}$) ; 6,72 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 8,8$ Hz) ; 6,29 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 2,8$ Hz) ; 6,19 (dd, 1H, $H_{aromatique}$, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 2,8$ Hz) ; 4,52 (s, 2H, CH_2) ; 4,13-3,97 (m, 10H, 5* CH_2) ; 3,64-3,57 (m, 4H, 2* CH_2) ; 3,31 (s, 3H, OCH_3) ; 2,48 (dt, 4H, 2* CH_2 , $J_1 = 7,1$ Hz, $J_2 = 2,6$ Hz) ; 2,23 (t, 1H, H_{alcyne} , $J = 2,6$ Hz) ; 1,17 (t, 6H, 2* CH_3 , $J = 7,3$ Hz).

RMN ^{13}C (CD_3CN , 62 MHz) : δ (ppm) 171,66 (COO) ; 152,53 ($C_{aromatique}$) ; 144,80 ($C_{aromatique}$) ; 140,21 ($C_{aromatique}$) ; 130,01 ($C_{aromatique}$) ; 129,02 ($C_{aromatique}$) ; 127,32 ($C_{aromatique}$) ; 121,93 ($C_{aromatique}$) ; 105,83 ($C_{aromatique}$) ; 101,06 ($C_{aromatique}$) ; 82,94 (C_{alcyne}) ; 71,32 (CH_2) ; 70,55 (C_{alcyne}) ; 68,27 (CH_2) ; 60,67 (OCH_3) ; 58,57 (CH_2) ; 55,19 (CH_2) ; 54,21 (CH_2) ; 51,43 (CH_2) ; 30,48 (CH_2) ; 14,12 (CH_3).

MS (EI) : m/z 423 [$M - CO_2Et$] $^+$; 457 [$M - CH_2-C\equiv CH$] $^+$; 496 [M] $^+$.

h) Synthèse du 2,2'-(4-(benzyl(but-3-ynyl)amino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de sodium **22**

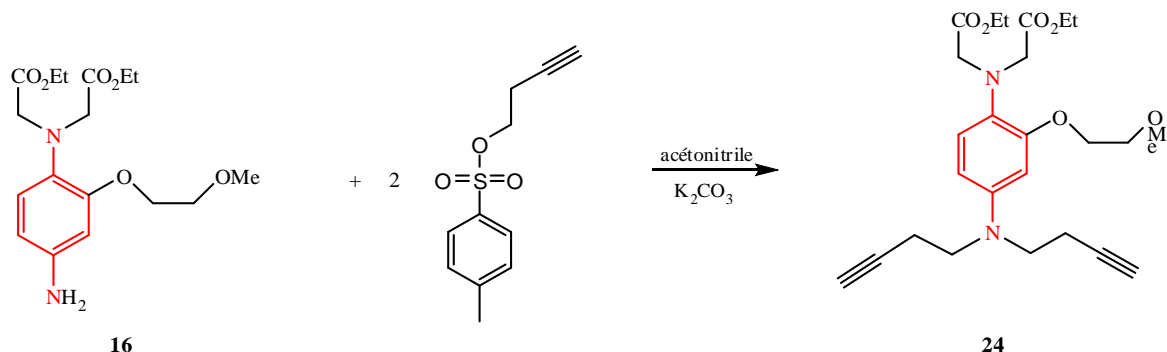


M	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$	NaOH	éthanol	$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}_2$
n	496,59	40,00		484,45
m	$6,24 \cdot 10^{-2}$ mmol	0,125 mmol		
C	31 mg	5,0 mg		
V		$1,00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$		
nb. d'éq.	1	5 mL	2 mL	
		2		

31 mg ($6,24 \cdot 10^{-2}$ mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-(benzyl(but-3-ynyl)amino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **21** dissout dans 2 mL d'éthanol et 5 mL (5,0 mg, 0,125 mmol, 2 éq.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sont mélangés et chauffés à reflux sous argon pendant 2 heures. L'avancée de la réaction est suivie par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). La réaction est terminée après 2 heures de chauffage à reflux. Le brut réactionnel est utilisé directement pour les études électrochimiques.

i) Synthèse du 2,2'-(4-(dibut-3-ynylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy) diacétate de diéthyle **24**

Cette synthèse a été adaptée d'après Patel *et al.*.¹¹⁶



	$C_{17}H_{26}N_2O_6$	$C_{11}H_{12}O_3S$	K_2CO_3	acétonitrile	$C_{25}H_{34}N_2O_6$
M	354,40	224,28	138,21		458,54
n	0,130 mmol	2,602 mmol	1,301 mmol		
m	46 mg	583 mg	180 mg		
d		1,27			
V		459 μ L		2 mL	
nb. d'éq.	1	20	10		

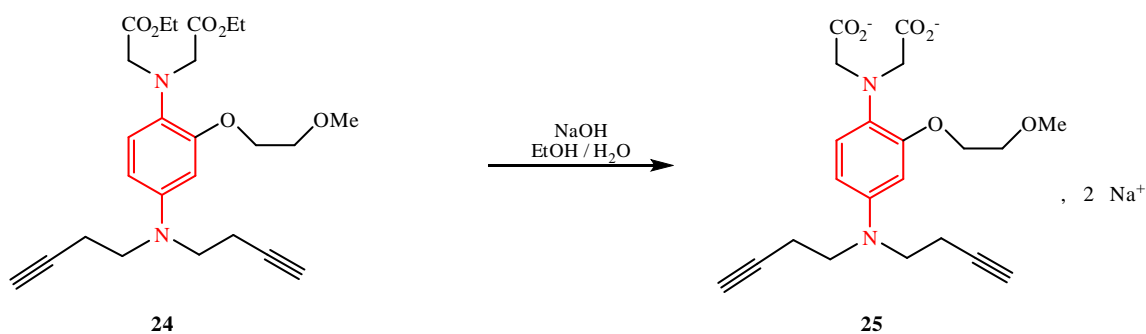
46 mg (0,130 mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-amino-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy) diacétate de diéthyle **16** sont mis en solution dans 2 mL d'acétonitrile et placés sous argon. 180 mg (1,301 mmol, 10 éq.) de carbonate de potassium puis 459 μ L (583 mg, 2,602 mmol, 20 éq.) de *para*-toluènesulfonate de but-3-ynyle sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 5 nuits. Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur fritté, puis le filtrat est concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 44 mg du produit souhaité **24** sont isolés sous forme d'une huile jaune clair. (rendement = 73 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 6,87 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 8,7$ Hz) ; 6,29 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 2,7$ Hz) ; 6,21 (dd, 1H, $H_{aromatique}$, $J_1 = 8,7$ Hz, $J_2 = 2,7$ Hz) ; 4,19-4,07 (m, 10H, $5 \cdot CH_2$) ; 3,71 (t, 2H, CH_2 , $J = 4,8$ Hz) ; 3,48 (t, 4H, $2 \cdot CH_2$, $J = 7,3$ Hz) ; 3,42 (s, 3H, OCH_3) ; 2,43 (dt, 4H, $2 \cdot CH_2$, $J_1 = 7,3$ Hz, $J_2 = 2,4$ Hz) ; 2,00 (t, 2H, $2 \cdot H_{alcyne}$, $J = 2,4$ Hz) ; 1,24 (t, 6H, $2 \cdot CH_3$, $J = 7,1$ Hz).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 62 MHz) : δ (ppm) 171,04 (COO) ; 152,13 ($C_{aromatique}$) ; 121,72 ($C_{aromatique}$) ; 105,18 ($C_{aromatique}$) ; 100,84 ($C_{aromatique}$) ; 70,80 (CH_2) ; 69,21 (CH_2) ; 68,09 (CH_2) ; 59,92 (CH_2) ; 58,53 (OCH_3) ; 53,49 (CH_2) ; 50,22 (CH_2) ; 13,73 (CH_3).

MS (EI) : m/z 459 $[M + H]^+$.

j.) Synthèse du 2,2'-(4-(dibut-3-ynylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy) diacétate de sodium **25**



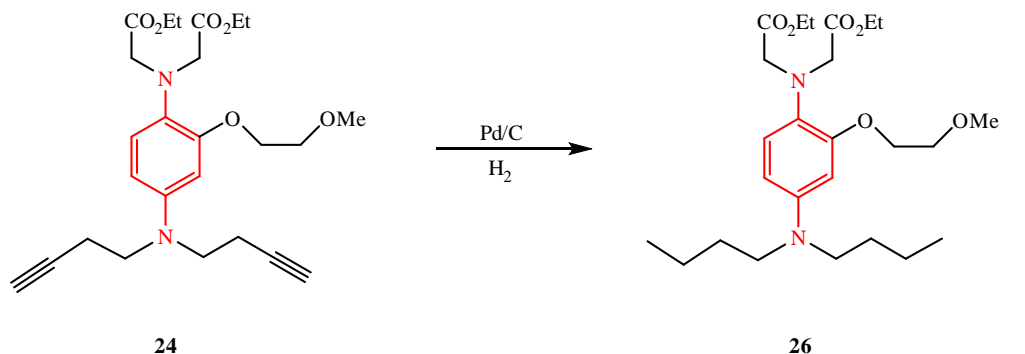
	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$	NaOH	éthanol	$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}_2$
M	458,54	40,00		446,40
n	$5,89 \cdot 10^{-2}$ mmol	0,121 mmol		
m	27 mg	4,8 mg		
C		$4,83 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$		
V		1 mL	1 mL	
nb. d'éq.	1	2,05		

27 mg ($5,89 \cdot 10^{-2}$ mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-(dibut-3-ynylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediy)diacétate de diéthyle **24** dissout dans 1 mL d'éthanol et 1 mL (4,8 mg, 0,121 mmol, 2,05 éq.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à $4,83 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sont mélangés et chauffés à reflux sous argon sous agitation pendant 1 heure. L'avancée de la réaction est suivie par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). La réaction est terminée après 2 heures de chauffage à reflux. Après concentration sous vide de la solution, le produit souhaité **25** est isolé avec un rendement quantitatif.

RMN ^1H (MeOD, 250 MHz) (données sélectionnées) : δ (ppm) 7,05 (d, 1H, $\text{H}_{\text{aromatique}}$, $J = 8,5$ Hz) ; 6,34 (d, 1H, $\text{H}_{\text{aromatique}}$, $J = 2,5$ Hz) ; 6,24 (dd, 1H, $\text{H}_{\text{aromatique}}$, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 4,19-4,16 (m, 2H, CH_2) ; 3,80-3,75 (m, 2H, CH_2) ; 2,41 (dt, 4H, 2^*CH_2 , $J_1 = 7,3$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 2,30 (t, 2H, $2^*\text{H}_{\text{alcyne}}$, $J = 2,5$ Hz).

k.) Synthèse du 2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **26**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savéant *et al.*.¹¹²

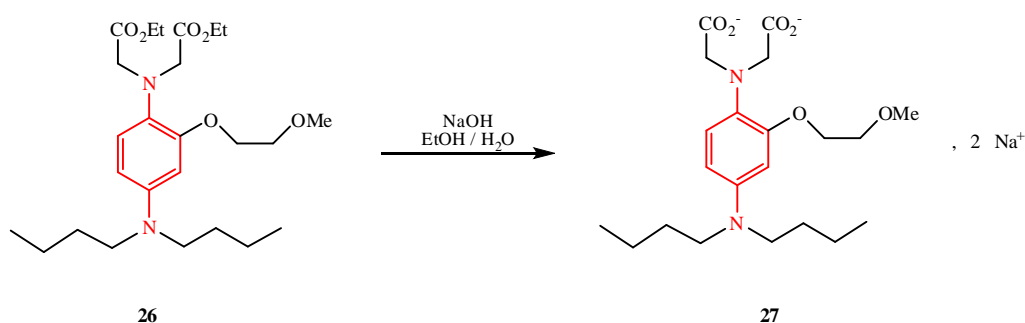


M	$C_{25}H_{34}N_2O_6$	EtOH	$C_{25}H_{42}N_2O_6$
n	458,54		466,60
m	$8,07 \cdot 10^{-2}$ mmol	3 mL	
	37 mg		

37 mg ($8,07 \cdot 10^{-2}$ mmol) de 2,2'-(4-(dibut-3-ynylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **24** sont mis en solution dans 3 mL d'éthanol absolu préalablement désoxygéné par bullage d'argon. Le milieu réactionnel est ensuite désoxygéné par bullage d'argon pendant 5 minutes, puis ultrasoniqué sous argon 5 minutes. Une pointe de spatule de palladium sur charbon est alors ajoutée. Le milieu réactionnel est de nouveau désoxygéné par bullage d'argon pendant 10 minutes, puis purgé au dihydrogène et agité sous atmosphère de dihydrogène. L'avancée de la réaction est contrôlée par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). Après 5 heures d'agitation sous atmosphère de dihydrogène, la réaction est terminée. Le milieu réactionnel est alors purgé à l'argon, puis filtré sur celite. Après rinçage abondant de la celite à l'éthanol, le filtrat est concentré sous vide pour donner le produit souhaité **26** sous forme d'une huile jaune avec un rendement quantitatif.

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 6,86 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 8,7$ Hz) ; 6,24 (d, 1H, $H_{aromatique}$, $J = 2,7$ Hz) ; 6,18 (dd, 1H, $H_{aromatique}$, $J_1 = 8,7$ Hz, $J_2 = 2,7$ Hz) ; 4,18-4,05 (m, 10H, $5 \cdot CH_2$) ; 3,72 (t, 2H, CH_2 , $J = 5,0$ Hz) ; 3,43 (s, 3H, OCH_3) ; 3,17 (t, 4H, $2 \cdot CH_2$, $J = 7,5$ Hz) ; 1,51 (t, 4H, $2 \cdot CH_2$, $J = 7,5$ Hz) ; 1,33 (t, 4H, $2 \cdot CH_2$, $J = 7,5$ Hz) ; 1,23 (t, 6H, $2 \cdot CH_3$, $J = 7,1$ Hz) ; 0,92 (t, 6H, $2 \cdot CH_3$, $J = 7,1$ Hz).

1) Synthèse du 2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de disodium **27**



M	$\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6$	NaOH	éthanol	$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}_2$
n	466,60	40,00		454,47
m	$4,00 \cdot 10^{-2}$ mmol	$8,00 \cdot 10^{-2}$ mmol		
C	18,7 mg	3,2 mg		
V		$3,20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	1 mL	
nb. d'éq.	1	1 mL	1 mL	
		2		

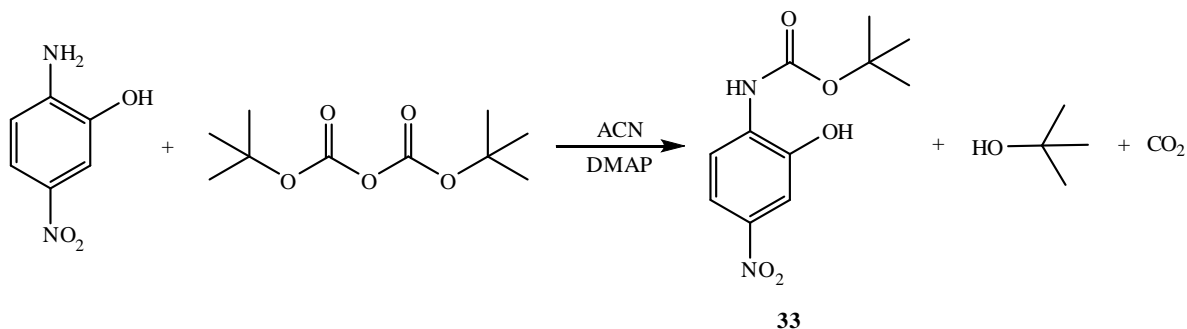
18,7 mg ($4,00 \cdot 10^{-2}$ mmol, 1 éq.) de 2,2'-(4-(dibutylamino)-2-(2-méthoxyéthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **26** dissout dans 1 mL d'éthanol et 1 mL ($3,2 \text{ mg}$, $8,00 \cdot 10^{-2}$ mmol, 2 éq.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à $3,20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sont mélangés et chauffés à reflux sous argon pendant 2 heures. L'avancée de la réaction est suivie par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). La réaction est terminée après 2 heures de chauffage à reflux. Le brut réactionnel est utilisé directement pour les études électrochimiques.

4) Préparation de dérivés de BAPTA

a) Première stratégie de synthèse

i) Synthèse du 2-tert-butoxycarbamato-5-nitrophénol **33**

Cette synthèse a été adaptée d'après Basel et Hassner,¹¹⁷ et Coudert *et al.*¹¹¹



	$C_6H_6N_2O_3$	$C_{10}H_{18}O_5$	$C_7H_{10}N_2$	ACN	$C_{11}H_{14}N_2O_5$
M	154,13	218,24	122,17		254,24
n	6,49 mmol	7,14 mmol	0,649 mmol		
m	1,000 g	1,558 g	79,3 mg	40 mL	
nb. d'éq.	1	1,1	0,1		

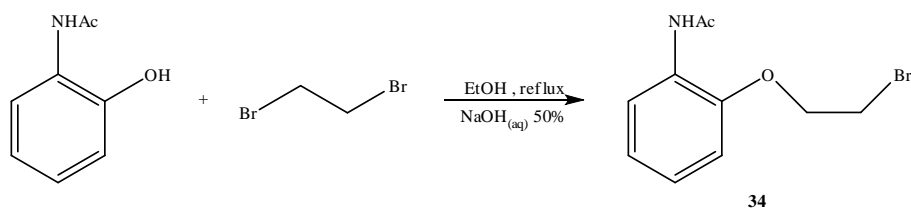
1,000 g (6,49 mmol) de 2-amino-5-nitrophénol et 1,558 g (7,14 mmol) de dicarbonate de di-*tert*-butyle sont dissous dans 40 mL d'acétonitrile pour donner une solution jaune. 79,3 mg de DMAP sont alors ajoutés : la solution vire instantanément au rouge brique, puis redevient jaune après quelques minutes. La solution est alors concentrée sous vide. Après purification par chromatographie sur silice (dichlorométhane/méthanol : 90/10) le produit souhaité **33** est isolé sous forme d'un solide jaune avec un rendement quantitatif.

RMN 1H (MeOD, 250 MHz) : δ (ppm) 7,93 (m, 2H, $H_{aromatiques}$) ; 6,81 (d, 1H, $H_{aromatique}$) ; 1,56 (Sélargi, 9H, *tert*-butyle).

RMN ^{13}C (MeOD, 62 MHz) : δ (ppm) 152,67 (C=O) ; 148,82 ($C_{aromatique}$) ; 137,83 ($C_{aromatique}$) ; 136,99 ($C_{aromatique}$) ; 124,38 ($C_{aromatique}$) ; 120,05 ($C_{aromatique}$) ; 114,99 ($C_{aromatique}$) ; 85,34 (OCCH₃) ; 27,87 (CH₃).

ii) Synthèse du 2-acétamido-(2'-bromoéthoxy)-phényléther **34**

Cette synthèse a été reproduite d'après Jacobs et Heidelberg. ¹⁰⁹



	$C_8H_9NO_2$	$C_2H_4Br_2$	$NaOH_{(aq)}$	éthanol	$C_{10}H_{12}NO_2Br$
M	151,16	187,85	40,00		258,11
n	13,2 mmol	71,0 mmol	44,0 mmol		
m	2,000 g	13,333 g	1,760 g		
d		2,18			
C			50 %		
V		6,12 mL	1,1 mL	7 mL	
nb. d'éq.	1	5,4	3,33		

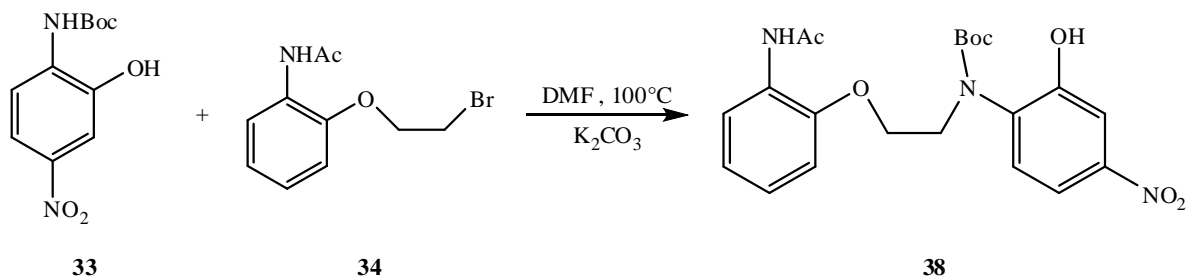
2,000 g (13,2 mmol) de 2-acétamidophénol sont dissous dans 7 mL d'éthanol et 1,1 mL d'une solution aqueuse de soude à 50 %. 6,12 mL de 1,2-dibromoéthane sont alors ajoutés. La solution est alors chauffée à reflux 2 h. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide. Le solide brun résultant est lavé à l'eau puis séché sur fritté. Le nouveau solide brun résultant est alors redissous dans le chloroforme. La suspension résultante est filtrée sur celite et le filtrat est concentré sous vide. Le solide brun résultant est alors repris dans l'éther de pétrole à reflux jusqu'à obtention d'une suspension claire. Après refroidissement, ce solide beige est essoré sur fritté pour donner 1,565 g du produit souhaité **34**. (rendement = 46 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 8,37 (m, 1H, $H_{aromatique}$) ; 7,96 (s_{élargi}, 1H, NH) ; 7,04 (m, 3H, $H_{aromatiques}$) ; 6,88 (m, 1H, $H_{aromatique}$) ; 4,36 (t, 2H, CH_2) ; 3,71 (t, 2H, CH_2) ; 2,22 (s, 3H, Ac)

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 62 MHz) : δ (ppm) 168,32 (C=O) ; 146,16 ($C_{aromatique}$) ; 128,82 ($C_{aromatique}$) ; 123,62 ($C_{aromatique}$) ; 122,51 ($C_{aromatique}$) ; 120,25 ($C_{aromatique}$) ; 112,64 ($C_{aromatique}$) ; 69,02 (CH_2-Br) ; 30,13 (CH_2-O) ; 24,97 (CH_3).

iii) Synthèse du 2-(2-acétamidophénoxy)éthyl(2-hydroxy-4-nitrophényl) carbamate de tert-butyle **38**

Cette synthèse a été inspirée d'après Akkaya *et al.*,¹⁰² Tsien *et al.*¹⁰³ et Coudert *et al.*¹¹¹



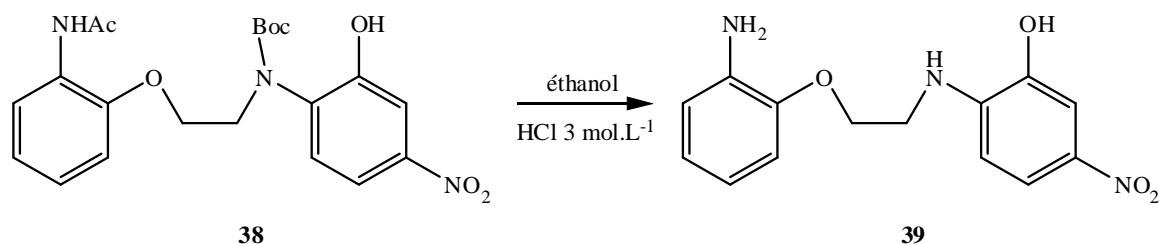
	$C_{10}H_{12}NO_2Br$	$C_{11}H_{14}N_2O_5$	K_2CO_3	DMF	$C_{21}H_{25}N_3O_7$
M	258,11	254,24	138,21		431,44
n	1,94 mmol	5,81 mmol	5,81 mmol		
m	500 mg	1,478 g	803 mg	20 mL	
nb. d'éq.	1	3	3		

500 mg (1,94 mmol, 1 éq.) de 2-acétamido-(2'-bromoéthoxy)-phényléther **34** et 1,478 g (5,81 mmol, 3 éq.) de 2-*tert*-butoxycarbamato-5-nitrophénol **33** sont mis en solution dans 20 mL de DMF. La solution jaune résultante est dégazée à l'argon 1 heure. 803 mg (5,81 mmol, 3 éq.) de carbonate de potassium sont alors ajoutés : la solution vire instantanément au rouge. La solution est chauffée à 100°C pendant 30 minutes, puis le DMF est distillé sous pression réduite. Le solide rouge-brun résultant est repris dans un mélange dichlorométhane/eau : la phase aqueuse est extraite trois fois avec du dichlorométhane, puis les phases organiques réunies sont lavées à l'eau jusqu'à obtention d'une phase aqueuse de pH neutre. La phase organique est alors séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée sous vide. Le solide résultant est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 50/50) pour donner 423 mg du produit **38** sous forme d'un solide jaune. (rendement = 51 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 8,29 (m, 2H, $H_{aromatiques}$) ; 7,85 (dd, 1H, $J_{ortho} = 9,07$ Hz, $J_{para} = 2,32$ Hz, $H_{aromatique}$) ; 7,72 (d, 1H, $J_{para} = 2,32$ Hz, $H_{aromatique}$) ; 7,67 ($s_{élargi}$, 1H, NH) ; 6,96 (m, 3H, $H_{aromatiques}$) ; 4,44 (s, 4H, $2*CH_2$) ; 2,05 (s, 3H, Ac) ; 1,44 (s, 9H, Boc).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 62 MHz) : δ (ppm) 168,07 ($C=O_{Ac}$) ; 151,81 ($C=O_{Boc}$) ; 146,56 ($C_{aromatique}$) ; 145,61 ($C_{aromatique}$) ; 141,93 ($C_{aromatique}$) ; 134,92 ($C_{aromatique}$) ; 128,08 ($C_{aromatique}$) ; 123,78 ($C_{aromatique}$) ; 122,14 ($C_{aromatique}$) ; 120,52 ($C_{aromatique}$) ; 118,45 ($C_{aromatique}$) ; 116,86 ($C_{aromatique}$) ; 111,56 ($C_{aromatique}$) ; 106,58 ($C_{aromatique}$) ; 82,09 ($C(CH_3)_3$ -Boc) ; 69,00 (CH_2) ; 66,95 (CH_2) ; 28,13 (CH_3 -Boc) ; 24,74 (CH_3 -Ac).

MS (EI) : m/z 332 $[M + H - boc]^+$.

iv) Synthèse du 2-(2-(2-aminophénoxy)éthylamino)-5-nitrophénol **39**

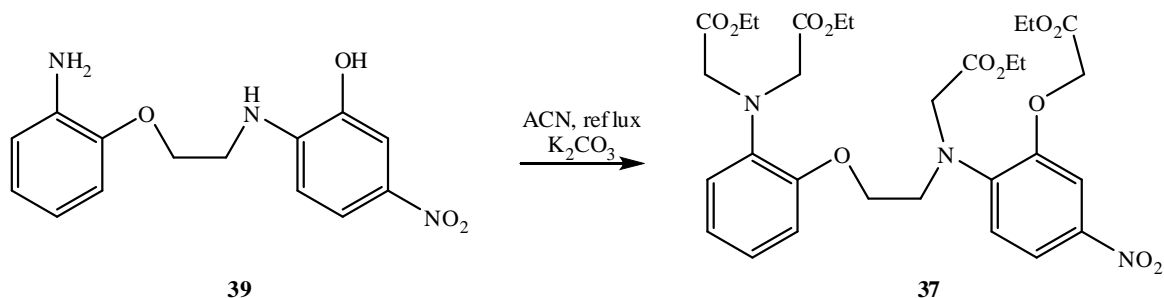
	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7$	HCl_{aq}	éthanol	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4$
M	431,44			289,29
n	0,980 mmol			
m	423 mg			
C		3 mol.L^{-1}		
V		20 mL	20 mL	

423 mg (0,980 mmol) de 2-(2-acétamidophénoxy)éthyl(2-hydroxy-4-nitrophényl)carbamate de *tert*-butyle **38** sont dissous dans 20 mL d'éthanol. 20 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 3 mol.L⁻¹ sont alors ajoutés : il y a apparition d'un précipité. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 6 heures. (On note la disparition du précipité après environ 30 minutes de chauffage à reflux.) Après refroidissement, le milieu est porté à pH \approx 7-8 par ajout de carbonate de potassium solide. L'éthanol est alors concentré sous vide. La phase aqueuse résultante est extraite trois fois au dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont alors séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide pour donner 213 mg du produit **39** sous forme d'un solide jaune. (rendement = 75 %)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 7,84 (dd, 1H, $J_{\text{ortho}} = 8,68 \text{ Hz}$, $J_{\text{meta}} = 2,36 \text{ Hz}$, H_{aromatique}) ; 6,85 (m, 2H, H_{aromatiques}) ; 6,75 (m, 2H, H_{aromatiques}) ; 6,64 (d, 2H, $J_{\text{ortho}} = 8,68 \text{ Hz}$, H_{aromatique}) ; 4,59 (s_{élargi}, 2H, NH) ; 4,44 (m, 4H, 2*CH₂) ; 3,83 (s_{élargi}, 2H, NH).

v) Synthèse du 2,2'-(2-(2-((2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)-4-nitrophényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **37**

Cette synthèse a été inspirée d'après Akkaya *et al.*,¹⁰² Tsien *et al.*¹⁰³ et Coudert *et al.*¹¹¹



	$C_{14}H_{15}N_3O_4$	$C_4H_7O_2I$	K_2CO_3	acétonitrile	$C_{30}H_{39}N_3O_{12}$
M	289,29	214,00	138,21		633,64
n	0,173 mmol	1,73 mmol	1,73 mmol		
m	50 mg	370 mg	239 mg		
d		1,81			
V		204 μ L		2 mL	
nb. d'éq	1	10	10		

50 mg (0,173 mmol, 1 éq.) de 2-(2-(2-aminophénoxy)éthylamino)-5-nitrophénol **39** sont mis en solution dans 2 mL d'acétonitrile sec et placés sous argon. 239 mg (1,73 mmol, 10 éq.) de carbonate de potassium sont alors ajoutés, puis 204 μ L (370 mg, 1,73 mmol, 10 éq.) de iodoacétate d'éthyle. Le mélange est alors chauffé à reflux sous argon une semaine. Après refroidissement, la suspension résultante est filtrée sur fritté et le solide lavé à l'acétonitrile. Le filtrat est alors concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (chloroforme/acétate d'éthyle : 85/15), 25 mg du produit **37** sont isolés. (rendement = 23 %)

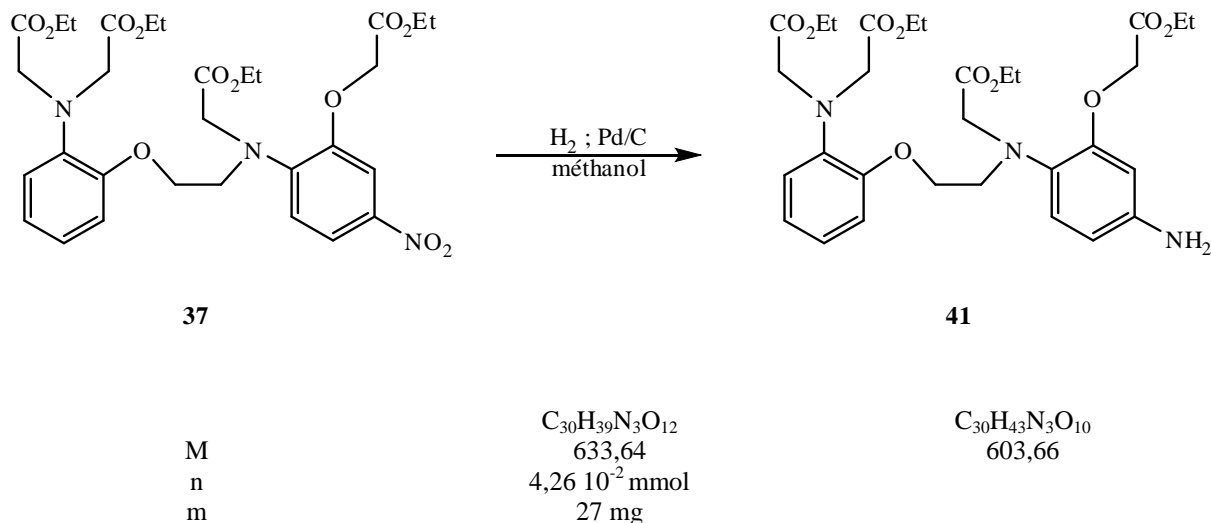
RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 7,89 (dd, 1H, $J_{ortho} = 8,88$ Hz, $J_{meta} = 2,18$ Hz, $H_{aromatique}$) ; 7,66 (d, 1H, $J_{meta} = 2,18$ Hz, $H_{aromatique}$) ; 6,90 (m, 3H, $H_{aromatiques}$) ; 6,83 (m, 1H, $H_{aromatiques}$) ; 6,38 (d, 2H, $J_{ortho} = 8,88$ Hz, $H_{aromatique}$) ; 4,41 (s_{élargi}, 4H, 2* CH_2) ; 4,23 (m, 4H, 2* CH_2) ; 4,15 (m, 10H, 5* CH_2) ; 4,01 (d, 2H, $J = 5,96$ Hz, CH_2) ; 1,24 (m, 12H, 4* CH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 62 MHz) : δ (ppm) 171,56 (COO_{ester}) ; 169,67 (COO_{ester}) ; 149,89 ($C_{aromatique}$) ; 144,20 ($C_{aromatique}$) ; 143,78 ($C_{aromatique}$) ; 139,58 ($C_{aromatique}$) ; 137,68 ($C_{aromatique}$) ; 122,24 ($C_{aromatique}$) ; 122,03 ($C_{aromatique}$) ; 119,96 ($C_{aromatique}$) ; 119,37 ($C_{aromatique}$) ; 114,32 ($C_{aromatique}$) ; 107,17 ($C_{aromatique}$) ; 106,19 ($C_{aromatique}$) ; 68,20 (CH_2) ; 67,28 (CH_2) ; 66,67 (CH_2) ; 61,52 (CH_2) ; 61,04 (CH_2) ; 60,76 (CH_2) ; 53,78 (CH_2) ; 44,66 (CH_2) ; 14,19 (CH_3).

MS (EI) : m/z 548 [$M + H - CH_2CO_2Et$]⁺ ; 634 [$M + H$]⁺.

vi) Synthèse du 2,2'-(2-(2-((4-amino-2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)phényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle **41**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savéant *et al.*¹¹²

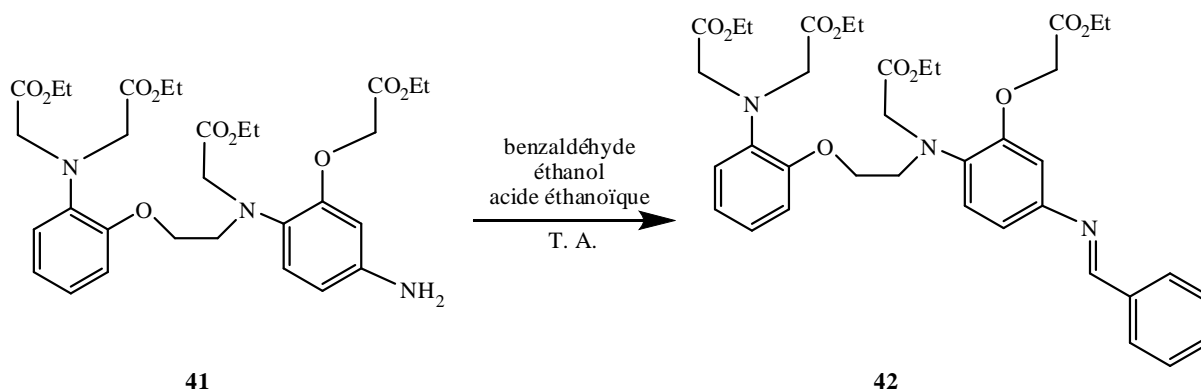


27 mg ($4,26 \cdot 10^{-2}$ mmol) de 2,2'-(2-(2-((2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)-4-nitrophényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phényl)azanediyldiacétate de diéthyle **37** sont mis en solution dans 6 mL de méthanol. La solution résultante est alors ultrasoniquée et dégazée à l'argon pendant 10 minutes, puis dégazée à l'argon pendant 1 heure. Une pointe de spatule de palladium sur charbon est alors ajoutée et le milieu réactionnel est de nouveau dégazé 10 minutes à l'argon. Le milieu réactionnel est alors placé sous dihydrogène et agité pendant une nuit. Après purge du dihydrogène, le milieu réactionnel est filtré sur celite et le filtrat est concentré sous vide pour donner 21 mg du produit désiré **41** sous forme d'un solide jaune (rendement = 82 %).

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 6,90 (m, 5H, $\text{H}_{\text{aromatiques}}$) ; 6,35 (m, 2H, $\text{H}_{\text{aromatiques}}$) ; 4,23 (m, 20H, $10 \cdot \text{CH}_2$) ; 1,20 (t, 12H, $J = 7,17$ Hz, $4 \cdot \text{CH}_3$).

vii) Synthèse du 2,2'-(2-(2-((4-(benzylidènamino)-2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)phényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **42**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savoia *et al.*,¹¹³ Gmeiner *et al.*,¹¹⁴ et Tourwé *et al.*¹¹⁵

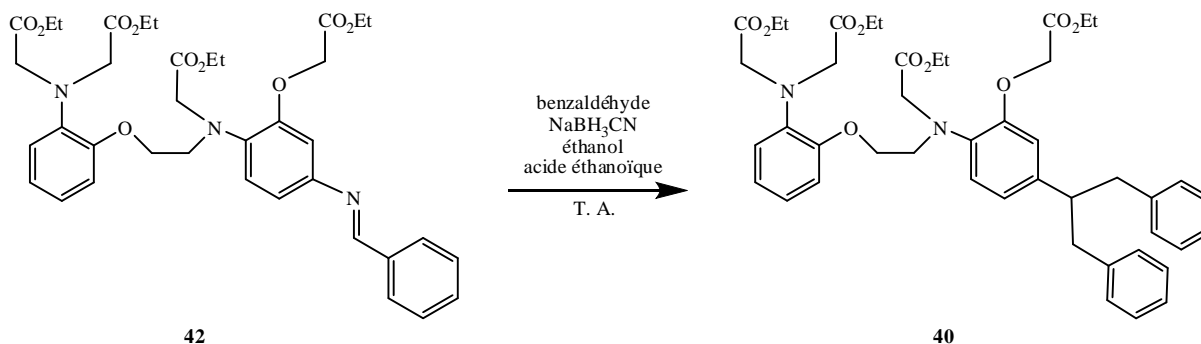


	$C_{30}H_{41}N_3O_{10}$	C_7H_6O	AcOH	EtOH	$C_{37}H_{45}N_3O_{10}$
M	603,66	106,12	60,05		691,76
n	$(3,95 \cdot 10^{-2} \text{ mmol})$	$3,95 \cdot 10^{-2} \text{ mmol}$	0,158 mmol		
m	(23,8 mg)	4,2 mg	9,5 mg		
d		1,045	1,049		
V		4,01 μL	9,03 μL	2 mL	
nb. d'éq	1	1	4		

Le solide résultant de la synthèse du 2,2'-(2-(2-((4-amino-2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)phényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **41** est redissous dans 2 mL d'éthanol anhydre sous argon. 4,01 μL ($3,95 \cdot 10^{-2}$ mmol ; 1 éq.) de benzaldéhyde puis 9,03 μL (0,158 mmol ; 4 éq.) d'acide éthanoïque sont alors ajoutés. La solution résultante est agitée une nuit à température ambiante sous argon. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide pour donner un solide jaune-brun, utilisé directement pour l'étape suivante.

viii) Synthèse du 2,2'-(2-(2-((4-(1,3-diphénylpropan-2-yl)-2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)phényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phénylazanediy) diacétate de diéthyle **40**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savoia *et al.*,¹¹³ Gmeiner *et al.*,¹¹⁴ et Tourwé *et al.*¹¹⁵



	$\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_{10}$	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$	NaBH_3CN	AcOH	EtOH	$\text{C}_{44}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_{10}$
M	691,76	106,12	62,84	60,05		783,89
n	$(3,95 \cdot 10^{-2} \text{ mmol})$	$2 \cdot 0,118 \text{ mmol}$	$0,158 \text{ mmol}$	$0,355 \text{ mmol}$		
m	(27,3 mg)	$2 \cdot 12,6 \text{ mg}$	10,0 mg	21,3 mg		
d		1,045		1,049		
V		$2 \cdot 12,0 \mu\text{L}$		$20,3 \mu\text{L}$	2 mL	
nb. d'éq	1	$2 \cdot 3$	4	9		

Le solide jaune-brun résultant de la synthèse du 2,2'-(2-(2-((4-(benzylidènamino)-2-(2-éthoxy-2-oxoéthoxy)phényl)(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)éthoxy)phénylazanediy) diacétate de diéthyle **42** est redissous dans 2 mL d'éthanol anhydre et placé sous argon. 12,0 μL (0,118 mmol, 3 éq.) de benzaldéhyde, 20,3 μL (0,355 mmol, 9 éq.) d'acide éthanoïque puis 10,0 mg de cyanoborotrihydrure de sodium sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité sous argon à température ambiante pendant 2 heures. 12 μL (0,118 mmol, 3 éq.) supplémentaires de benzaldéhyde sont ajoutés, puis le milieu réactionnel est agité sous argon à température ambiante pendant une nuit. Une solution aqueuse de carbonate de potassium est alors ajoutée pour ajuster le pH à environ 9. La phase aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de magnésium anhydre, filtrées et concentrées sous vide pour donner 15 mg du produit souhaité **40**. (rendement des 3 étapes : 50 %)

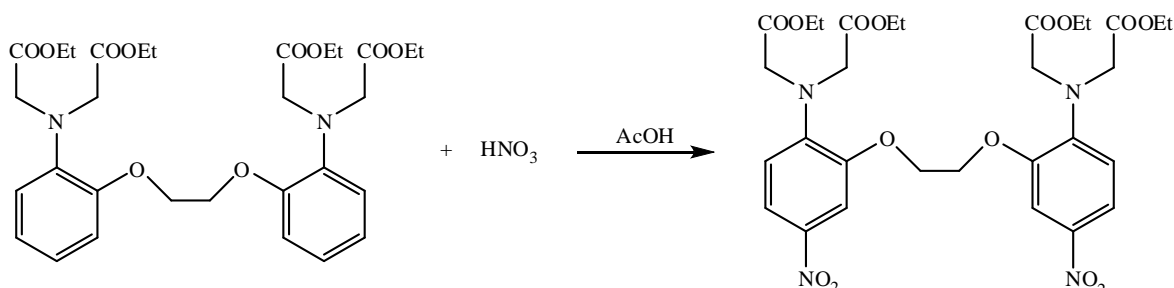
RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 7,29-7,38 (m, 14H, $\text{H}_{\text{aromatiques}}$) ; 6,86-6,95 (m, 3H, $\text{H}_{\text{aromatiques}}$) ; 4,08-4,28 (m, 24H, $12 \cdot \text{CH}_2$) ; 1,29 (t, 12H, $\text{J} = 7,09 \text{ Hz}$, $4 \cdot \text{CH}_3$).

MS (EI) : m/z 608 $[\text{M} - \text{CH}_2\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}]^+$; 695 $[\text{M} - \text{CH}_2\text{Ph}]^+$; 699 $[\text{M} - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}]^+$; 784 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

b.) Seconde stratégie de synthèse

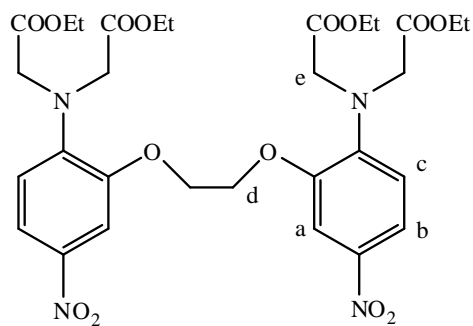
i.) Synthèse du 2,2',2'',2'''-(2,2'-(éthane-1,2-diylbis(oxy))bis(4-nitro-2,1-phénylène)) bis(azanetriyl)tétraacétate de tétraéthyle

Cette synthèse a été reproduite avec quelques adaptation d'après Jaffe *et al.*¹⁰⁸



M	$C_{30}H_{40}N_2O_{10}$	HNO_3	AcOH	$C_{30}H_{38}N_4O_{14}$
n	588,64	63,02		678,64
m	0,255 mmol	0,255 + 0,255 mmol		
P	150 mg	16 mg		
d		65 %		
C		1,400		
V		14,44 mol.L ⁻¹		
nb. d'éq.		17,6 + 17,6 μ L	1 mL	
		1 + 1		

150 mg (0,255 mmol, 1 éq.) de 2,2',2'',2'''-(2,2'-(éthane-1,2-diylbis(oxy))bis(2,1-phénylène))bis(azanetriyl)tétraacétate de tétraéthyle sont mis en solution dans 1 mL d'acide acétique glacial et placés sous argon. 17,6 μ L (0,255 mmol, 1 éq.) d'acide nitrique concentré sont alors ajoutés. La solution vire instantanément au jaune. Après quelques minutes d'agitation, une CCM (dichlorométhane/acétonitrile 90/10) met en évidence la présence de deux composés : le produit de départ et le produit de dinitration, mais aucune trace du produit de mononitration. Afin d'isoler le produit de dinitration pur et avec un meilleur rendement, 17,6 μ L supplémentaires (0,255 mmol, 1 éq.) d'acide nitrique concentré sont ajoutés. Il y a immédiatement apparition d'un précipité jaune. Après deux heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur fritté. Le solide jaune obtenu est repris dans le dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis après s'être assuré que le pH de la phase aqueuse est voisin de 7, la phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée sous vide pour donner 153 mg du produit souhaité sous forme d'une poudre jaune. (rendement = 88 %)

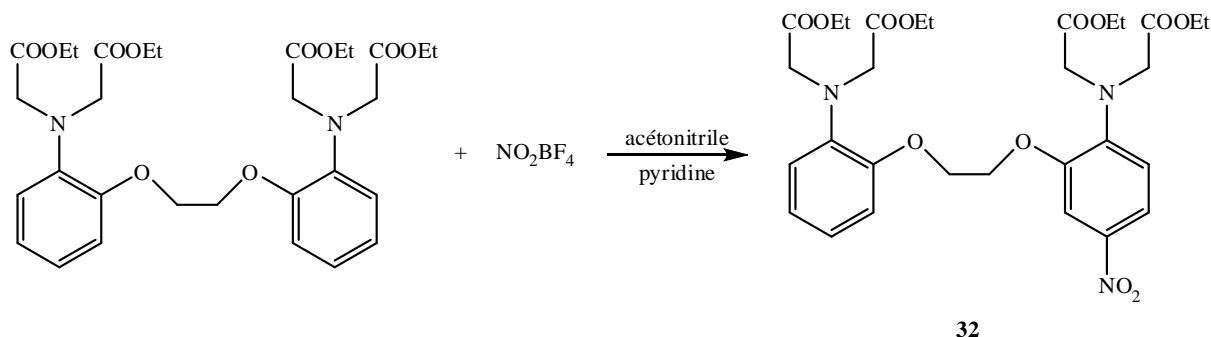


RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 7,86 (dd, 2H, $2^*\text{H}_{(b)}$, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 2,4$ Hz) ; 7,72 (d, 2H, $2^*\text{H}_{(a)}$, $J = 2,4$ Hz) ; 6,70 (d, 2H, $2^*\text{H}_{(c)}$, $J = 8,9$ Hz) ; 4,34 (s, 4H, $2^*\text{CH}_{2(d)}$) ; 4,21 (s, 8H, $4^*\text{CH}_{2(e)}$) ; (q, 8H, $4^*\text{CH}_{2(\text{éthyle})}$, $J = 7,1$ Hz) ; 1,18 (t, 12H, $4^*\text{CH}_{3(\text{éthyle})}$, $J = 7,1$ Hz).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62 MHz) : δ (ppm) 170,33 (COO) ; 148,37 (C_O) ; 145,46 (C_N) ; 140,88 (C_{nitro}) ; 118,64 ($\text{C}_{(b)}$) ; 116,15 ($\text{C}_{(c)}$) ; 108,21 ($\text{C}_{(a)}$) ; 67,35 ($\text{C}_{(d)}$) ; 61,38 ($\text{CH}_{2(\text{éthyle})}$) ; 53,86 ($\text{C}_{(e)}$) ; 14,06 ($\text{CH}_{3(\text{éthyle})}$).

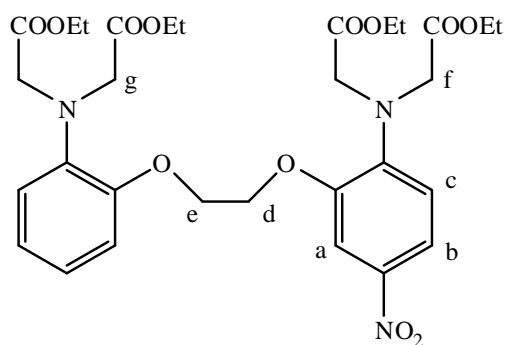
ii) Synthèse du 2,2'-(2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)-5-nitrophénoxy)éthoxy)phénylazanediy) diacétate de diéthyle **32**

Cette synthèse a été adaptée d'après Stagliano *et al.*.¹⁰⁴



M	C ₃₀ H ₄₀ N ₂ O ₁₀	NO ₂ BF ₄	pyridine	acétonitrile	C ₃₀ H ₃₉ N ₃ O ₁₂
n	588,64	132,82	79,10		633,64
m	0,340 mmol	0,347 mmol	0,347 mmol		
d	200 mg	46 mg	27 mg		
C		0,15 mol.L ⁻¹	0,978		
V		2,31 mL	0,15 mol.L ⁻¹	10 mL	
nb. d'éq	1	1,02	2,31 mL		1,02

200 mg (0,340 mmol, 1 éq.) de 2,2',2'',2'''-(2,2'-(éthane-1,2-diylbis(oxy))bis(2,1-phénylène))bis (azanetriyl)tétraacétate de tétraéthyle sont dissous dans 10 mL d'acétonitrile préalablement séché sur alumine et placés sous argon. 2,31 mL d'une solution 0,15 mol.L⁻¹ de tétrafluoroborate de nitronium (46 mg, 0,347 mmol, 1,02 éq.) et 0,15 mol.L⁻¹ de pyridine (121 µL, 27 mg, 0,347 mmol, 1,02 éq.) fraîchement préparée dans l'acétonitrile sont alors ajoutés. La solution jaune résultante est alors agitée sous argon à température ambiante pendant 15 minutes. L'avancée de la réaction est contrôlée par CCM (dichlorométhane/acétonitrile 90/10). Il y a formation concomitante du dérivé mononitré souhaité et du dérivé dinitré symétrique. Des volumes de 500 µL de solution 0,15 mol.L⁻¹ de tétrafluoroborate de nitronium et 0,15 mol.L⁻¹ de pyridine dans l'acétonitrile sont ajoutés jusqu'à ce que la quantité de produit dinitré augmente sans que la quantité de produit de départ diminue. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide. Le solide résultant est repris dans un mélange dichlorométhane/eau, et la phase organique est lavée à l'eau, puis avec une solution saturée de chlorure d'ammonium, puis à l'eau. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (dichlorométhane, puis augmentation progressive de la polarité par ajout d'acétonitrile jusqu'à un mélange dichlorométhane/acétonitrile 95/5), 58 mg du produit mononitré souhaité **32** sont isolés purs sous forme d'un solide jaune (rendement = 27 %), ainsi que 39 mg du produit dinitré pur, et un mélange de ces deux produits.



RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 7,83 (dd, 1H, $\text{H}_{(b)}$, $J_1 = 8,9$ Hz, $J_2 = 2,4$ Hz) ; 7,72 (d, 1H, $\text{H}_{(a)}$, $J = 2,4$ Hz) ; 6,87 (m, 4H, $4*\text{H}_{\text{aromatique}}$) ; 6,67 (d, 1H, $\text{H}_{(c)}$, $J = 8,9$ Hz) ; 4,35-4,25 (m, 4H, $\text{CH}_{2(d)}$ et $\text{CH}_{2(e)}$) ; 4,22 (s, 4H, $2*\text{CH}_{2(f)}$) ; 4,14 (s, 4H, $2*\text{CH}_{2(g)}$) ; 4,07 (q, 4H, $2*\text{CH}_{2(\text{éthyle})}$, $J = 7,2$ Hz) ; 4,06 (q, 4H, $2*\text{CH}_{2(\text{éthyle})}$, $J = 7,1$ Hz) ; 1,16 (t, 6H, $2*\text{CH}_3$, $J = 7,1$ Hz) ; 1,14 (t, 6H, $2*\text{CH}_3$, $J = 7,2$ Hz).

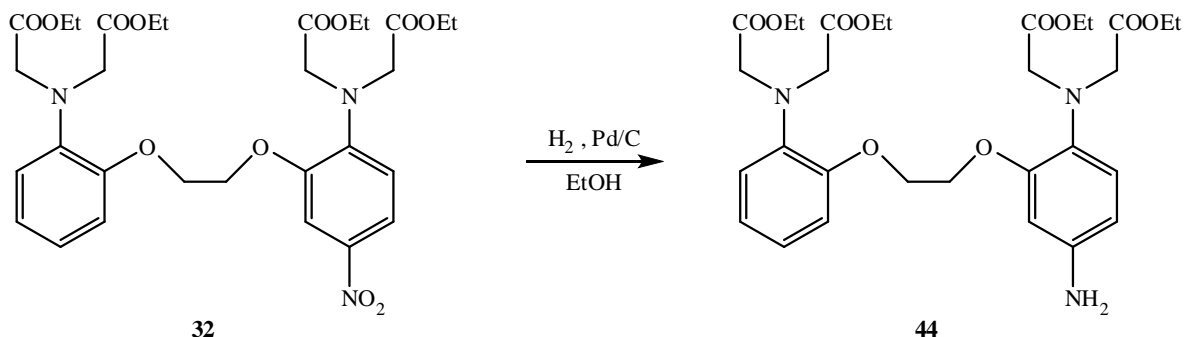
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 62 MHz) : δ (ppm) 171,30 ($\text{COO}_{(\text{nitro})}$) ; 170,35 (COO) ; 150,02 ($\text{C}_{\text{O}(\text{non-nitro})}$) 148,52 ($\text{C}_{\text{O}(\text{nitro})}$) ; 145,30 ($\text{C}_{\text{N}(\text{nitro})}$) ; 140,74 (C_{nitro}) ; 139,50 ($\text{C}_{\text{N}(\text{non-nitro})}$) ; 122,10 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 121,81 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 119,17 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 118,18 ($\text{C}_{(b)}$) ; 115,76 ($\text{C}_{(c)}$) ; 113,61 ($\text{C}_{\text{aromatique}}$) ; 107,84 ($\text{C}_{(a)}$) ; 67,72 ($\text{CH}_{2(d)}$) ; 66,68 ($\text{CH}_{2(e)}$) ; 61,20 ($\text{CH}_{2(\text{éthyle})}$) ; 60,62 ($\text{CH}_{2(\text{éthyle})}$) ; 53,73 ($\text{CH}_{2(f)}$) ; 53,41 ($\text{CH}_{2(g)}$) ; 13,97 (CH_3) ; 13,87 (CH_3).

MS (CI) : m/z 634,27 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; 651,24 [$\text{M} + \text{NH}_4$] $^+$.

Analyse élémentaire : calc. pour $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{12}$: C 56,86 ; H 6,21 ; N 6,63 ; trouvé : C 56,47 ; H 6,24 ; N 6,13.

iii) Synthèse du 2,2'-(4-amino-2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediy)diacétate de diéthyle **44**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savéant *et al.*.¹¹²

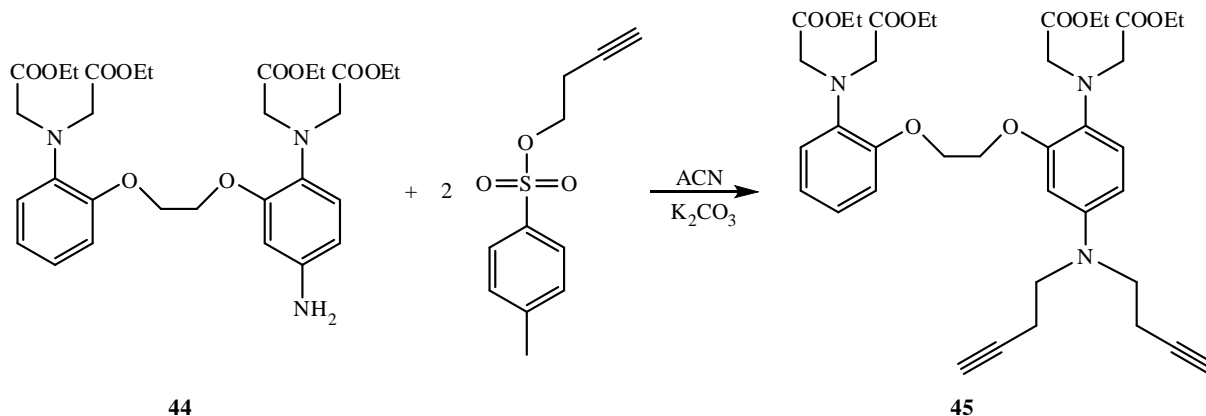


M	$C_{30}H_{39}N_3O_{12}$	éthanol	$C_{30}H_{41}N_3O_{10}$
n	633,64		603,66
m	0,047 mmol	5 mL	
	30 mg		

30 mg (0,047 mmol) de 2,2'-(2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)-5-nitrophénoxy)éthoxy)phénylazanediy) diacétate de diéthyle **32** sont mis en solution dans 5 mL d'éthanol absolu préalablement désoxygéné par bullage d'argon. Le milieu réactionnel est ensuite désoxygéné par bullage d'argon pendant 5 minutes, puis ultrasoniqué sous argon 5 minutes. Une pointe de spatule de palladium sur charbon est alors ajoutée. Le milieu réactionnel est de nouveau désoxygéné par bullage d'argon pendant 10 minutes, puis purgé au dihydrogène et agité sous atmosphère de dihydrogène. L'avancée de la réaction est contrôlée par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 50/50). Après 3 heures d'agitation sous atmosphère de dihydrogène, la réaction est terminée. Le milieu réactionnel est alors purgé à l'argon, puis filtré sur celite. Après rinçage abondant de la celite à l'éthanol, le filtrat est concentré sous vide et le solide brun pâle résultant est utilisé directement pour la réaction suivante.

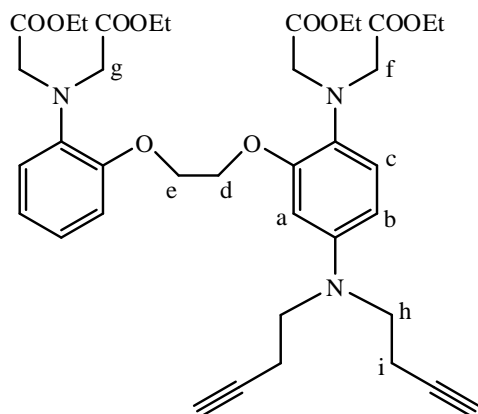
iv) Synthèse du 2,2'-(2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)-5-(dibut-3-ynylamino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediy)diacétate de diéthyle **45**

Cette synthèse a été adaptée d'après Patel *et al.*.¹¹⁶



	$C_{30}H_{41}N_3O_{10}$	$C_{11}H_{12}O_3S$	K_2CO_3	acétonitrile	$C_{38}H_{49}N_3O_{10}$
M	603,66	224,28	138,21		707,80
n	(0,047 mmol)	0,947 mmol	0,473 mmol		
m	(29 mg)	212 mg	65 mg		
d		1,27			
V		167 μ L		3 mL	
nb. d'éq.	1	20	10		

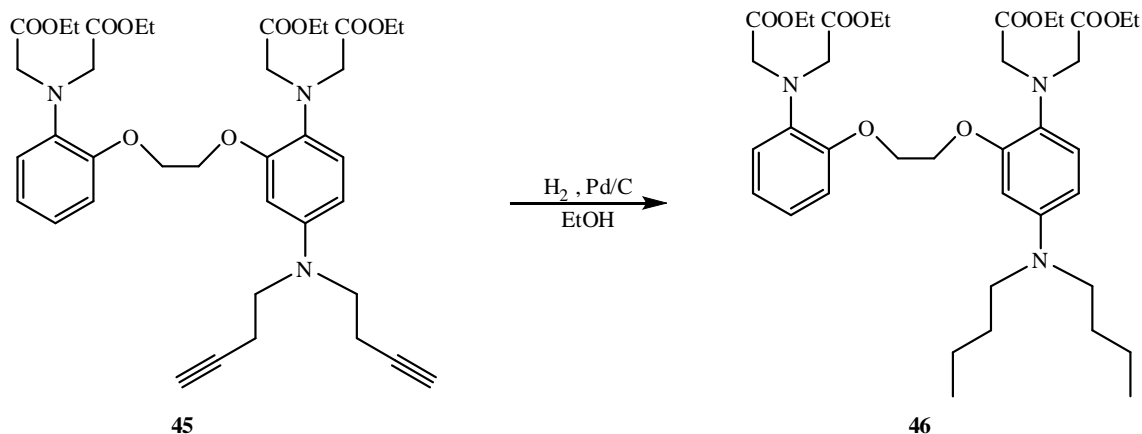
Le brut issu de la synthèse du 2,2'-(4-amino-2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediy)diacétate de diéthyle **44** est redissous dans 3 mL d'acétonitrile séché sur alumine et désoxygéné à l'argon, puis placé sous argon. 65 mg (0,473 mmol, 10 éq.) de carbonate de potassium puis 167 μ L (212 mg, 0,947 mmol, 20 éq.) de *para*-toluènesulfonate de but-3-ynyle sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 7 nuits. Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur fritté, puis le filtrat est concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 15 mg du produit souhaité **45** sont isolés sous forme d'une huile jaune clair. (rendement = 45 %)



RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 6,92-6,80 (m, 5H, 5* $H_{aromatiques}$) ; 6,31 (d, 1H, $H_{(a)}$, $J = 1,9$ Hz) ; 6,21 (dd, 1H, $H_{(b)}$, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 1,9$ Hz) ; 4,30 (s, 4H, 2* $CH_{2(f)}$) ; 4,15 (s, 4H, 2* $CH_{2(g)}$) ; 4,42-3,98 (m, 12H, 6* CH_2) ; 3,49 (t, 4H, 2* $CH_{2(h)}$, $J = 7,2$ Hz) ; 2,41 (dt, 4H, $CH_{2(i)}$, $J_1 = 7,2$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz) ; 2,01 (t, 2H, $H_{(alcyne)}$, $J = 2,5$ Hz) ; 1,15 (t, 12H, 4* CH_3 , $J = 7,1$ Hz).

v) Synthèse du 2,2'-(2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)-5-(dibutylamino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **46**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savéant *et al.*¹¹²

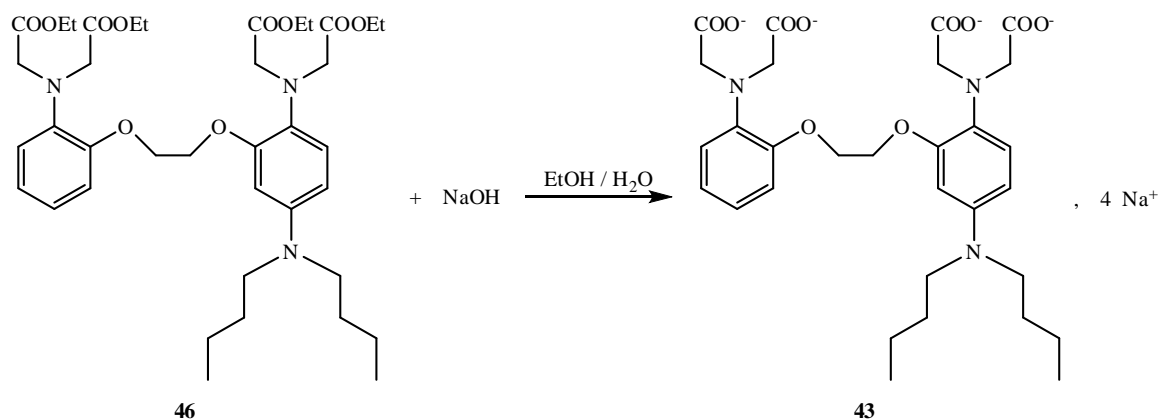


	$\text{C}_{38}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_{10}$	EtOH	$\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_{10}$
	707,80		711,83
M	$2,12 \cdot 10^{-2}$ mmol		
n	15 mg	5 mL	
m			

15 mg ($2,12 \cdot 10^{-2}$ mmol) de 2,2'-(2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)-5-(dibut-3-ynylamino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **45** sont mis en solution dans 5 mL d'éthanol absolu préalablement désoxygéné par bullage d'argon. Le milieu réactionnel est ensuite désoxygéné par bullage d'argon pendant 5 minutes, puis ultrasoniqué sous argon 10 minutes. Une pointe de spatule de palladium sur charbon est alors ajoutée. Le milieu réactionnel est de nouveau désoxygéné par bullage d'argon pendant 10 minutes, puis purgé au dihydrogène et agité sous atmosphère de dihydrogène. L'avancée de la réaction est contrôlée par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). Après 3 heures d'agitation sous atmosphère de dihydrogène, la réaction est terminée. Le milieu réactionnel est alors purgé à l'argon, puis filtré sur celite. Après rinçage abondant de la celite à l'éthanol, le filtrat est concentré sous vide pour donner le produit souhaité **46** sous forme d'une huile jaune avec un rendement quantitatif.

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 6,94-6,76 (m, 7H, 7* $\text{H}_{\text{aromatiques}}$) ; 4,28-3,96 (m, 32H, 16* CH_2) ; 1,22-1,10 (m, 12H, 4* $\text{CH}_3(\text{ester})$) ; 0,92-0,80 (m, 6H, 2* $\text{CH}_3(\text{butyle})$).

vi) Synthèse du 2,2'-(2-(2-(2-(bis(carboxylatométhyl)amino)-5-(dibutylamino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de sodium **43**



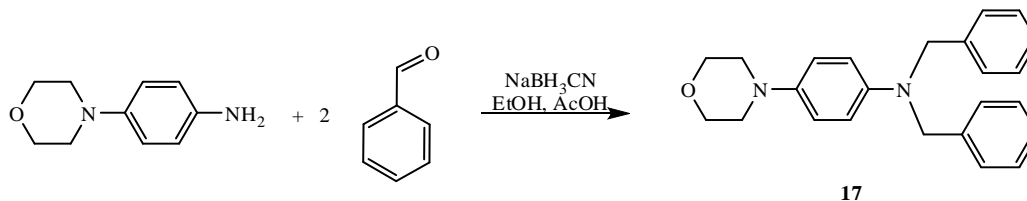
M	$\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_{10}$	NaOH	éthanol	$\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{Na}_4$
n	711,83	40,00		691,59
m	$1,97 \cdot 10^{-2}$ mmol	$7,87 \cdot 10^{-2}$ mmol		
C	14 mg	3,15 mg		
V		$3,20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$		
nb. d'éq.	1	984 μL	1 mL	
		4		

14 mg ($1,97 \cdot 10^{-2}$ mmol, 1 éq.) de 2,2'-(2-(2-(2-(bis(2-éthoxy-2-oxoéthyl)amino)-5-(dibutylamino)phénoxy)éthoxy)phénylazanediyldiacétate de diéthyle **46** dissout dans 1 mL d'éthanol et 984 μL ($3,15$ mg, $7,87 \cdot 10^{-2}$ mmol, 4 éq.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à $3,20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ préalablement désoxygénés à l'argon sont mélangés et chauffés à reflux sous argon pendant 2 heures. L'avancée de la réaction est suivie par CCM (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30). La réaction est terminée après 2 heures de chauffage à reflux. Le brut réactionnel est utilisé directement pour les études électrochimiques.

5) Préparation des molécules-modèles

a) Synthèse de la 4-morpholino-*N,N*-dibenzylaniline **17**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savoia *et al.*,¹¹³ Gmeiner *et al.*,¹¹⁴ et Tourwé *et al.*¹¹⁵



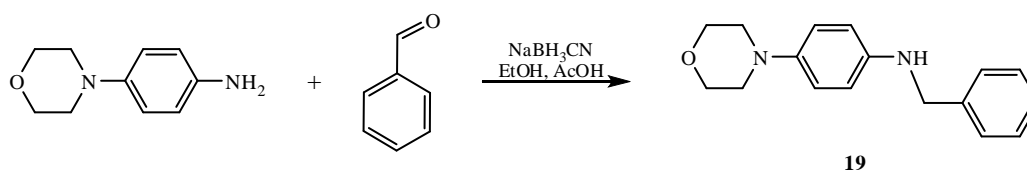
	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O	C ₇ H ₆ O	NaBH ₃ CN	AcOH	EtOH	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O
M	178,23	106,12	62,84	60,05		268,35
n	0,56 mmol	1,40 mmol	0,56 mmol	5,05 mmol		
m	100 mg	149 mg	35 mg	303 mg		
d		1,045		1,049		
V		142 μL		289 μL	5 mL	
nb. d'éq.	1	2,5	1	9		

100 mg (0,56 mmol, 1 éq.) de 4-morpholinoaniline sont dissous dans 5 mL d'éthanol absolu et placés sous argon. 142 μL (149 mg, 1,40 mmol, 2,5 éq.) de benzaldéhyde puis 289 μL (303 mg, 5,05 mmol, 9 éq.) d'acide éthanoïque sont ajoutés. La solution jaune-brun résultante est agitée environ 30 minutes à température ambiante sous argon et à l'abri de la lumière. 35 mg (0,56 mmol, 1 éq.) de cyanoborohydrure de sodium ont alors ajoutés. La solution vire au rouge-bordeaux. Le milieu réactionnel est agité une nuit à température ambiante sous argon. Le milieu réactionnel est amené à pH ≈ 10 par ajout de solution aqueuse de soude. Après ajout d'eau et de dichlorométhane, la phase aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 96 mg du produit souhaité **17** sont isolés. (rendement = 48 %)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 7,37-7,19 (m, 10H, 10*H_{benzyle}) ; 6,80 (d, 2H, 2*H_{phénylènediamine}, J = 9,0 Hz) ; 6,70 (d, 2H, 2*H_{phénylènediamine}, J = 9,0 Hz) ; 4,57 (s, 4H, 2*CH₂ benzylique) ; 3,81 (t, 4H, 2*CH₂ morpholine, J = 4,5 Hz) ; 2,99 (t, 4H, 2*CH₂ morpholine, J = 4,5 Hz).

b.) Synthèse de la 4-morpholino-*N*-benzylaniline **19**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savoia *et al.*,¹¹³ Gmeiner *et al.*,¹¹⁴ et Tourwé *et al.*¹¹⁵



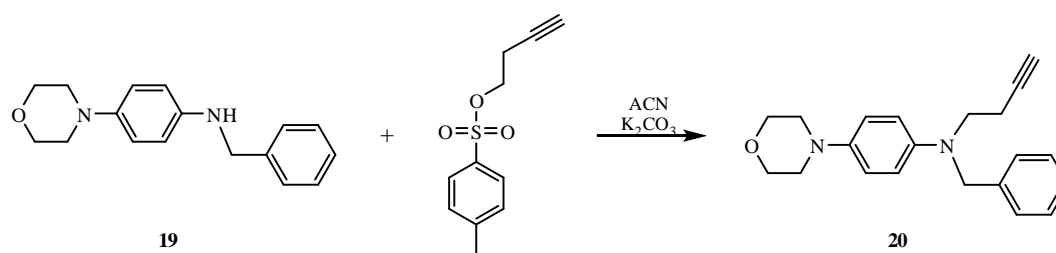
	$C_{10}H_{14}N_2O$	C_7H_6O	$NaBH_3CN$	$AcOH$	$EtOH$	$C_{17}H_{20}N_2O$
M	178,23	106,12	62,84	60,05		268,35
n	0,561 mmol	0,561 mmol	1,12 mmol	2,81 mmol		
m	100 mg	59,5 mg	70,5 mg	168 mg		
d		1,045		1,049		
V		57 μ L		161 μ L	5 mL	
nb. d'éq.	1	1	2	5		

100 mg (0,561 mmol, 1 éq.) de 4-morpholinoaniline sont dissous dans 5 mL d'éthanol absolu et placés sous argon. 57 μ L (59,5 mg, 0,561 mmol, 1 éq.) de benzaldéhyde puis 161 μ L (168 mg, 2,81 mmol, 5 éq.) d'acide éthanoïque sont ajoutés. Un précipité jaune vif apparaît. Le milieu réactionnel est agité 1 heure à température ambiante sous argon. 70,5 mg (1,12 mmol, 2 éq.) de cyanoborohydrure de sodium ont alors ajoutés. Le précipité se redissout et la solution vire au bordeaux. Le milieu réactionnel est agité 30 minutes à température ambiante sous argon. Le milieu réactionnel est amenée à pH \approx 10 par ajout de solution aqueuse de soude. Après ajout d'eau et de dichlorométhane, la phase aqueuse est extraite 3 fois par du dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 135 mg du produit souhaité **19** sont isolés. (rendement = 89 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 7,37-7,20 (m, 5H, 5* $H_{benzyle}$) ; 6,83 (d, 2H, 2* $H_{phénylènediamine}$, J = 8,8 Hz) ; 6,63 (d, 2H, 2* $H_{phénylènediamine}$, J = 8,8 Hz) ; 4,26 (s, 2H, CH_2 benzylique) ; 3,80 (t, 4H, 2* CH_2 morpholine, J = 4,6 Hz) ; 2,96 (t, 4H, 2* CH_2 morpholine, J = 4,6 Hz).

c.) Synthèse de la 4-morpholino-*N*-benzyl-*N*-but-3-ynylaniline **20**

Cette synthèse a été adaptée d'après Patel *et al.*¹¹⁶



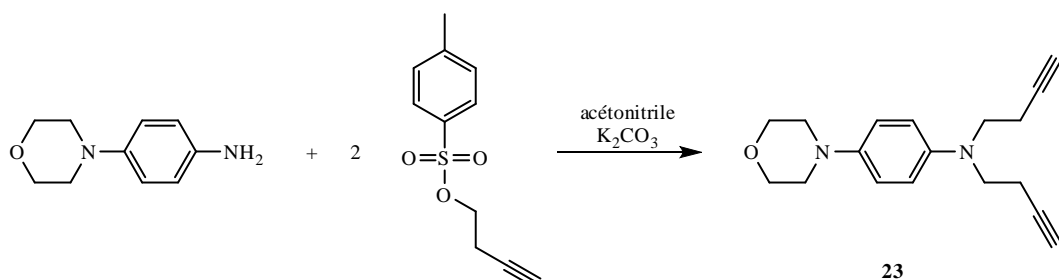
M	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O	C ₁₁ H ₁₂ O ₃ S	K ₂ CO ₃	ACN	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O
n	268,35	224,28	1138,21		320,42
m	0,186 mmol	1,86 mmol	1,86 mmol	2 mL	
d	50 mg	418 mg	258 mg		
V		1,27			
nb. d'éq.	1	329 μL	10		10

50 mg (0,186 mmol, 1 éq.) de 4-morpholino-*N*-benzylaniline **19** sont mis en solution dans 2 mL d'acétonitrile et placés sous argon. 329 μL (418 mg, 1,86 mmol, 10 éq.) de *para*-toluènesulfonate de but-3-ynyle puis 258 mg (1,86 mmol, 10 éq.) de carbonate de potassium sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 1 nuit. Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur fritté, puis le filtrat est concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 13 mg du produit souhaité **20** sont isolés sous forme d'une huile jaune clair. (rendement = 59 %)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 7,38-7,22 (m, 5H, 5*H_{benzyle}) ; 6,84 (d, 2H, 2*H_{phénylènediamine}, J = 8,9 Hz) ; 6,69 (d, 2H, 2*H_{phénylènediamine}, J = 8,9 Hz) ; 4,52 (s, 2H, CH₂ benzylque) ; 3,84 (t, 4H, 2*CH₂ morpholine, J = 4,5 Hz) ; 3,58 (t, 2H, CH₂-O, J = 7,4 Hz) ; 3,02 (t, 4H, 2*CH₂ morpholine, J = 4,5 Hz) ; 2,51-2,45 (m, 2H, CH₂) ; 2,01-1,97 (m, 1H, H_{alcyne}).

d) Synthèse de la 4-morpholino-*N,N'*-dibut-3-ynylaniline **23**

Cette synthèse a été adaptée d'après Savéant *et al.*.¹¹²



M	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O	C ₁₁ H ₁₂ O ₃ S	K ₂ CO ₃	ACN	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O
n	178,23	224,28	138,31		282,38
m	0,842 mmol	8,42 mmol	8,42 mmol		
d	150 mg	1,888 g	1,163 g		
V		1,27			
		1,486 mL		10 mL	
nb. d'éq.	1	10	10		

150 mg (0,842 mmol, 1 éq.) de 4-morpholinoaniline sont mis en solution dans 10 mL d'acétonitrile et placés sous argon. 1,163 g (8,42 mmol, 10 éq.) de carbonate de potassium puis 1,486 mL (1,888 g, 8,42 mmol, 10 éq.) de *para*-toluènesulfonate de but-3-ynyle sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 8 nuits. Après refroidissement, le milieu réactionnel est filtré sur fritté, puis le filtrat est concentré sous vide. Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éther de pétrole/acétate d'éthyle 70/30), 172 mg du produit souhaité **23** sont isolés sous forme d'une huile jaune clair. (rendement = 73 %)

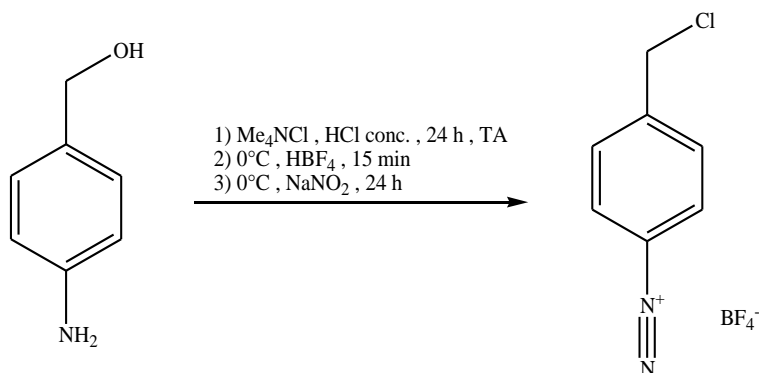
RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 6,87 (S_{large}, 2H, 2*H_{phénylènediamine}) ; 6,68 (S_{large}, 2H, 2*H_{phénylènediamine}) ; 3,86 (S_{large}, 4H, 2*CH₂ morpholine) ; 3,51 (S_{large}, 4H, 2*CH₂-O) ; 3,03 (S_{large}, 4H, 2*CH₂ morpholine) ; 2,47-2,41 (m, 4H, 2*CH₂) ; 2,00 (S_{large}, 1H, H_{alcyne}).

6) Préparation d'auxiliaires pour le greffage sur électrode

a) Dérivés halogénure-diazonium

i) Synthèse du tétrafluoroborate de 4-chlorobenzoldiazonium

Cette synthèse a été reproduite d'après Pinson *et al.*¹¹⁸



	C ₇ H ₉ NO	Me ₄ NCl	HCl conc.	HBF ₄	NaNO ₂	C ₇ H ₆ N ₂ ClBF ₄
M	123,15	109,60			69,00	240,40
n	8,13 mmol	13,5 mmol	0,12 mol	47,6 mmol	8,99 mmol	
m	1,0 g	1,48 g			0,62 g	
éq.	1	1,66	14,4	5,9	1,1	
C			12 mol.L ⁻¹	34%		
V			10 mL	10 mL		

Dans un ballon, 1 g d'alcool 4-aminobenzyle (8,13 mmol, 1 éq.) et 1,48 g de chlorure de tétraméthylammonium (13,5 mmol, 1,66 éq.) sont mis en solution dans 10 mL d'acide chlorhydrique concentré (0,12 mol, 14,4 éq.). La solution brune résultante est agitée à température ambiante 24 h sous argon et à l'obscurité. La solution est alors brun foncé et un précipité clair est apparu. Le milieu réactionnel est refroidi à 0°C, puis 10 mL d'acide tétrafluoroborique à 34% (47,6 mmol, 5,9 éq.) refroidis à 0°C sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité 15 min puis 0,62 g de nitrite de sodium (8,99 mmol, 1,1 éq.) dissous dans le minimum d'eau sont ajoutés. Le milieu réactionnel est de nouveau agité 20 min, puis est placé au réfrigérateur pour la nuit. Le milieu réactionnel est alors filtré sous vide et le solide brun clair obtenu est lavé avec une solution aqueuse d'acide tétrafluoroborique à 5% puis du méthanol et enfin de l'éther diéthylique pour donner 1,855 g d'un solide beige.

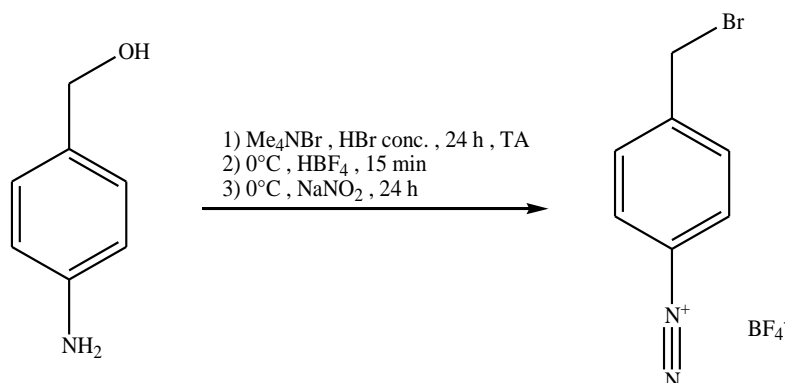
(rendement = 95%)

RMN ¹H (CD₃CN, 250 MHz) : δ (ppm) 8,46 (d, 2H, J=8,7 Hz, aromatique) ; 7,95 (d, 2H, J=8,7 Hz, aromatique) ; 4,85 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (CD₃CN, 62 MHz) : δ (ppm) 133,79 (C_{aromatique}) ; 132,47 (C_{aromatique}) ; 56,10 (C_{benzylique}).

ii) Synthèse du tétrafluoroborate de 4-bromobenzylidiazonium

Cette synthèse a été adaptée d'après Pinson *et al.*.¹¹⁸



	C ₇ H ₉ NO	Me ₄ NBr	HBr conc.	HBF ₄	NaNO ₂	C ₇ H ₆ N ₂ BrBF ₄
M	123,15	154,05			69,00	284,85
n	8,13 mmol	13,5 mmol		47,6 mmol	8,99 mmol	
m	1,0 g	2,08 g			0,62 g	
nb. d'éq.	1	1,66		5,9	1,1	
C				34%		
V			10 mL	10 mL		

Dans un ballon, 1 g d'alcool 4-aminobenzyle (8,13 mmol, 1 éq.) et 1,48 g de bromure de tétraméthylammonium (13,5 mmol, 1,66 éq.) sont mis en solution dans 10 mL d'acide bromhydrique concentré. La solution brune résultante est agitée à température ambiante 24 h sous argon et à l'obscurité. La solution est alors brun foncé et un précipité clair est apparu. Le milieu réactionnel est refroidi à 0°C, puis 10 mL d'acide tétrafluoroborique à 34% (47,6 mmol, 5,9 éq.) refroidis à 0°C sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité 15 min puis 0,62 g de nitrite de sodium (8,99 mmol, 1,1 éq.) dissous dans le minimum d'eau sont ajoutés. Le milieu réactionnel est de nouveau agité 20 min, puis est placé au réfrigérateur pour la nuit. Le milieu réactionnel est alors filtré sous vide et le solide brun clair obtenu est lavé avec une solution aqueuse d'acide tétrafluoroborique à 5% puis du méthanol et enfin de l'éther diéthylique pour donner 2,262 g d'un solide beige. (rendement = 98%)

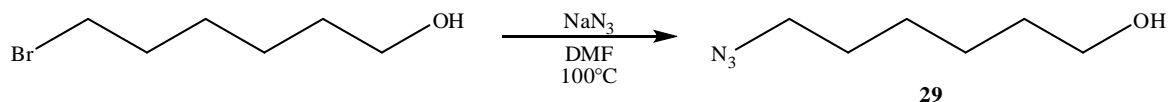
RMN ¹H (CD₃CN, 250 MHz) : δ (ppm) 8,43 (d, 2H, J=8,8 Hz, aromatique) ; 7,94 (d, 2H, J=8,8 Hz, aromatique) ; 4,71 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (CD₃CN, 62 MHz) : δ (ppm) 133,91 (C_{aromatique}) ; 133,09 (C_{aromatique}) ; 56,10 (C_{benzylique}).

b.) Dérivé thiol-azoture

i.) Synthèse du 6-azoturohexan-1-ol **29**

Cette synthèse a été adaptée d'après Chidsey *et al.*.⁸⁵



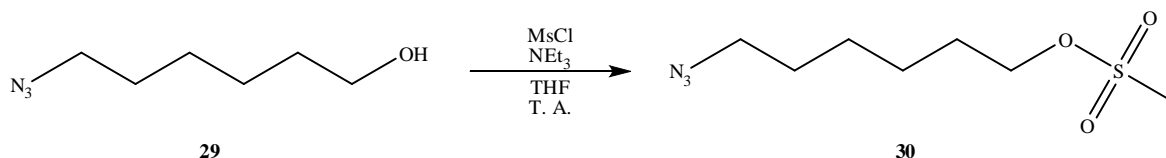
	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{OBr}$	NaN_3	DMF	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$
M	181,07	65,02		143,19
n	2,76 mmol	3,04 mmol		
m	500 mg	197 mg		
d	1,384			
V	361 μL		3 mL	
nb. d'éq.	1	1,1		

197 mg (3,04 mmol, 1,1 éq.) d'azoture de sodium sont mis en solution dans 3 mL de DMF et placés sous argon. 361 μL (3,04 mmol, 197 mg, 1,1 éq.) de 6-bromohexan-1-ol sont ajoutés. Le milieu réactionnel est alors chauffé à reflux pendant une nuit. Après refroidissement, de l'eau et du diéthyléther sont ajoutés au milieu réactionnel. La phase aqueuse est extraite trois fois par du diéthyléther. Les phases organiques réunies sont lavées une fois à l'eau, puis séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. 307 mg du produit souhaité **29** sont alors isolés sous forme d'une huile jaune pâle. (rendement = 78 %)

RMN ^1H (CDCl_3 , 250 MHz) : δ (ppm) 3,64 (t, 2H, CH_2 , $J = 6,5$ Hz) ; 3,26 (t, 2H, CH_2 , $J = 6,8$ Hz) ; 1,57 (m, 4H, 2^*CH_2) ; 1,40 (m, 4H, 2^*CH_2).

ii) Synthèse du mésylate de 6-azoturohex-1-yle **30**

Cette synthèse a été adaptée d'après Chidsey *et al.*.⁸⁵



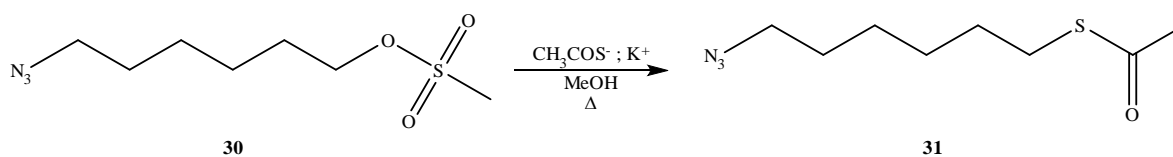
	C ₆ H ₁₃ N ₃ O	CH ₃ O ₂ SOCl	C ₆ H ₁₅ N	DMF	C ₇ H ₁₅ N ₃ O ₃ S
M	143,19	114,55	101,19		221,29
n	1,40 mmol	3,77 mmol	3,84 mmol		
m	200 mg	432 mg	389 mg		
d		1,480	0,726		
V		292 μL	535 μL	3 mL	
nb. d'éq.	1	2,7	2,75		

200 mg (1,40 mmol, 1 éq.) de 6-azoturohexan-1-ol **29** sont mis en solution dans 5 mL de THF et placés sous argon. 292 μL (3,77 mmol, 432 mg, 2,7 éq.) de chlorure de mésyle sont alors ajoutés. Une solution de triéthylamine dans le THF est préparée en diluant 535 μL (3,84 mmol, 389 mg, 2,75 éq.) de triéthylamine dans 1 mL de THF. Cette solution est ajoutée goutte à goutte au milieu réactionnel. Il y a apparition concomitante d'un précipité. Le milieu réactionnel est alors agité 2 heures à température ambiante sous argon. De l'eau est ensuite ajoutée au milieu réactionnel : le précipité se redissout. La phase aqueuse est extraite 3 fois par du diéthyléther. Les phases organiques réunies sont lavées une fois avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 mol.L⁻¹, puis une fois avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase organique est alors séchée sur sulfate de sodium anhydre, filtrée et concentrée sous vide. 315 mg du produit souhaité **30** sont alors isolés sous forme d'une huile jaune pâle. (rendement quantitatif)

RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ (ppm) 4,22 (t, 2H, CH₂, J = 6,4 Hz) ; 3,28 (t, 2H, CH₂, J = 6,7 Hz) ; 3,00 (s, 3H, CH₃) ; 1,76 (m, 4H, 2*CH₂) ; 1,43 (m, 4H, 2*CH₂).

iii) Synthèse du thioacétate de 6-azoturohex-1-yle **31**

Cette synthèse a été adaptée d'après Chidsey *et al.*.⁸⁵



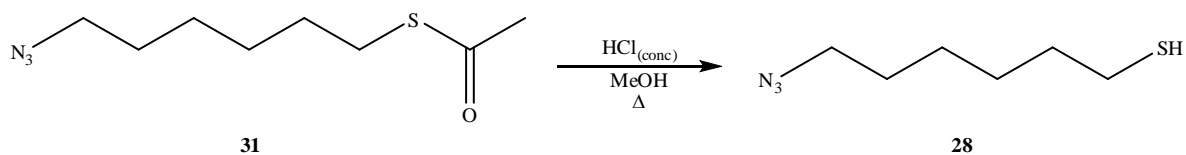
	$C_7H_{15}N_3O_3S$	C_2H_3OSK	méthanol	$C_8H_{15}N_3OS$
M	221,29	114,21		201,30
n	0,90 mmol	1,81 mmol		
m	200 mg	206 mg	10 mL	
nb. d'éq.	1	2		

200 mg (0,90 mmol, 1 éq.) de mésylate de 6-azoturohexyle **30** sont mis en solution dans 10 mL de méthanol et placés sous argon. 206 mg (1,81 mmol, 2 éq.) de thiosulfate de potassium sont ajoutés. Le milieu réactionnel est alors chauffé à reflux sous argon pendant 3 heures, puis, après refroidissement, concentré sous vide. Le résidu solide résultant est ensuite repris dans un mélange eau/diéthyléther. La phase aqueuse est extraite trois fois par du diéthyléther. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. 175 mg du produit souhaité **31** sont alors isolés sous forme d'une huile jaune vif. (rendement = 96 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 3,22 (t, 2H, CH_2 , $J = 6,8$ Hz) ; 2,83 (t, 2H, CH_2 , $J = 7,2$ Hz) ; 2,29 (s, 3H, CH_3) ; 1,56 (m, 4H, $2*CH_2$) ; 1,36 (m, 4H, $2*CH_2$).

iv) Synthèse du 6-azoturohexane-1-thiol **28**

Cette synthèse a été adaptée d'après Chidsey *et al.*.⁸⁵



	$C_8H_{15}N_3OS$	$HCl_{(concentré)}$	méthanol	$C_6H_{13}N_3S$
M	201,30	36,46		159,26
n	0,745 mmol	7,45 mmol		
m	150 mg	272 mg		
C		12,178 M		
V		612 μL	10 mL	
nb. d'éq.	1	10		

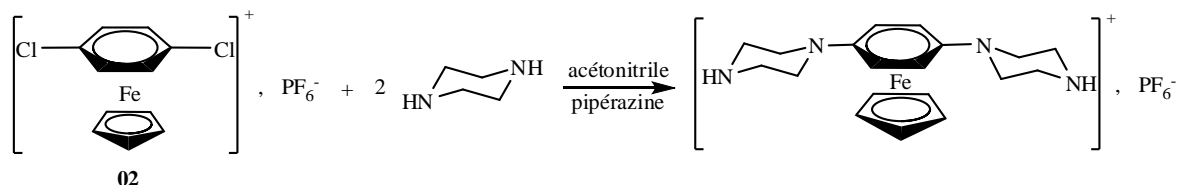
150 mg (0,745 mmol, 1 éq.) de thioacétate de 6-azoturohex-1-yle **31** sont mis en solution dans 10 mL de méthanol et placés sous argon. 612 μL (7,45 mmol, 272, mg, 10 éq.) de solution aqueuse concentrée d'acide chlorhydrique sont ajoutés. Le milieu réactionnel est alors chauffé à reflux sous argon pendant 4,5 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est dilué par ajouts d'eau avec précaution. Du diéthyléther est ensuite ajouté. La phase aqueuse est extraite trois fois par du diéthyléther. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre, filtrées et concentrées sous vide. 124 mg du produit souhaité **28** sont alors isolés sous forme d'une huile jaune vif. (rendement quantitatif)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 3,26 (t, 2H, CH_2 , $J = 6,8$ Hz) ; 2,53 (q, 2H, CH_2 , $J = 7,3$ Hz) ; 1,61 (m, 4H, $2*CH_2$) ; 1,37 (m, 4H, $2*CH_2$).

7) Préparation d'un composé utilisé comme fil moléculaire

a) Synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1,4\text{-di}(\text{pipérazin-1-yl})\text{benzène})\text{fer(II)})$

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



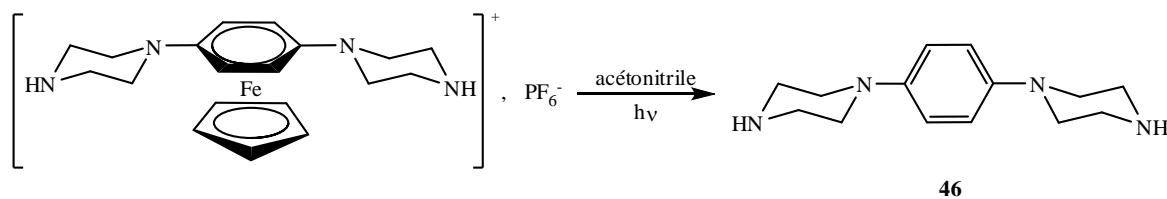
	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{FePF}_6$	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_2$	acétonitrile	$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{FeN}_4\text{PF}_6$
M	412,90	86,14		512,26
n	2,66 mmol	14,29 mmol		
m	1,100 g	1,229 g	20 mL	
nb d'éq.	1	5,4		

Durant toute la manipulation le milieu réactionnel est protégé de la lumière par une feuille d'aluminium enveloppant les récipients. Dans un ballon purgé à l'argon, 1,100 g (2,66 mmol) de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentadiényl}](\eta^6\text{-}(1,4\text{-dichlorobenzène})\text{fer(II)})$ et 1,229 g (14,29 mmol) de pipérazine sont dissous dans 20 mL d'acétonitrile anhydre. La solution est chauffée à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par RMN. Après 24 h de chauffage la réaction est terminée. Le milieu réactionnel est utilisé directement pour la synthèse du 1,4-di(pipérazin-1-yl)benzène **46**.

RMN ^1H (CD_3CN , 250 MHz) données sélectionnées : δ (ppm) 5,50 (s, 4H, phényle) ; 4,87 (s, 5H, cyclopentadiényle).

b.) Synthèse du 1,4-di(pipérazin-1-yl)benzène **46**

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*.⁹¹



	$C_{19}H_{27}FeN_4PF_6$	acétonitrile	$C_{14}H_{22}N_4$
M	512,26		246,35
n	(2,66 mol)	+ 50 mL	
m	(1,363 g)		

Au mélange réactionnel issu de la synthèse de l'hexafluorophosphate de $[\eta^5\text{-cyclopentdiényl}](\eta^6\text{-}(1,4\text{-di(pipérazin-1-yl)benzène)fer(II)})$ sont ajoutés 50 mL d'acétonitrile. La solution obtenue est irradiée 5 heures à $\lambda = 419$ nm. Le précipité obtenu est alors filtré et rincé avec de petites quantités d'acétonitrile, puis le filtrat est concentré sous vide pour donner une huile brune. Après purification de cette huile par chromatographie sur silice (dichlorométhane/méthanol/triéthylamine : 70/25/5) 496 mg d'un solide blanc sont isolés. (rendement des deux étapes = 76 %)

RMN 1H (CD_3CN , 250 MHz) : δ (ppm) 6,84 (s, 4H, phényle) ; 2,91 (m, 8H, pipérazinyl- CH_2) ; 2,89 (m, 8H, pipérazinyl- CH_2).

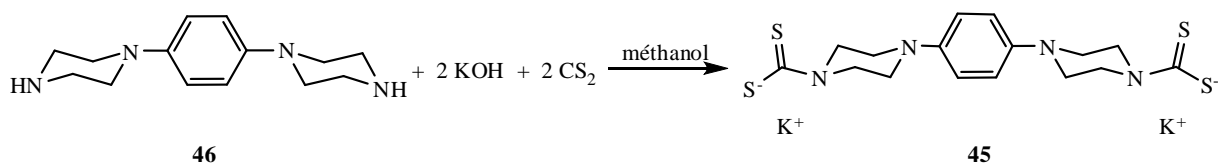
RMN ^{13}C (CD_3CN , 62 MHz) : δ (ppm) 118,04 (C_{ar}) ; 52,09 (pipérazinyl- CH_2) ; 46,83 pipérazinyl- CH_2).

IR (ATR) : ν (cm^{-1}) 3271 w (ν_{N-H}) ; 3203 w (ν_{N-H}) ; 2950 w (ν_{C-H}) ; 2815 m (ν_{C-H}) ; 2361 w ; 1514 s ($\nu_{C_{aromatique}}$) ; 1443 m ; 1426 s ; 1376 m ; 1326 m ; 1276 s ; 1243 s ; 1146 m ; 1122 m ; 1053 w ; 995 m ; 913 s ; 827 m ; 811 s ; 795 m ; 702 w ; 664 w ; 631 m.

MS (EI) : m/z 247 $[M + H]^+$.

c) Synthèse du 4,4'-(1,4-phénylène)dipipérazine-1-carbodithioate de potassium **45**

Cette synthèse a été adaptée d'après Zagidullin *et al.*.⁹⁴



	$C_{14}H_{22}N_4$	KOH	CS_2	$C_{16}H_{20}N_4S_4K_2$
M	246,35	56,11	76,15	474,81
n	0,205 mmol	0,820 mmol	0,820 mmol	
m	50 mg			
C		4,66 mol.L ⁻¹	4,66 mol.L ⁻¹	CH ₃ OH
V		174,4 μL	174,4 μL	2 mL
éq	1	4	4	

50 mg (0,205 mmol, 1 éq.) de 1,4-di(pipérazin-1-yl)benzène **46** sont dissous dans 2 mL de méthanol et 174,4 μL d'une solution de potasse dans le méthanol à 4,66 mol.L⁻¹. 174,4 μL d'une solution de disulfure de carbone dans le méthanol à 4,66 mol.L⁻¹ sont alors ajoutés : il y a très rapidement apparition d'un précipité blanc. Après 20 min d'agitation, 5 mL d'eau sont ajoutés pour redissoudre le précipité. Le milieu réactionnel est alors concentré sous vide pour donner 106 mg d'un solide blanc, composé du produit souhaité **45** et de la potasse en excès.

RMN ¹H (D₂O, 250 MHz) : δ (ppm) 7,11 (s, 4H, phényle) ; 4,46 (t, 8H, J = 4,8 Hz, pipérazinyl-CH₂) ; 3,13 (t, 8H, J = 4,8 Hz, pipérazinyl-CH₂).

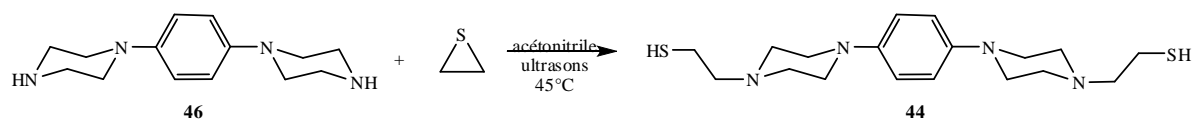
RMN ¹H (D₂O, 62 MHz) : δ (ppm) 209,76 (CS₂) ; 145,94 (C_{ar}-N) ; 119,89 (C_{ar}-H) ; 51,02 (pipérazinyl-CH₂) ; 50,97 (pipérazinyl-CH₂).

IR (ATR) : ν (cm⁻¹) 3320 w ; 2820 w (ν_{C-H}) ; 2360 w ; 1642 w ; 1513 m (ν_{CCaromatique}) ; 1411 m ; 1382 w ; 1358 w ; 1327 w ; 1264 m ; 1216 s ; 1149 w ; 1106 m ; 1048 m ; 1009 s ; 921 s ; 827 w ; 699 w.

MS (FAB) : m/z 198 [M - 2 K]²⁻/2 ; 397 [M - 2 K + H]⁻.

d.) Synthèse du 2,2'-(4,4'-(1,4-phénylène)bis(pipérazine-4,1-diyl))diéthanethiol **44**

Cette synthèse a été adaptée d'après Pearson *et al.*⁹⁵



	$C_{14}H_{22}N_4$	C_2H_4S	acétonitrile	$C_{18}H_{30}N_4S_2$
M	246,35	60,12		366,66
n	0,101 mmol	2 * 0,203 mmol		
m	25 mg	2 * 12 mg		
d		1,01		
V		2 * 12,1 μ L	5 mL	
éq.	1	2 + 2		

25 mg (0,101 mmol, 1 éq.) de 1,4-di(pipérazin-1-yl)benzène **46** sont dissous dans 5 mL d'acétonitrile anhydre et placés sous argon. 12,1 μ L (12 mg, 0,203 mmol, 2 éq.) de thiirane sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est ensuite ultrasoniqué sous argon à 45°C pendant 1 h 45. La réaction est suivie par CCM (dichlorométhane/mélange méthanol-ammoniaque : 90/10 ; mélange méthanol/ammoniaque à 30% 70/30). Après 1 h 45 la réaction n'est pas terminée. 12,1 μ L (12 mg, 0,203 mmol, 2 éq.) supplémentaires de thiirane sont alors ajoutés. Le milieu réactionnel est ensuite de nouveau ultrasoniqué sous argon à 45°C pendant 1 h 45. La réaction est terminée. Le milieu réactionnel est alors filtré sur fritté, et la solution est concentrée sous vide. Le résidu résultant est purifié par chromatographie sur colonne de silice (dichlorométhane/mélange méthanol-ammoniaque : 90/10 ; mélange méthanol/ammoniaque à 30% 70/30) pour donner 6 mg du produit désiré **44**. (rendement = 16 %)

RMN 1H ($CDCl_3$, 250 MHz) : δ (ppm) 6,88 (s, 4H, phényle) ; 3,12 (m, 8H, pipérazinyl- CH_2) ; 2,90 (m, 4H, 2* CH_2) ; 2,75 (m, 4H, 2* CH_2) ; 2,66 (m, 8H, pipérazinyl- CH_2).

III) Méthodes de traitement employées en spectrophotométrie UV-visible

1) Méthode de Benesi-Hildebrand ¹⁰⁵

Soit la réaction considérée : $L + M \rightarrow [LM]$

On écrit le tableau d'avancement de la réaction : soit x l'avancement à l'équilibre.

	L	M	[LM]
$t = 0$	C°	C_M	0
$t_{\text{équilibre}}$	$C^\circ(1-x)$	C_M	$x C^\circ$

On en déduit la constante de dissociation K_d :

$$K_d = \frac{C_M C^\circ (1-x)}{x C^\circ} = \frac{C_M (1-x)}{x} = \frac{1}{K_a}$$

soit :

$$x = \frac{C_M}{K_d + C_M} = \frac{K_a C_M}{K_a C_M + 1}$$

Par ailleurs, d'après la loi de Beer-Lambert, et en considérant que $A_M = 0$:

$$A = A_{[LM]} + A_L$$

$$A = l(\epsilon_L C_L + \epsilon_{[LM]} C_{[LM]})$$

$$A = l\epsilon_L C^\circ (1-x) + l\epsilon_{[LM]} x C^\circ$$

$$A = l\epsilon_L C^\circ + lx C^\circ (\epsilon_{[LM]} - \epsilon_L)$$

A $t = 0$, on a :

$$A^\circ = l\epsilon_L C^\circ$$

On en déduit donc :

$$\Delta A = A - A^\circ = lx C^\circ (\epsilon_{[LM]} - \epsilon_L)$$

soit, en posant $\epsilon_{[LM]} - \epsilon_L = \Delta\epsilon$:

$$\Delta A = A - A^\circ = lx C^\circ \Delta\epsilon$$

En remplaçant x par son expression dans l'équation précédente, on obtient :

$$\Delta A = \frac{l C^\circ \Delta\epsilon K_a C_M}{K_a C_M + 1}$$

soit :

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{K_a C_M + 1}{l \Delta\epsilon C^\circ K_a C_M}$$

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{l\Delta\epsilon C^\circ} + \frac{1}{C_M} \frac{1}{l\Delta\epsilon C^\circ} \frac{1}{K_a}$$

On en conclut que le tracé de :

$$\frac{1}{\Delta A} = f\left(\frac{1}{C_M}\right)$$

est une droite d'ordonnée à l'origine y° :

$$y^\circ = \frac{1}{l\Delta\epsilon C^\circ}$$

et de pente p :

$$p = \frac{1}{l\Delta\epsilon C^\circ K_a} = \frac{y^\circ}{K_a}$$

si l'équilibre considéré a bien une stœchiométrie 1 : 1.

2) Méthode de Hill ¹⁰³

Soit la réaction considérée : $L + M \rightarrow [LM]$

On se place en présence d'un tampon en M : C_M est constante.

On écrit le tableau d'avancement de la réaction : soit x l'avancement à l'équilibre.

	L	M	[LM]
$t = 0$	C°	C_M	0
$t_{\text{équilibre}}$	$C^\circ(1-x)$	C_M	$x C^\circ$

On en déduit la constante de dissociation K_d :

$$K_d = \frac{C_M C^\circ (1-x)}{x C^\circ} = \frac{C_M (1-x)}{x}$$

soit :

$$x = \frac{C_M}{K_d + C_M}$$

Par ailleurs, d'après la loi de Beer-Lambert, et en considérant que $A_M = 0$:

$$A = A_{[LM]} + A_L$$

$$A = l(\epsilon_L C_L + \epsilon_{[LM]} C_{[LM]})$$

$$A = l\epsilon_L C^\circ (1-x) + l\epsilon_{[LM]} x C^\circ$$

D'autre part, si $x = 0$, $A_0 = A_L = l\epsilon_L C^\circ$, soit

$$\varepsilon_L = \frac{A_0}{IC^\circ}$$

A finit par atteindre une valeur limite A_{lim} . On suppose qu'alors $x = 1$, soit

$$A_{lim} = I\varepsilon_{[LM]}C^\circ, \text{ soit}$$

$$\varepsilon_{[LM]} = \frac{A_{lim}}{IC^\circ}$$

On en déduit : $A = A^\circ(1 - x) + A_{lim}x$, soit :

$$A^\circ - A = x(A^\circ - A_{lim}) \quad \text{et} \quad A - A_{lim} = (1 - x)(A^\circ - A_{lim})$$

On en tire :

$$\frac{A^\circ - A}{A - A_{lim}} = \frac{x}{1 - x}$$

$$\log \frac{A^\circ - A}{A - A_{lim}} = \log \frac{x}{1 - x}$$

$$\log \frac{A^\circ - A}{A - A_{lim}} = \log x - \log(1 - x) = \log \frac{C_M}{K_d + C_M} - \log\left(1 - \frac{C_M}{K_d + C_M}\right)$$

Soit :

$$\log \frac{A^\circ - A}{A - A_{lim}} = \log C_M - \log K_d$$

On en conclut que le tracé de

$$\log \frac{A^\circ - A}{A - A_{lim}} = f(\log C_M)$$

est une droite de pente 1 et coupant l'axe des abscisses à $\log C_M = \log K_d$ si :

- un seul équilibre est en jeu
- l'équilibre considéré a bien une stœchiométrie 1 : 1
- on atteint bien l'avancement maximum $x = 1$.

Références bibliographiques

1. E. L. Que, D. W. Domaille and C. J. Chang, *Chem. Rev.*, 2008, **10**, 1517-1549.
2. G. C. R. Ellis-Davies, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 1603 - 1613.
3. S. Ringer, *J. Physiol.*, 1883, **4**, 29-45.
4. S. Ringer, *J. Physiol.*, 1883, **4**, 222-225.
5. S. Ringer and D. W. Buxton, *J. Physiol.*, 1887, **4**, 15-19.
6. M. J. Berridge, P. Lipp and M. D. Bootman, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2000, **1**, 11-21.
7. M. J. Berridge, *Nature*, 1997, **386**, 759-760.
8. M. J. Berridge, M. D. Bootman and P. Lipp, *Nature*, 1998, **395**, 645-648.
9. M. D. Bootman, M. J. Berridge and P. Lipp, *Cell*, 1997, **91**, 367-373.
10. M. J. Berridge, M. D. Bootman and H. L. Roderick, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2003, **4**, 517-529.
11. J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1988, **27**, 89-112.
12. P. D. Beer, P. A. Gale and G. Z. Chen, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **186**, 3-36.
13. P. D. Beer and E. J. Hayes, *Coord. Chem. Rev.*, 2003, **240**, 167-189.
14. R. Y. Tsien, *Fluorescent Chemosensors for Ions and Molecule Recognition*, 1993, **538**, 130-146.
15. L. Fabbrizzi and A. Poggi, *Chem. Soc. Rev.*, 1995, 197-202.
16. R. Y. Tsien and R. S. Zucker, *Biophys. J.*, 1986, **50**, 843-853.
17. S. R. Adams, J. P. Y. Kao, G. Grynkiewicz, A. Minta and R. Y. Tsien, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, **110**, 3212 - 3220.
18. S. R. Adams, J. P. Y. Kao and R. Y. Tsien, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 7957-7968.
19. G. C. R. Ellis-Davies and R. J. Barsotti, *Cell Calcium*, 2006, **39**, 75-83.
20. M. M. Martin, P. Plaza, Y. H. Meyer, F. Badaoui, J. Bourson, J.-P. Lefèvre and B. Valeur, *J. Phys. Chem.*, 1996, **100**, 6879 - 6888.
21. S. R. Miller, D. A. Gustowski, Z.-h. Chen, G. W. Gokel, L. Echegoyen and A. E. Kaifer, *Anal. Chem.*, 1988, **60**, 2021-2024.
22. A. E. Kaifer and S. Mendoza, in *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, ed. G. W. Gokel, Elsevier, New-York, 1996, pp. 701-732.
23. T. Minami, S. Shinkai and O. Manabe, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 5167-5170.
24. P. L. Boulas, M. Gómez-Kaifer and L. Echegoyen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1998, **37**, 216-247.
25. A. Kaifer, L. Echegoyen, D. A. Gustowski, D. M. Goli and G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 7168-7169.
26. C. R. Morgan, D. A. Gustowski, T. P. Cleary, L. Echegoyen and G. W. Gokel, *J. Org. Chem.*, 1984, **49**, 5008-5010.
27. M. Delgado, L. Echegoyen, V. J. Gatto, D. A. Gustowski and G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 4135-4138.
28. D. A. Gustowski, V. J. Gatto, J. Mallen, L. Echegoyen and G. W. Gokel, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 5172-5176.
29. D. A. Gustowski, L. Echegoyen, D. M. Goli, A. Kaifer, R. A. Schultz and G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 1633-1635.
30. A. E. Kaifer, D. A. Gustowski, L. Echegoyen, V. J. Gatto, R. A. Schultz, T. P. Cleary, C. R. Morgan, D. M. Goli, A. M. Rios and G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 1958-1965.
31. K. Sugihara, H. Kamiya, M. Yamaguchi, T. Kaneda and S. Misumi, *Tetrahedron Lett.*, 1981, **22**, 1619-1622.
32. R. E. Wolf Jr. and S. R. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, 1984, **106**, 4646-4647.
33. M. Delgado, R. E. Wolf Jr., J. R. Hartman, G. McCafferty, R. Yagbasan, S. C. Rawle, D. J. Watkin and S. R. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 8983-8991.
34. D. A. Gustowski, M. Delgado, V. J. Gatto, L. Echegoyen and G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 7553-7560.

35. L. E. Echegoyen, H. Kim Yoo, V. J. Gatto, G. W. Gokel and L. Echegoyen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 2440-2443.
36. K. Maruyama, H. Sohmiya and H. Tsukube, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 3583-3586.
37. M. Gómez-Kaifer, P. A. Reddy, C. D. Cutsche and L. Echegoyen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 3580-3587.
38. G. Oepen and F. Vögtle, *Liebigs Ann. Chem.*, 1979, 1094-1101.
39. P. J. Hammond, A. P. Bell and C. D. Hall, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1983, 707-715.
40. T. Saji, *Chemistry Letters*, 1986, 275-276.
41. T. Saji and I. Kinoshita, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1986, 716-717.
42. C. D. Hall, N. W. Sharpe, I. P. Danks and Y. P. Sang, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 419-421.
43. J. C. Medina, T. T. Goodnow, S. Bott, J. L. Atwood, A. E. Kaifer and G. W. Gokel, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 290-292.
44. P. D. Beer, *Chem. Soc. Rev.*, 1989, **18**, 409-450.
45. P. D. Beer, H. Sikanyika, C. Blackburn and J. F. McAleer, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 1831-1833.
46. P. D. Beer, C. Blackburn, J. F. McAleer and H. Sikanyika, *Inorg. Chem.*, 1990, **29**, 378-381.
47. P. D. Beer, A. D. Keefe, H. Sikanyika, C. Blackburn and J. F. McAleer, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1990, 3289-3294.
48. P. D. Beer and H. Sikanyika, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1990, 3295-3300.
49. P. D. Beer, J. E. Nation, S. L. W. McWhinnie, M. E. Harman, M. B. Hursthouse, M. I. Ogden and A. H. White, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1991, 2485-2492.
50. G. De Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, P. Pallavicini and A. Perotti, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1992, 3283-3284.
51. P. D. Beer, J. P. Danks, D. Heseck and J. F. McAleer, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1993, 1735-1737.
52. P. D. Beer, E. L. Tite and A. Ibbotson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1989, 1874-1876.
53. P. D. Beer, E. L. Tite and A. Ibbotson, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1991, 1691-1698.
54. P. D. Beer, D. B. Crowe, M. I. Ogden, M. G. B. Drew and B. Main, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1993, 2107-2116.
55. J. C. Medina, T. T. Goodnow, M. T. Rojas, J. L. Atwood, B. C. Lynn, A. E. Kaifer and G. W. Gokel, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 10583-10595.
56. M. T. Rojas, J. C. Medina, G. W. Gokel and A. E. Kaifer, *Supramol. Chem.*, 1993, **2**, 5-9.
57. H. Plenio and D. Burth, *Organometallics*, 1996, **15**, 4054-4062.
58. O. B. Sutcliffe, A. Chesney and M. R. Bryce, *J. Organomet. Chem.*, 2001, **637-639**, 134-138.
59. A. Mederos, S. Domínguez, R. Hernández-Molina, J. Sanchiz and F. Brito, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **193-195**, 857-911.
60. A. J. Pearson and J.-J. Hwang, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 3533-3536.
61. A. J. Pearson, J.-J. Hwang and M. E. Ignatov, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 3537-3540.
62. A. J. Pearson and J.-J. Hwang, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 3541-3543.
63. J.-P. Malval, C. Chaimbault, B. Fischer, J.-P. Morand and R. Lapouyade, *Res. Chem. Intermed.*, 2001, **27**, 21-34.
64. M. De Backer, M. Hureau, M. Depriester, A. Deletoille, A. L. Sargent, P. B. Forshee and J. W. Sibert, *J. Electroanal. Chem.*, 2008, **612**, 97-104.
65. T. Wickstrøm, J. Dale, W. Lund and S. Buøen, *Analytica Chimica Acta*, 1988, **211**, 223-229.
66. R. M. Izatt, K. Pawlak and J. S. Bradshaw, *Chem. Rev.*, 1991, **91**, 1721-2085.
67. A. Mederos, S. Dominguez and A. M. Medina, *Anales de Quimica*, 1987, **83**, 31-36.
68. M. Naraghi, *Cell Calcium*, 1997, **22**, 255-268.
69. R. Y. Tsien, *Biochemistry*, 1980, **19**, 2396-2404.
70. F. Marken, R. G. Compton, C. H. Goeting, J. S. Foord, S. D. Bull and S. G. Davies, *J. Solid State Electrochem.*, 2001, **5**, 88-93.
71. K. X. Bhattacharyya, L. Boubekeur-Lecaque, I. Tapsoba, E. Maisonhaute, B. Schöllhorn and C. Amatore, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 5199 - 5201.
72. Y. Zhao, W. Pérez-Segarra, Q. Shi and A. Wei, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 7328-7329.
73. R. Colorado Jr., R. J. Villazana and T. R. Lee, *Langmuir*, 1998, **14**, 6337-6340.

74. J. Pinson and F. Podvorica, *Chem. Rev.*, 2005, **34**, 429-439.
75. A. Anne, B. Blanc, J. Moiroux and J.-M. Savéant, *Langmuir*, 1998, **14**, 2368-2371.
76. A. H. Holm, K. H. Vase, B. Winther-Jensen, S. U. Pedersen and K. Daasbjerg, *Electrochimica Acta*, 2007, **53**, 1680-1688.
77. O. Buriez, E. Labbé, P. Pigeon, G. Jaouen and C. Amatore, *J. Electroanal. Chem.*, 2008, **619-620**, 169-175.
78. C. Combellas, F. Kanoufi, J. Pinson and F. Podvorica, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 8576-8577.
79. P. Actis, G. Caulliez, G. Shul, M. Opallo, M. Mermoux, B. Marcus, R. Boukherroub and S. Szunerits, *Langmuir*, 2008, **24**, 6327-6333.
80. S. Szunerits and R. Boukherroub, *J. Solid State Electrochem.*, 2008, **12**, 1205-1218.
81. H. C. Kolb, M. G. Finn and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 2004-2021.
82. V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 2596-2599.
83. M. Meldal and C. W. Tornøe, *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 2952-3015.
84. C. Spiteri and J. E. Moses, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 31-33.
85. J. P. Collman, N. K. Devaraj and C. E. D. Chidsey, *Langmuir*, 2004, **20**, 1051-1053.
86. N. K. Devaraj, G. P. Miller, W. Ebina, B. Kakaradov, J. P. Collman, E. T. Kool and C. E. D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **27**, 8600-8601.
87. N. K. Devaraj, P. H. Dinolfo, C. E. D. Chidsey and J. P. Collman, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 1794-1795.
88. M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort and T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 2118-2132.
89. R. Chelmoski, D. Käfer, S. D. Köster, T. Klasen, T. Winkler, A. Terfort, N. Metzler-Nolte and C. Wöll, *Langmuir*, 2009, **25**, 11480-11485.
90. Y. R. Leroux, H. Fei, J.-M. Noël, C. Roux and P. Hapiot, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 14039-14041.
91. A. J. Pearson and W. Xiao, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 2161-2166.
92. C. Amatore, D. Genovese, E. Maisonhaute, N. Raouafi and B. Schöllhorn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 5211 - 5214.
93. J.-P. Malval and R. Lapouyade, *Helvetica Chimica Acta*, 2001, **84**, 2439-2451.
94. R. N. Zagidullin, *Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii*, 1989, **11**, 1524-1528.
95. A. J. Pearson and J.-J. Hwang, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 3466-3472.
96. P. Simon, G. Farsang and C. Amatore, *J. Electroanal. Chem.*, 1997, **435**, 165-171.
97. C. Amatore, G. Farsang, E. Maisonhaute and P. Simon, *J. Electroanal. Chem.*, 1999, **462**, 55-62.
98. H. H. Freedman and A. E. Frost, *J. Org. Chem.*, 1958, **23**, 1292-1298.
99. P. A. Otten, R. E. London and L. A. Levy, *Bioconjugate Chem.*, 2001, **12**, 76-83.
100. L. A. Levy, E. Murphy, B. Raju and R. E. London, *Biochemistry*, 1988, **27**, 4041-4048.
101. B. Metten, M. Smet, N. Boens and W. Dehaen, *Synthesis*, 2005, 1838-1844.
102. B. Erdogan and E. U. Akkaya, *Tetrahedron Lett.*, 1998, **39**, 9107-9108.
103. G. Grynkiewicz, M. Poenie and R. Y. Tsien, *J. Biol. Chem.*, 1985, **260**, 3440-3450.
104. M. Yu, H. C. Malinakova and K. W. Stagliano, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 6648-6651.
105. H. A. Benesi and J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 2703-2707.
106. R. Y. Tsien and T. Pozzan, *Methods Enzymol.*, 1989, **172**, 230-262.
107. J. T. Gerig, P. Singh, L. A. Levy and R. E. London, *J. Inorg. Biochem.*, 1987, **31**, 113-121.
108. R. Pethig, M. Kuhn, R. Payne, E. Adler, T.-H. Chen and L. F. Jaffe, *Cell Calcium*, 1989, **10**, 491-498.
109. W. A. Jacobs and M. Heidelberger, *J. Biol. Chem.*, 1915, 439-453.
110. X.-S. Zhou, L. Liu, P. Fortgang, A.-S. Lefevre, A. Serra-Muns, N. Raouafi, C. Amatore, B.-W. Mao, E. Maisonhaute and B. Schöllhorn, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 7509-7516.
111. C. Buon, L. Chacun-Lefèvre, R. Rabot, P. Bouyssou and G. Coudert, *Tetrahedron*, 2000, **56**, 605-614.
112. B. Limoges, D. Marchal, F. Mavré, J.-M. Savéant and B. Schöllhorn, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 7259-7275.

113. F. Manescalchi, A. R. Nardi and D. Savoia, *Tetrahedron Lett.*, 1994, **35**, 2775-2778.
114. J. Kraxner, H. Hübner and P. Gmeiner, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 2000, **333**, 287-292.
115. K. Van Rompaey, I. Van den Eynde, N. De Kimpe and D. Tourwé, *Tetrahedron*, 2003, **59**, 4421-4432.
116. C. B. Singh, V. Kavala, A. K. Samal and B. K. Patel, *Eur. J. Org. Chem.*, 2007, 1369-1377.
117. Y. Basel and A. Hassner, *J. Org. Chem.*, 2000, **65**, 6368-6380.
118. E. Coulon, J. Pinson, J.-D. Bourzat, A. Commerçon and J.-P. Pulicani, *Langmuir*, 2001, **17**, 7102-7106.