



HAL
open science

Design, synthèse et évaluation de contrastophores bimodaux pour l'imagerie par absorption à deux photons et par tomographie par émission de positons

Charline Denneval

► **To cite this version:**

Charline Denneval. Design, synthèse et évaluation de contrastophores bimodaux pour l'imagerie par absorption à deux photons et par tomographie par émission de positons. Chimie organique. INSA de Rouen, 2014. Français. NNT : 2014ISAM0012 . tel-01165605

HAL Id: tel-01165605

<https://theses.hal.science/tel-01165605>

Submitted on 19 Jun 2015

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

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



THÈSE

Présentée à :

L'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen

En vue de l'obtention du grade de :

Docteur en Chimie Organique

Par

Charline DENNEVAL

Design, synthèse et évaluation de contrastophores bimodaux pour l'imagerie par absorption à deux photons et par tomographie par émission de positons

24 Octobre 2014

Devant le jury composé de :

Pr Isabelle CHATAIGNER

Pr Gilles LEMERCIER

Pr Vincent SOL

Dr Sylvain ACHELLE

Pr Yvan RAMONDENC

Dr Christine BAUDEQUIN

Présidente, Université de Rouen

Rapporteur, Université de Reims

Rapporteur, Université de Limoges

Examineur, Université de Rennes

Directeur de thèse, Université de Rouen

Co-encadrante de thèse, Université de Rouen

Sommaire

Remerciements	4
Liste des abréviations	7
Liste des figures	10
Liste des tableaux	11
Liste des schémas	14
I Introduction générale	15
1 Introduction	16
1.1 Fluorescence	18
1.1.1 Description de la luminescence	18
1.1.2 Principe de la fluorescence	19
1.1.3 Principales caractéristiques de la fluorescence	22
1.1.4 Facteurs environnementaux influençant la fluorescence	25
1.1.5 Facteurs moléculaires influençant la fluorescence	29
1.2 Grandes familles de fluorophores	33
1.2.1 Fluorophores naturels	33
1.2.2 Fluorophores synthétiques	36
1.3 Absorption à deux photons	51
1.3.1 Principe de l'absorption à deux photons	52
1.3.2 Fluorophores	55
1.3.3 Applications	58
1.4 Tomographie par émission de positons	64

1.5	Sondes multimodales	66
1.5.1	Introduction générale	66
1.5.2	Sonde bimodale TEP/fluorescence dans le proche infrarouge	68
1.6	Présentation du projet	71
II	Résultats et discussion	75
2	Version chaînes alkyles	76
2.1	Fluorène et absorption à deux photons – rappel bibliographique	76
2.2	Détermination du squelette	78
2.2.1	Synthèse du lien π -conjugué	78
2.2.2	Synthèse des composés de type I	79
2.2.3	Synthèse des composés de type II	83
2.2.4	Synthèse des composés de type III	84
2.2.5	Synthèse des composés de type IV	88
2.3	Propriétés photophysiques	89
2.3.1	Propriétés d'absorption à un photon et de fluorescence	89
2.3.2	Propriétés d'absorption à deux photons	92
2.4	Conclusion	94
3	Version hydrosoluble	96
3.1	Fluorène hydrosoluble – rappel bibliographique	96
3.2	Détermination du squelette	99
3.2.1	Synthèse du lien π -conjugué	99
3.2.2	Synthèse des composés de type I	99
3.2.3	Synthèse des composés de type II	101
3.3	Propriétés photophysiques	104
3.3.1	Propriétés d'absorption à un photon et de fluorescence	104
3.3.2	Propriétés d'absorption à deux photons	105
3.3.3	Test bi-photonique	107
3.4	Conclusion	107
4	Insertion du fluor	109
4.1	Via une diazine	109

4.2	Via un triazole	113
4.2.1	Version phénol	114
4.2.2	Version <i>o</i> -silylée	115
4.2.3	Version méthoxy	116
4.2.4	Insertion du $-BF_2$ en version phénol	119
4.2.5	Version amine	119
4.2.6	Insertion du $-BF_2$ en version amine	121
4.3	Conclusion	123
III	Conclusion générale et perspectives	124
5	Conclusion générale et perspectives	125
5.1	Conclusion	125
5.2	Perspectives	130
IV	Experimental part	131
6	General remarks	132
7	Compounds with alkyl chains	134
8	Compounds with hydrosoluble chains	148
9	Compounds from the BODIPY study	156

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Gilles Lemerrier, Vincent Sol, Isabelle Chataigner et Sylvain Achelle de bien avoir voulu juger ces trois années de travail.

Je remercie vivement Xavier Pannecoucke, directeur de l'UMR CNRS 6014 COBRA et Vincent Levacher, responsable de l'équipe Hétérocycles de m'avoir permis d'effectuer cette thèse dans les locaux de l'IRCOF.

Je voudrais aussi exprimer toute ma gratitude à mon directeur de thèse, Yvan Ramondenc, pour avoir eu confiance en moi en me recrutant ainsi que ma co-encadrante, Christine Baudequin, pour m'avoir guidée tout au long de ces trois années. Votre optimisme et votre bonne humeur m'ont été indispensables !

Je remercie vivement nos collaborateurs : C. Perrio (Caen) pour les tests bi-photoniques et P. Baldeck (Grenoble et Lyon) pour son expertise en ADP.

Je remercie également l'ensemble de l'équipe Hétérocycles, pour nous permettre de travailler dans de bonnes conditions. Plus particulièrement : Tia² et Émilie, pour leur aide si précieuse en GC-MS et en « prep. », ainsi que Joëlle et Véro, sans qui le labo ne pourrait fonctionner.

Je remercie chaleureusement tous mes collègues, devenus amis, et avec qui j'ai partagé de bons moments : l'unique Ludo (je sais : Cool story!), Beber et toutes ses blagues plus ou moins douteuses, Yvo et nos pauses café en tête-à-tête, Yoann avec sa bonne humeur, Christophe mon grincheux préféré, Flo le bricolo, Thominou. Sans oublier la touche féminine : Mini Gaëlle (Hey Keupine!), Nat, Élodie et la petite dernière Camille !

Bien sûr, je ne peux oublier : Oana, Ilisca, Alexandra, Mia, les Schneider, Étienne, Jérémy G, Ludovic M., Damien, Romain N, Sylvain, Julien, Greg, Arnaud, Virginie, Alex G, Rabah, Gérald... et mes anciens encadrants : Gabou, Cédric et Fabien.

Je remercie mes copains de 307 : JB mon antidépresseur et mes colocs Kevin et Jérémy ! Vous m'avez soutenue tout au long de cette dernière année. Vous m'avez fait rire à en pleurer ! Je vous adore !!!

Je tiens également à remercier Mme Chobert pour m'avoir donné l'envie d'étudier la chimie et sans qui je ne serais jamais arrivée jusqu'ici. Je ne peux remercier ma prof. du lycée sans remercier les copains de STL : Ben et Marjo, pour votre soutien, votre brin de folie, pour tout !

Je finirai par remercier ma famille : mes parents pour m'avoir soutenue tout au long de ces années d'études et pour l'avenir, ma belle-famille mais surtout Maxime (alias Bobby) de nous supporter Merlin et moi au quotidien !

Abréviations

^{18}F FDG	^{18}F -fluoro-2-déoxy-D-glucose
A	Attracteur
ADP	Absorption à Deux Photons
BODIPY	Bore-DIPYrométhene
CI	Conversion Interne
CIS	Conversion InterSystème
CuAAC	Copper Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition
D	Donneur
DMABN	4- <i>N,N</i> -DiMéthylAminoBenzoNitrile
FRET	Fluorescence (ou Förster) Resonance Energy Transfer
GFP	Green Fluorescent Protein
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbitals
ICT	Internal Charge Transfer
IR	InfraRouge
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LED	Light Emitting Diode
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbitals
NaI	Iodure de Sodium
NBS	<i>N</i> -BromoSuccinimide
NMP	<i>N</i> -Méthyl-2-Pyrrolidinone

OFET	Organic Field-Effect Transistor
OLED	Organic Light-Emitting Diode
OPE	Oligo(<i>p</i> -PhénylèneÉthynylène)
OPV	Oligo(<i>p</i> -PhénylèneVinylène)
QD	Quantum Dots
RX	Rayons X
TBAF	TetraButylAmmonium Fluoride
TBDMSCl	Tert-ButylDiMethylSilyl chloride
TBTA	Tris[(1-Benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-Triazol-4-yl)méthyl]Amine
TEMP	Tomographie par Émission MonoPhotonique
TEP	Tomographie par Émission de Positons
TICT	Twisted Intramolecular Charge Transfer
TMSA	TriMéthylSilylAcétylène
TMSCl	TriMethylSilyl Chloride
TMSI	TriMethylSilyl Iodide
US	UltraSons
UV	UltraViolet

Liste des figures

1.1	Détection schématisée du déplacement de Stokes	19
1.2	Spectre électromagnétique	19
1.3	Niveaux d'énergie des orbitales moléculaires du formaldéhyde et ses diverses transitions possibles	20
1.4	Diagramme de Perrin-Jablonski	21
1.5	Spectre d'absorption	23
1.6	Déplacement de Stokes	23
1.7	Durée de vie de fluorescence	25
1.8	Photoblanchiment du fluorophore au sein d'une fibroblaste	27
1.9	Conditions nécessaires au phénomène FRET	29
1.10	Extension du système π	29
1.11	Composés azotés hétérocycliques	30
1.12	Diagramme d'énergie potentielle du DMABN et le spectre de fluorescence dans l'hexane et le THF	32
1.13	Exemples de molécules avec et sans rotation interne	32
1.14	Fluorophores d'intérêt biologique	33
1.15	Exemples de fluorophores naturels	34
1.16	<i>Aequorea</i> à la lumière du jour (gauche) et dans le noir après excitation (droite)	35
1.17	Structure du chromophore dans la molécule GFP	35
1.18	Structure 3D de la GFP et sa gamme spectrale ainsi que celle de ses dérivés	36
1.19	Étude structure-propriétés photophysiques des composés OPV	37
1.20	Influence du groupement électro-attracteur sur des OPE	38
1.21	Influence du groupement sur des OPE	38
1.22	Variations du coeur et de la périphérie de l'oligomère	39
1.23	Exemples de structures AlQ ₃	40
1.24	Exemples de complexes à l'iridium	40

1.25	Exemples de structures de complexes organométalliques	41
1.26	Influence des modulations sur les propriétés photophysiques des cyanines	41
1.27	Photodimérisation de l'anthracène	42
1.28	Influence des substitutions en positions 2 et 6 sur l'anthracène	42
1.29	Influence des substitutions en positions 9 et 10 sur l'anthracène	43
1.30	2 <i>H</i> -1-benzopyrane-2-one	43
1.31	Influence du groupement électro-attracteur en position 3	44
1.32	Relation structure-propriétés photophysiques de dérivés de coumarines hydrosolubles	44
1.33	Fluorescéine et rhodamines	45
1.34	Pyronines et oxazines	45
1.35	Structure push-pull de la fluorescéine	46
1.36	Influence du groupement acide carboxylique sur la partie benzénique de la fluorescéine	47
1.37	Dérivés de la fluorescéine	47
1.38	Influence du groupement en position 5'	48
1.39	4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza- <i>s</i> -indacène	48
1.40	Différents groupes de BODIPY pour le type de chélation N,N et N,O	49
1.41	Exemples de résultats photophysiques de BODIPY	50
1.42	Propriété des quantum dots	51
1.43	Maria Göppert-Mayer	52
1.44	Diagramme de Jablonski appliqué à l'absorption à deux photons	53
1.45	Absorption à un photon (gauche) et à deux photons (droite)	54
1.46	Exemples de chromophores linéaires et branchés	56
1.47	Exemples de porphyrines	56
1.48	Influence de l'aromaticité sur les porphyrines macrocycliques	57
1.49	Influence du nombre de branche sur les annulènes	58
1.50	Images des cellules HCT16 incubées avec LT1 (20 μ M, 2 h), (b) image de fluorescence 1-photon, (c) reconstruction 3D provenant des images 2-photons, (d) image de fluorescence 2-photons.	59
1.51	Exemples de capteurs d'ions métalliques	60
1.52	Composé hydrophile qui entraîne la désintégration de micelles afin de relarguer le composé bioactif	61

1.53	Exemples de microfabrication biphotonique	62
1.54	Chambre d'isolation d'une cellule	62
1.55	Prototype de stockage de données en 3D	63
1.56	Désintégration du positon et réaction d'annihilation	64
1.57	Principe de tomographie par émission de positons	65
1.58	^{18}F -fluoro-2-déoxy-D-glucose et ^{18}F -fluoro-2-désoxyglucose-6-phosphate	66
1.59	Spectre d'absorption par les tissus du corps	68
1.60	Structure du DOTA-QD-RGD	69
1.61	Structure du quantum dot marqué au fluor-18	70
1.62	Structure de la sonde TEP/fluorescence dans le proche infrarouge	70
1.63	Sonde [^{18}F]-BOMB Lymphoseek	70
2.1	Géométrie du composé 8 à gauche et du composé 10 à droite	91
2.2	Spectres d'émission des différents composés	92
2.3	Sections efficaces des différents composés	94
3.1	Sonde LT1	97
3.2	Sonde zincique <i>via</i> l'utilisation d'un macrocycle	97
3.3	Sonde zincique <i>via</i> l'utilisation de triazoles	98
3.4	Sonde D - π - D	98
3.5	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)méthyl]amine	103
3.6	Sections efficaces des composés hydrosolubles	107
4.1	Mimes de BODIPY dérivés des diazines	110

Liste des tableaux

1.1	Différents types de luminescence	18
1.2	Comparaison des temps d'absorption et d'émission	22
1.3	Exemples de valeurs d'intensité de fluorescence	25
2.1	Étude du couplage de Suzuki	80
2.2	Propriétés photophysiques à un photon	90
2.3	Propriétés photophysiques à deux photons	93
3.1	Étude sur la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen	103
3.2	Propriétés photophysiques à un photon	105
3.3	Propriétés photophysiques à deux photons	106
4.1	Conditions d'insertion du groupement $-BF_2$	112
4.2	Étude de déprotection sélective du TMS	116
4.3	Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynylanisole	117
4.4	Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynyl- <i>N</i> -phénylaniline 61	121
4.5	Conditions d'insertion du groupement $-BF_2$	122

Liste des schémas

1.1	Plan du projet	71
1.2	Système A-π-D	72
1.3	Précédents travaux au sein du laboratoire	73
1.4	Différents type de système A- π -D	74
1.5	Structure de la sonde bimodale en version hydrosoluble	74
2.1	Fluorène	77
2.2	Exemples de structures comportant un noyau fluorène	77
2.3	Synthèse du 2-bromo-7-iodofluorène 2	78
2.4	Synthèse du lien π -conjugué de départ	79
2.5	Synthèse du 4-(7-bromo-9,9-dihexyl-9 <i>H</i> -fluorèn-2-yl)- <i>N,N</i> -diméthylaniline	79
2.6	Étude du couplage de Suzuki	80
2.7	Synthèse des diazines iodées	81
2.8	Synthèse de la 6-phényl-4-(trifluorométhyl)pyridazine	81
2.9	Synthèse des composés A-π-D de type I	82
2.10	Synthèse des composés A-π-A de type I	83
2.11	Synthèse de composés A-π-D de type II	83
2.12	Synthèse du composé A-π-A de type II	84
2.13	Chromophores comportant le motif triazole	84
2.14	Polyfluorène comportant le motif triazole	85
2.15	Composés A-π-D de type III	85
2.16	Synthèse de la 2-azido-4,6-diméthylpyrimidine	86
2.17	Synthèse de la 4-azido- <i>N,N</i> -diméthylaniline	86
2.18	Synthèse du composé A-π-D de type III comportant un lien triazole	86
2.19	Synthèse du ((9,9-dihexyl-7-((triisopropylsilyl)éthynyl)-9 <i>H</i> -fluorèn-2-yl)éthynyl)triméthylsilane	87

2.20	Synthèse du composé A-π-D de type III comportant un triazole et une triple liaison	88
2.21	Synthèse du composé A-π-D de type IV	88
2.22	Meilleurs candidats pour une application en imagerie	95
3.1	Familles des composés hydrosolubles	96
3.2	Synthèse des chaînes PEG	99
3.3	Synthèse du lien π -conjugué	99
3.4	Composés hydrosolubles de type I	100
3.5	Synthèse de l'intermédiaire 34	100
3.6	Synthèse du composé 35 de type I	101
3.7	Synthèse du composé 36 de type I	101
3.8	Composés hydrosolubles de type II	102
3.9	Synthèse du premier composé hydrosoluble de type II	102
3.10	Synthèse du second composé hydrosoluble de type II	103
3.11	Synthèse du composé A-π-A	104
3.12	Test bi-photonique	107
4.1	Projet d'échange ^{19}F - ^{18}F	109
4.2	Projet d'insertion du fluor	110
4.3	Synthèse du 2-(2-chloropyrimidin-4-yl)phénol	111
4.4	Synthèse du 2-(2-(4-(diméthylamino)phényl)pyrimidin-4-yl)phénol	111
4.5	Test d'insertion du groupement $-\text{BF}_2$ sur le 2-(2-chloropyrimidin-4-yl)phénol	111
4.6	Test d'insertion du groupement $-\text{BF}_2$ sur le 2-(2-(4-(diméthylamino)phényl)pyrimidin-4-yl)phénol	112
4.7	Test du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	113
4.8	Projet de synthèse de nouveaux mimes de BODIPY	113
4.9	Projet de synthèse de nouvelles sondes de type BODIPY	114
4.10	Synthèse du 2-éthynylphénol 48	114
4.11	Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynylphénol	115
4.12	Synthèse du composé protégé 51	115
4.13	Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynylanisole	116
4.14	Azotures utilisés	117
4.15	Essais de déprotection du groupement méthoxy	118

4.16	Déprotection du groupement méthoxy	118
4.17	Insertion du groupement $-BF_2$ sur 58	119
4.18	Projet d'insertion du fluor sur les dérivés de la phénylaniline	119
4.19	Synthèse de la 2-éthynyl- <i>N</i> -phénylaniline 61	120
4.20	Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynyl- <i>N</i> -phénylaniline 61	120
4.21	Insertion du $-BF_2$	122
4.22	Structures des molécules obtenues	123
5.1	Chromophores A - π - D des familles I, III, IV	126
5.2	Meilleurs fluorophores A - π - D	127
5.3	Meilleurs chromophores A - π - D à deux photons	127
5.4	Chromophores hydrosolubles A - π - D	128
5.5	Essai d'insertion du groupement $-BF_2$ sur le dérivé de la pyrimidine	129
5.6	« Mimes de BODIPY » synthétisés	129
5.7	Essai d'insertion du groupement $-BF_2$	129
5.8	Exemple de chromophores hydrosolubles A - π - D envisagés	130
5.9	Insertion du fluor sur la sonde bimodale	130

Première partie

Introduction générale

Chapitre 1

Introduction

Les études translationnelles, de la cellule à l'organe, voire au corps entier, sont désormais primordiales pour un transfert rapide des connaissances de la recherche fondamentale vers des applications diagnostiques et thérapeutiques. Cependant, il n'y a actuellement aucune modalité compatible pour des approches *in vitro* et *in vivo*. L'utilisation de sondes multimodales permet alors de combiner les techniques d'imagerie afin de recueillir le maximum d'informations avec une seule sonde de détection injectée au préalable dans le patient.

Parmi les techniques d'imagerie optiques modernes, la microscopie par excitation (ou absorption) à deux photons (ADP) est particulièrement avantageuse. Elle permet une meilleure résolution, une meilleure pénétration dans les tissus biologiques, une réduction des phénomènes de photoblanchiment et photodommage. Quant à l'imagerie par tomographie par émission de positons (TEP), utilisée en clinique et préclinique, elle est complémentaire de l'ADP pour des recherches *in vivo* non invasives. L'utilisation conjointe de ces deux techniques pour imager une même cible moléculaire au niveau de la cellule et de l'organe nécessite idéalement une sonde unique bimodale, à la fois fluorescente et radioactive. Il existe déjà plusieurs sondes bimodales combinant les techniques de fluorescence dans le proche infrarouge et de TEP. Cependant, l'élément radioactif le plus souvent utilisé est le ^{64}Cu qui possède un temps de demi-vie assez long (12 h) par rapport au ^{18}F (1.8 h) et qui n'est pas facilement disponible en clinique.

Actuellement, à notre connaissance, il n'existe aucune publication traitant de sondes bimodales visant l'utilisation de l'absorption à deux photons et de la TEP au ^{18}F dans

l'imagerie médicale. Ce projet de thèse s'oriente sur la synthèse de nouveaux chromophores possédant de bonnes propriétés d'ADP et un site pouvant permettre l'insertion du fluor radiomarqué. Les fluorophores dipolaires ont de bonnes propriétés de fluorescence, c'est pourquoi nous avons synthétisé de nouvelles sondes **A- π -D**. Le projet s'est articulé autour de plusieurs étapes clés. Dans un premier temps, nous avons cherché à déterminer le squelette du meilleur fluorophore *via* une étude relation structure-propriétés photophysiques en modulant les trois principaux paramètres, c'est-à-dire la nature du lien π -conjugué, le groupement **électro-attracteur** et le groupement **électro-donneur**. Dans un second temps, des modifications sans impact direct sur les propriétés de fluorescence ont été effectuées sur le fluorophore préalablement choisi afin de la rendre hydrosoluble et compatible avec le milieu du vivant. Puis une dernière partie a été consacrée à l'insertion du fluor pour une application en tomographie par émission de positons.

1.1 Fluorescence

1.1.1 Description de la luminescence

La luminescence est une émission de lumière (ultraviolet, visible ou infrarouge) provenant de l'état excité d'une espèce. Le terme fut inventé en 1888 par le physicien Wiedemann et provient du latin *lumen* (lumière). Il décrit le phénomène lumineux qui n'est pas d'origine thermique (lumière froide), par opposition à l'incandescence (lumière chaude).¹

La fluorescence et la phosphorescence sont des cas particuliers de luminescence qui résultent de l'absorption de lumière (photons), entraînant ainsi le fluorophore à un état excité. De façon générale, on parle de photoluminescence. Il existe plusieurs types de luminescence en fonction du mode d'excitation employé (TABLEAU 1.1).

TABLEAU 1.1 – Différents types de luminescence

Types de luminescence	Mode d'excitation
Photoluminescence (fluorescence, phosphorescence)	Photons (UV, visible)
Radioluminescence	RX, rayonnement α , β , γ
Électroluminescence	Champ électrique
Thermoluminescence	Élévation de la température
Chimiluminescence	Réaction chimique
Bioluminescence	Réaction enzymatique
Cathodoluminescence	Électrons accélérés
Triboluminescence	Frottement, rupture, déformation
Sonoluminescence	Ultrasons

Le phénomène de fluorescence a été publié, pour la première fois en 1565, par N. Monardes suite à une émission de lumière provenant d'une infusion de copeaux de bois *Lignum Nephriticum*. Plus tard, en 1602, V. Cascariolo a créé le premier matériau luminescent : le phosphore de Bologne ou « éponge de lumière », dont son étude par Licetus a permis de définir l'émission de lumière comme étant non thermique. Plus tard,

1. Valeur, B., *Invitation à la Fluorescence Moléculaire*; De Boeck Supérieur : 2004.

en 1842, la première assertion sur le fait que la lumière émise correspond à des longueurs d'ondes plus grandes que la lumière incidente a été réalisée par E. Becquerel.

Au milieu du XIX^e siècle, les études sur les rayons « dispersés » par le sulfate de quinine de Sir Herschel, Sir Brewster puis Sir Stokes, ont permis de montrer que l'émission de lumière a pour origine l'absorption de radiations UV (FIGURE 1.1). C'est en 1852, dans un article intitulé « On the change of refrangibility of light » que Sir Stokes introduit le terme « fluorescence », car il a observé que la plupart des variétés de fluorine (fluorure de calcium) émettent de la lumière bleue.^{2,3}

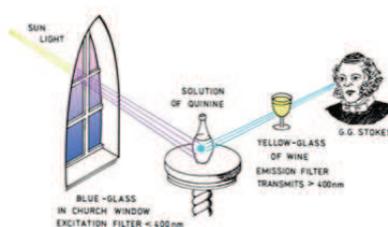


FIGURE 1.1 – Détection schématisée du déplacement de Stokes

1.1.2 Principe de la fluorescence

L'excitation de la plupart des molécules en solution s'effectue, en général, par l'absorption de photons dans une gamme de longueur d'onde allant de l'ultraviolet au visible (FIGURE 1.2).

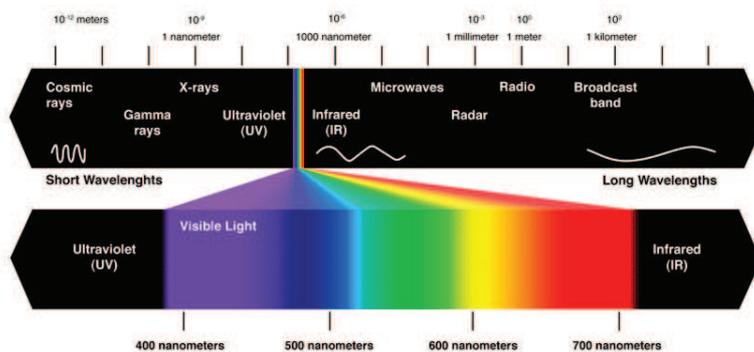


FIGURE 1.2 – Spectre électromagnétique

2. Stokes, G. G. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1852**, *142*, 463–562.

3. Lakowicz, J., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Springer : 2006.

L'absorption d'un photon fait passer une molécule de l'état fondamental à un état électronique excité. Ce phénomène correspond à la promotion d'un électron dans une orbitale inoccupée d'énergie plus élevée.¹

Deux types d'orbitales sont à considérer en spectroscopie d'absorption et de fluorescence. Les orbitales moléculaires occupées de plus haute énergie (HOMO : *Highest Occupied Molecular Orbitals*) et les orbitales moléculaires inoccupées de plus basse énergie (LUMO : *Lowest Unoccupied Molecular Orbitals*). Dans l'exemple du formaldéhyde (FIGURE 1.3), la HOMO correspond à l'orbitale n et la LUMO à l'orbitale π^* , l'ordre d'énergie des transitions électroniques étant en général le suivant :

$$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$$

L'électron promu dans une orbitale d'énergie plus élevée est en principe inchangé de tel sorte que le nombre quantique total de spin reste égal à zéro ($S = \sum s_i$, avec $s_i = +\frac{1}{2}$ ou $-\frac{1}{2}$). Pour les multiplicités des états fondamentaux et excités ($M = 2S + 1$) étant égales à 1, ses états sont appelés états singulets (S). Lorsque le spin de l'électron excité est changé, le nombre quantique est alors égal à 1 et la multiplicité est de 3. L'état est alors dit triplet (T).

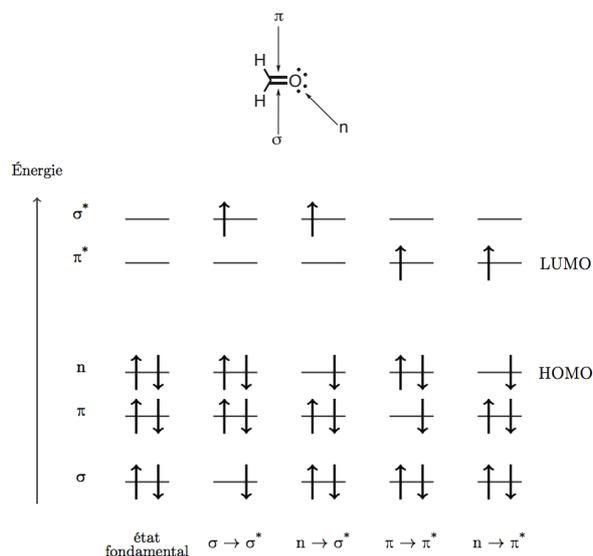
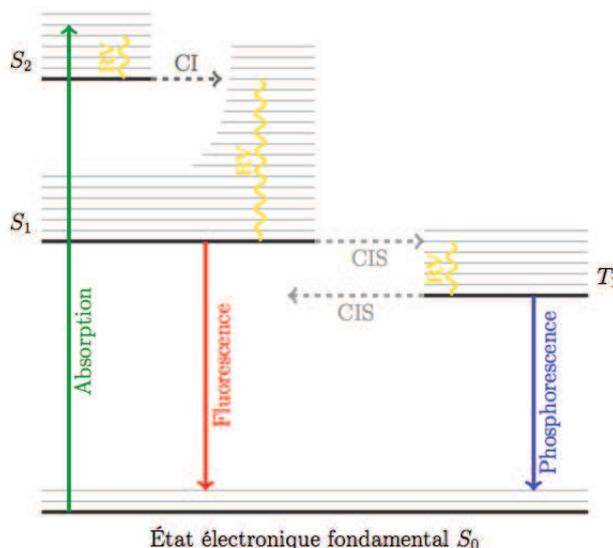


FIGURE 1.3 – Niveaux d'énergie des orbitales moléculaires du formaldéhyde et ses diverses transitions possibles

Le diagramme de Perrin-Jablonski permet de visualiser facilement les différents processus mis en jeu (FIGURE 1.4). Dans un premier temps, une radiation lumineuse provoque le passage du fluorophore de l'état fondamental singulet S_0 vers un état excité

singulet S_i instable ($i \geq 1$) de manière très rapide (10^{-15} s). Ensuite, une fois excitée, la molécule revient toujours à son état fondamental suivant différents processus de désexcitation.



Légende :

- CI---> Conversion Interne, transition non radiative de type $S_2 \rightarrow S_1$.
- CIS---> Croisement InterSystème, transition non radiative de type $S_1 \rightarrow T_1$.
- RV Relaxation Vibrationnelle.

FIGURE 1.4 – Diagramme de Perrin-Jablonski

Dans le cas de la fluorescence, le fluorophore se désexcite de manière non radiative d'un état intermédiaire S_2 vers un état intermédiaire S_1 lui aussi instable. Ce processus est appelé conversion interne (CI) et correspond au retour au plus petit niveau vibrationnel (10^{-11} – 10^{-9} s). Une désexcitation radiative par émission de photons permet cette fois-ci le retour à l'état fondamental S_0 . Cette désexcitation correspond au phénomène de fluorescence et possède une durée de vie de 10^{-10} s à 10^{-7} s.

La phosphorescence, quant à elle, fait intervenir un état intermédiaire triplet (spins parallèles) via une transition non radiative, nommée croisement intersystème (CIS) ($S_0 \rightarrow T_1$), suivit d'une transition radiative lors du retour à l'état fondamental S_0 . Le passage entre des états de multiplicités différentes est en principe interdit, et la probabilité du passage intersystème dépend des états singulet et triplet. Si la transition $S_0 \rightarrow S_1$ est du type $n \rightarrow \pi^*$, le passage intersystème est souvent efficace. De plus, la présence d'atomes lourds (c'est-à-dire qui possède un numéro atomique élevé, tels

que Br, I et Pb) augmente le couplage spin-orbite favorisant ainsi le croisement intersystème.

Les transitions électroniques sont gouvernées par le principe de Franck-Condon qui stipule que : « l'excitation d'un électron par l'absorption d'un photon se produit sur une échelle de temps beaucoup plus courte que celle du mouvement des noyaux ». Le photon est absorbé pour former un état excité beaucoup plus rapidement que le temps nécessaire au mouvement des atomes. Les durées de vie des différents processus sont donc très faibles (TABLEAU 1.2).

TABLEAU 1.2 – Comparaison des temps d'absorption et d'émission

Absorption/Emission	Temps (s)	Remarques
Absorption de photon	10^{-4} – 10^{-5}	Rapide
Fluorescence	10^{-5} – 10^{-10}	Rapide (transition $S_1 \rightarrow S_0$)
Phosphorescence	10^{-4} –10 ou plus	Faible (transition interdite)
Relaxation vibrationnelle	$< 10^{-12}$	Rapide
Conversion interne		Rapide

1.1.3 Principales caractéristiques de la fluorescence

1.1.3.1 Spectres d'absorption et d'émission

Chaque fluorophore est caractérisé par un spectre d'absorption et un spectre d'émission qui lui est propre et qui correspond à la distribution de probabilités des transitions d'énergies. Cela permet d'expliquer que le spectre d'absorption est composé de larges bandes correspondant à de nombreuses bandes d'absorption des différentes transitions vibrationnelles.⁴

4. Paris, J. P.; Brandt, W. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5001–5002.

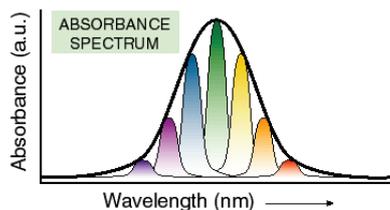


FIGURE 1.5 – Spectre d'absorption

Le spectre de fluorescence représente l'intensité recueillie par le détecteur en fonction de l'énergie émise par l'échantillon. Il est situé à des longueurs d'onde plus grandes (c'est-à-dire à des énergies plus basses) que le spectre d'absorption à cause de la perte d'énergie due à la relaxation vibrationnelle dans l'état excité.

1.1.3.2 Déplacement de Stokes

Le déplacement de Stokes $\Delta\lambda$ correspond à l'écart entre les maxima du spectre d'émission et du spectre d'absorption (FIGURE 1.6). D'un point de vue pratique, la détection de la fluorescence sera plus facile si le déplacement de Stokes est grand (> 20 nm).

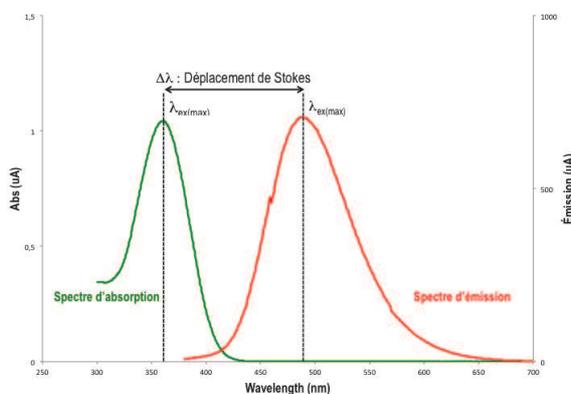


FIGURE 1.6 – Déplacement de Stokes

1.1.3.3 Rendement quantique de fluorescence

Le rendement quantique de fluorescence décrit la probabilité de fluorescence de la molécule étudiée. Il correspond au nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés (1.1), et donc plus le rendement est grand plus la molécule est fluorescente.

$$\Phi_F = \frac{N_{\text{émis}}}{N_{\text{absorbés}}} \quad (1.1)$$

D'un point de vue pratique, le rendement quantique est calculé par rapport à un étalon dont le rendement quantique est connu, suivant l'équation 1.2 :

$$\Phi_F = \Phi_{F(\text{ét})} \frac{A_{(\text{ét})}}{A} \frac{F}{F_{(\text{ét})}} \left(\frac{n}{n_{(\text{ét})}} \right)^2 \quad (1.2)$$

avec Φ_F le rendement quantique de fluorescence, A l'absorbance à la longueur d'onde d'excitation, F l'aire sous la courbe d'émission et n l'indice de réfraction du solvant utilisé. L'indice ét correspond à l'étalon utilisé pour le calcul.

Il est préférable, au vu de l'équation 1.2, de choisir un étalon dont la longueur d'onde d'excitation est identique à celle du fluorophore étudié mais aussi dont le spectre d'émission couvre une zone comparable. Par soucis de précision, nos échantillons seront analysés sur une gamme de quatre à cinq concentrations dont l'absorbance sera < 0.1 d'unité d'absorbance afin d'éviter les phénomènes de réabsorption.⁵ La linéarité de l'absorbance en fonction de l'aire sous la courbe d'émission devra être vérifiée. Les coefficients directeurs des droites sont alors proportionnels aux rendements quantiques de fluorescence. Il faut noter que la précision dans la détermination d'un rendement quantique peut difficilement dépasser les 90-95% en raison de l'accumulation d'erreurs inévitables lors de la détermination des absorbances à la longueur d'onde d'excitation, des facteurs de correction des spectres et du rendement quantique de l'étalon.

1.1.3.4 Coefficient d'extinction molaire

Le coefficient d'extinction molaire ε , intensité d'absorption ou absorbance spécifique, traduit l'efficacité avec laquelle un fluorophore absorbe dans un solvant donné. Il provient de la loi de Beer-Lambert (1.3) :

$$A = \varepsilon l c \quad (1.3)$$

avec A l'absorbance, l la longueur de la cuve et c la concentration de l'échantillon.

5. Dhamsi, S. ; Mello, A. J. D. ; Rumbles, G. *et al. Photochem. Photobiol.* **1995**, *61*, 341–346.

1.1.3.5 Intensité de fluorescence

L'intensité de fluorescence I ou brillance correspond au produit du coefficient d'extinction molaire ε avec le rendement quantique de fluorescence de l'échantillon étudié :

$$I = \varepsilon \Phi_F \quad (1.4)$$

Le tableau suivant donne quelques exemples d'intensité de fluorescence de certains fluorophores (TABLEAU 1.3).

TABLEAU 1.3 – Exemples de valeurs d'intensité de fluorescence

Molécules	ε ($M^{-1}.cm^{-1}$)	Φ_F	Intensité de fluorescence
Fluorescéine	80 000	0.90	72 000
Cyanine5.18	250 000	0.35	90 000
B-phycoérythrine	2 410 000	0.98	2 360 000

1.1.3.6 Durée de vie de fluorescence

La durée de vie de fluorescence ou temps de déclin τ_f correspond au temps nécessaire pour que le nombre de photons excités diminue de manière exponentielle *via* la perte d'énergie à travers des transitions radiatives ou non.⁶ La durée peut être de quelques femtosecondes à quelques secondes comme vue précédemment dans le TABLEAU 1.2.

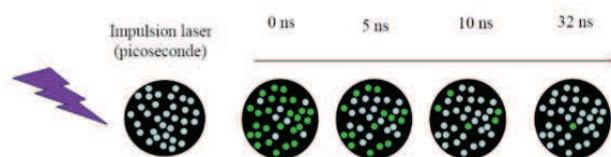


FIGURE 1.7 – Durée de vie de fluorescence

1.1.4 Facteurs environnementaux influençant la fluorescence

Les propriétés de fluorescence précédemment citées : rendement quantique de fluorescence, coefficient d'extinction molaire, intensité de fluorescence et durée de vie de fluorescence ne correspondent à la signature d'une molécule que sous certaines conditions. En effet, l'influence de facteurs propres à l'environnement de la molécule peuvent entraîner

6. Berezin, M. Y.; Achilefu, S. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2641–2684.

des changements importants. Ces facteurs sont variés et nous traiterons seulement de la température, la polarité, le pH, le photoblanchiment et le quenching.

1.1.4.1 La température

Les changements de température entraînent des variations de viscosité du solvant, et donc des variations du nombre de collisions des molécules fluorescentes avec le solvant, de rotations intramoléculaires et de vibrations. L'intensité de fluorescence et le rendement quantique sont sensibles à de tels changements. Afin de contrôler ce facteur, l'utilisation de cellules thermostatées est alors recommandée.

1.1.4.2 La polarité

La polarité influence de manière importante les propriétés de fluorescence. Les composés sont dit solvatochromiques lorsque la position des spectres d'absorption et d'émission d'une molécule dépendent de la polarité du solvant. Des déplacements vers les grandes longueurs d'onde (bathochrome) et vers les courtes longueurs d'onde (hypsochrome) lorsque la polarité varie sont appelés respectivement solvatochromisme positif et négatif.

Pour absorber un photon, la molécule doit passer à un état excité, or la disponibilité d'un électron π , ou d'un électron délocalisé d'un noyau aromatique est dépendant de son environnement. De plus, la polarité modifie la stabilité des formes moléculaires. Le fluorophore se retrouve alors plus polaire à l'état excité qu'à l'état fondamental provoquant une fluorescence à des longueurs d'onde d'autant plus grandes que l'état excité est alors plus stable.

1.1.4.3 Le pH

Les propriétés acido-basiques d'une molécule ne sont pas les mêmes à l'état fondamental S_0 qu'à l'état excité S_n provoquant ainsi des modifications dans les spectres d'absorption et de fluorescence. La redistribution de la densité électronique au cours de

l'excitation est l'une des causes possibles.

Un cas particulièrement intéressant est celui où l'acide (ou la base) est plus fort à l'état excité qu'à l'état fondamental, puisque dans ce cas, l'excitation peut déclencher un transfert de proton. Le caractère acide du groupe donneur de proton (par exemple $-OH$ sur un noyau aromatique) peut être exalté lors de l'excitation de sorte que le pK_a de ce groupe à l'état excité est beaucoup plus petit que le pK_a à l'état fondamental. Au contraire, le pK_a d'un groupe accepteur de proton (par exemple un atome d'azote hétérocyclique) à l'état excité est plus élevé que le pK_a de l'état fondamental.

1.1.4.4 Le photoblanchiment

Le « photobleaching » (photoblanchiment) correspond à une perte progressive de l'intensité de fluorescence d'une molécule résultant d'une interaction entre l'excitation lumineuse et le fluorophore.

La perte de fluorescence est souvent due à la « photo-oxydation », qui correspond à l'oxydation du fluorophore en présence de lumière. C'est un processus irréversible : la molécule photoblanchie peut avoir subi une modification structurale donnant lieu à une nouvelle molécule fluorescente ou non, ayant des propriétés photophysiques différentes.

Le phénomène de photoblanchiment dépend de la longueur d'onde et de la puissance de l'excitation lumineuse mais aussi de la structure du fluorophore et de son environnement. Un exemple de photoblanchiment est présenté dans la figure suivante où l'on constate la diminution de la fluorescence sur une cellule fibroblaste. Après une longue exposition, la fluorescence du noyau a disparu et la fluorescence verte diminue. La fluorescence rouge reste quant à elle, inchangée (FIGURE 1.8).

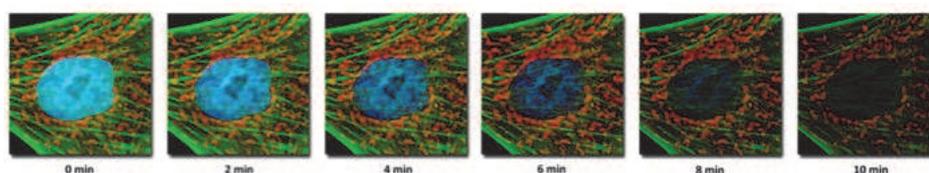


FIGURE 1.8 – Photoblanchiment du fluorophore au sein d'une fibroblaste

1.1.4.5 Le quenching

Le quenching de la fluorescence est une diminution du rendement quantique d'un fluorochrome provoqué par les conditions environnementales comme la force ionique, le pH,

l'effet des solvants ou la présence d'autres fluorochromes qui réduisent l'efficacité d'émission.

Le quenching par collision s'effectue quand l'état excité du fluorophore se trouve désactivé à la suite d'un contact avec une autre molécule en solution, appelée « quencher ». Dans ce cas, le fluorophore retourne à l'état fondamental sans émission de fluorescence et les molécules ne sont pas endommagées chimiquement par ce procédé. Un grand nombre de molécules peuvent agir comme quenchers : l'oxygène, les halogènes, les amines et les molécules déficientes en électrons.

Un autre procédé de quenching existe en plus du quenching par collision. Des fluorophores peuvent former des complexes non-fluorescents avec des quenchers. Ce procédé est appelé quenching statique puisque qu'il a lieu à l'état fondamental et ne dépend pas d'une collision ou d'une diffusion.

Le FRET, *fluorescence resonance energy transfer* est un phénomène de transfert d'énergie décrit par Förster en 1946. Il s'effectue entre un composé donneur à l'état excité et un composé accepteur à l'état fondamental. Les molécules donneuses émettent à de courtes longueurs d'onde et chevauchent le spectre d'absorption des composés accepteurs. Le transfert d'énergie s'effectue alors sans apparition de photon et est le résultat entre les interactions dipole-dipole à longue distance.

Pour que ce phénomène ait lieu, plusieurs conditions doivent être réunies : la distance entre le donneur et l'accepteur doit être de l'ordre de 10 à 100 Å (< 10 nm), les spectres d'émission du donneur et de l'accepteur doivent se chevaucher et l'orientation des dipôles doit être favorable au transfert d'énergie.

Si ces conditions sont réunies, il en résulte une diminution de l'intensité de fluorescence ainsi que de la durée de fluorescence pour le donneur tout en entraînant une augmentation d'intensité de fluorescence de l'accepteur.⁷

7. Broussard, J. A. ; Rappaz, B. ; Webb, D. J. ; Brown, C. M. *Nature Protocols* **2013**, 8, 265–281.

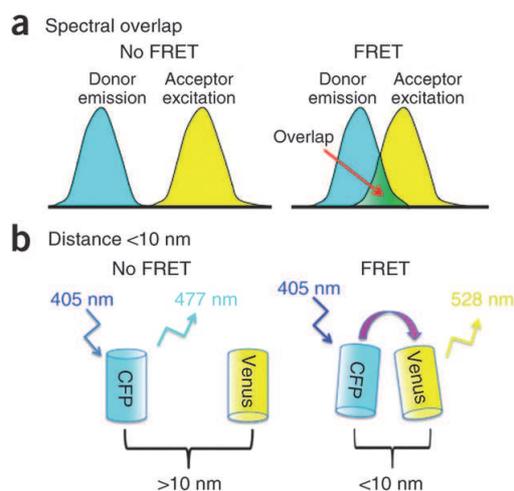


FIGURE 1.9 – Conditions nécessaires au phénomène FRET

1.1.5 Facteurs moléculaires influençant la fluorescence

1.1.5.1 Extension du système π -conjugué

La plupart des molécules fluorescentes sont des composés aromatiques. D'une manière générale, l'extension de la conjugaison entraîne un déplacement des spectres d'absorption et d'émission vers le proche infrarouge mais aussi une augmentation du rendement quantique de fluorescence.¹ Cette règle est illustrée par la série d'hydrocarbures aromatiques : naphthalène, anthracène, naphtacène, pentacène qui émettent respectivement dans l'ultraviolet, le bleu, le vert et le rouge (FIGURE 1.10).

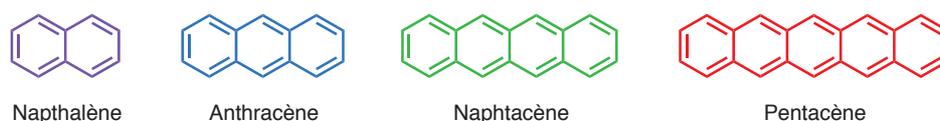


FIGURE 1.10 – Extension du système π

Les transitions de plus basses énergie des hydrocarbures aromatiques sont de type $\pi \rightarrow \pi^*$ et sont caractérisées par un rendement quantique et un coefficient d'extinction molaire élevés. La présence d'un hétéroatome impliqué dans le système aromatique entraîne une transition de type $n \rightarrow \pi^*$ avec un rendement quantique de fluorescence et un coefficient d'extinction molaire beaucoup plus faibles.

1.1.5.2 Hydrocarbures aromatisés substitués

De manière générale, la présence d'atomes lourds sur une molécule aromatique (Br, I, Pb) entraîne une inhibition de la fluorescence favorisant ainsi le passage intersystème.

La substitution par des groupements électrodonneurs ($-\text{OH}$, $-\text{OR}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NR}_2$) provoque une augmentation du coefficient d'extinction molaire ε et un déplacement bathochrome (vers le rouge) des spectres d'absorption et de fluorescence.

La présence de groupements électroattracteurs tels que des fonctions carbonyles ou nitriles rend difficile de prévoir leur influence. En effet, le premier état excité de certaines cétones ou aldéhydes aromatiques est de type $\pi \rightarrow \pi^*$, ce qui leur confère un rendement quantique notable.

1.1.5.3 Composés hétérocycliques

Pour les composés aromatiques comportant un ou plusieurs atomes d'azote hétérocycliques (pyridine, quinoléine, acridine) la transition de plus basse énergie est de type $n \rightarrow \pi^*$, ce qui explique leur faible rendement quantique de fluorescence.

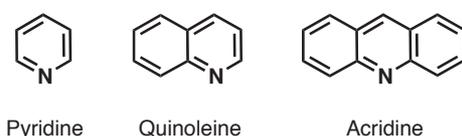


FIGURE 1.11 – Composés azotés hétérocycliques

Cependant, la présence de solvants protiques tels que les alcools (formation de liaisons hydrogène entre l'azote et le solvant) entraîne une inversion des états de plus basse énergie $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$. Le rendement quantique de fluorescence est alors plus élevé que dans les hydrocarbures.

Les fluorophores les plus fréquemment utilisés sont des hétérocycles : coumarines, rhodamines, pyronines, fluorescéines, oxazines etc.

1.1.5.4 Composés subissant un transfert de charge intramoléculaire

Lors de l'excitation d'une molécule fluorescente, un électron est déplacé d'une orbitale vers une autre, créant alors une variation du moment dipolaire du fluorophore. La présence

de groupements électro-attracteur et électro-donneur augmente fortement cette polarisation. En présence de solvant polaire, l'état excité atteint (état localement excité, LE) n'est pas en équilibre avec les molécules de solvant. Dans un milieu suffisamment fluide, les molécules de solvant peuvent tourner pendant la durée de vie de l'état excité jusqu'à ce que la couche de solvation soit en équilibre thermodynamique avec le fluorophore. Un état de transfert de charge intramoléculaire (ICT) relaxé est ainsi atteint. Une telle relaxation de solvant explique le déplacement du spectre de fluorescence vers les grandes longueurs d'onde quand la polarité du solvant augmente.

La relaxation vers un état ICT peut s'accompagner d'une rotation au sein du fluorophore. L'exemple le plus caractéristique est celui du 4-*N,N*-diméthylaminobenzonitrile (DMABN) (FIGURE 1.12). Cette molécule a fait l'objet de plusieurs études car elle possède une double fluorescence en présence de solvants polaires.

En effet, à l'état fondamental, le DMABN est presque plan, ce qui correspond au maximum de conjugaison entre le groupe diméthylamino et le groupe phényle. Selon Franck-Condon, l'état localement excité LE est également plan, mais la relaxation du solvant qui s'accompagne d'une rotation à 90 ° C du groupe -NMe₂ détruit la conjugaison. L'état alors atteint, appelé état TICT (Twisted Intramolecular Charge Transfer) est stabilisé par les molécules de solvants polaires. La séparation de charge entre les groupes attracteur et donneur est alors totale. On observe alors une seconde bande située dans les plus grandes longueurs d'onde et qui correspond à l'émission à partir de l'état TICT.⁸

8. Lippert, E.; Rettig, W.; Bonacic-Koutecky, V.; Heisel, F.; Miehé, J. A. *Advances in Chemical Physics* **1987**, *LXVIII*, 1–173.

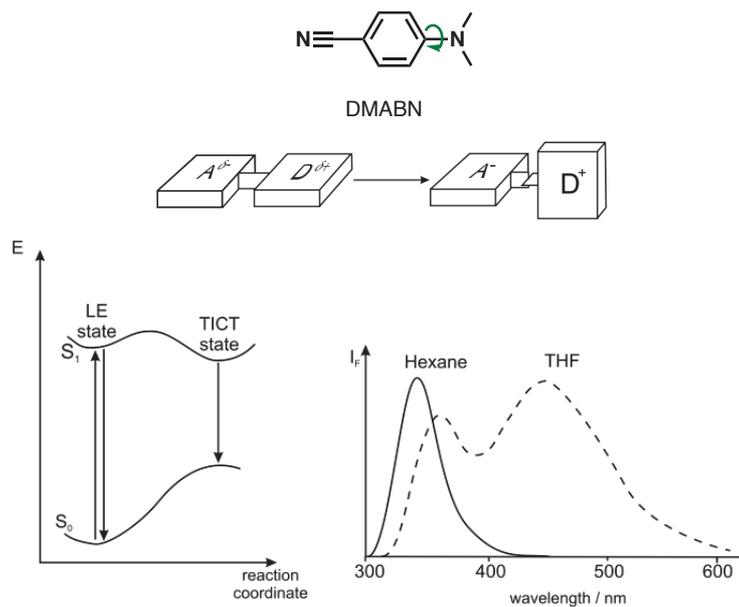


FIGURE 1.12 – Diagramme d'énergie potentielle du DMABN et le spectre de fluorescence dans l'hexane et le THF

De manière quasi générale, les rotations internes favorisent les voies supplémentaires de désexcitation non radiative. Par exemple, la présence d'un pont sur une structure triphénylméthane avec un hétéroatome réduit la possibilité de rotation interne, comme on peut le voir pour la rhodamine B et la fluorescéine sous forme anionique (FIGURE 1.13).

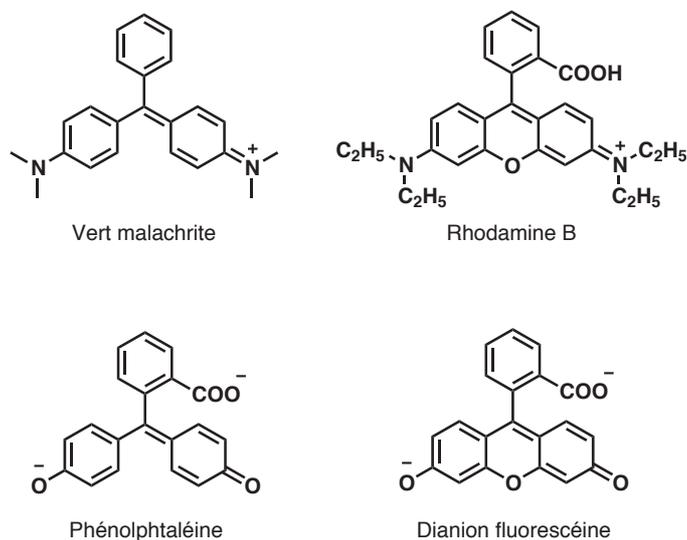


FIGURE 1.13 – Exemples de molécules avec et sans rotation interne

1.2 Grandes familles de fluorophores

Les fluorophores sont répartis en deux familles principales, les fluorophores naturels seront très brièvement présentés dans une première partie et les fluorophores synthétiques que nous décrirons plus précisément dans une seconde partie. Voici quelques exemples des fluorophores d'intérêt biologique, classés en fonction de leur brillance. Les couleurs représentent le maximum de leur longueur d'onde d'émission.⁹

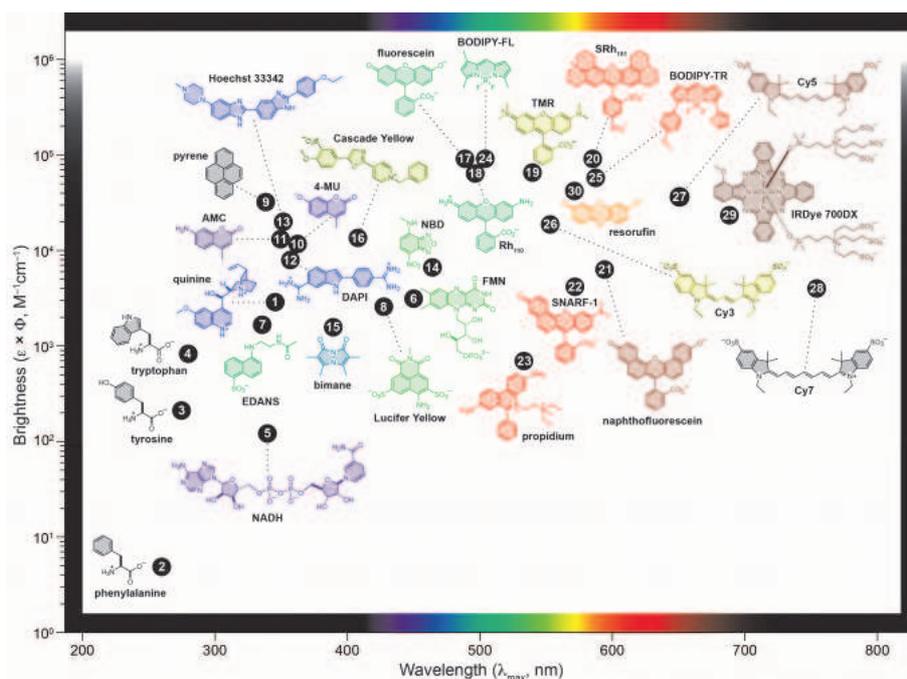


FIGURE 1.14 – Fluorophores d'intérêt biologique

1.2.1 Fluorophores naturels

Certaines substances biologiques comportent des molécules naturellement fluorescentes aussi appelées autofluorescentes. Les premières publications sur des molécules autofluorescentes remontent au 16^e siècle avec la découverte de Monardes concernant l'extrait de *Lignum nephriticum*, qui correspond à l'oxydation de la flavonoïde. D'autres fluorophores naturels ont été découverts par la suite, tels que : la quinine, la chlorophylle, le curcumin...

L'importance apportée aux molécules autofluorescentes est principalement liée aux applications diagnostiques et comme outils pour la compréhension des mécanismes

9. Lavis, L. D. ; Raines, R. T. *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3*, 142–155.

d'interaction moléculaires sous les conditions naturelles. L'étude de cellules et tissus autofluorescents devient possible avec l'invention de la microscopie à fluorescence en 1908.⁶

Parmi les fluorophores naturels présents dans les cellules et les tissus, nous pouvons citer les aminoacides aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine), NADH, flavines, les dérivés de la chlorophylle...

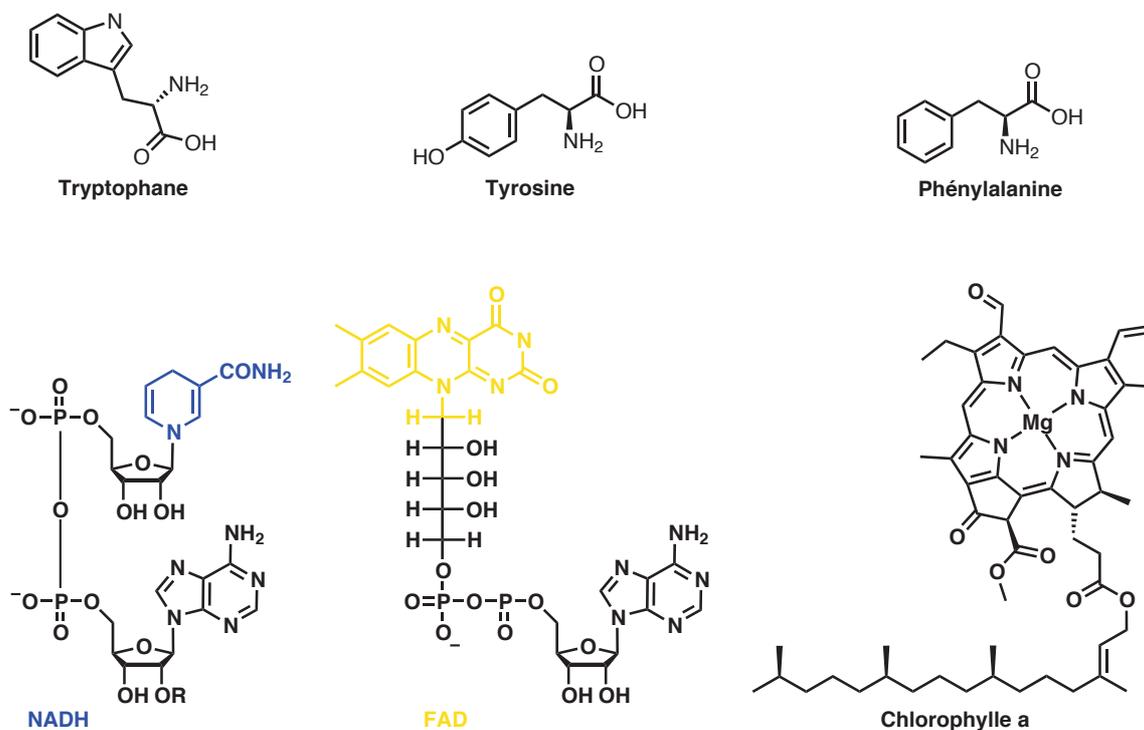


FIGURE 1.15 – Exemples de fluorophores naturels

L'une des molécules naturelles la plus connue et la plus utilisée est la « green fluorescent protein » (GFP) découverte en 1962 par Shimomura. Cette découverte lui a valu le Prix Nobel de Chimie en 2008 avec Tsien et Chalfie pour leurs applications sur la GFP et ses dérivés.¹⁰⁻¹² C'est une protéine isolée provenant de la méduse *Aequorea victoria* présente en abondance dans les années 1960-1980, sur la cote de l'État de Washington à Friday Harbor (FIGURE 1.16).

10. Shimomura, O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5590–5602.

11. Tsien, R. Y. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5612–5626.

12. Chalfie, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5603–5611.

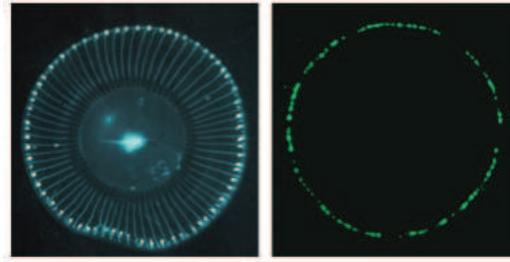


FIGURE 1.16 – *Aequorea* à la lumière du jour (gauche) et dans le noir après excitation (droite)

Cette protéine possède le fluorophore au sein de sa chaîne peptidique contrairement aux protéines fluorescentes qui sont composées d'une protéine et d'un fluorophore greffé à l'extrémité (FIGURE 1.17).^{13,14}

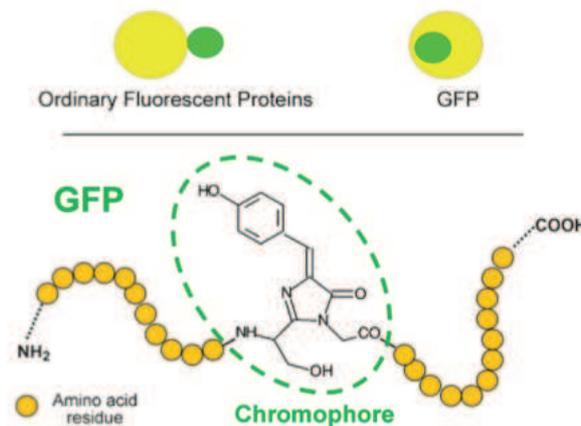


FIGURE 1.17 – Structure du chromophore dans la molécule GFP

C'est un outil idéal pour visualiser *in vivo* les phénomènes cellulaires pour plusieurs raisons : 1) c'est une assez petite protéine de 238 acides aminés ; 2) elle est active sous forme de monomère ; 3) elle peut être facilement excitée dans l'ultraviolet ou dans le bleu ; 4) c'est une protéine stable avec un grand rendement quantique et qui présente une bonne résistance au photoblanchiment et 5) c'est une protéine active qui ne nécessite pas de cofacteur ou d'autres petites molécules pour fluorescer.¹²

De plus, les travaux du groupe de Tsien¹¹ ont permis d'étendre la gamme spectrale via la synthèse d'une palette de protéines fluorescentes monomériques du visible jusqu'à 648 nm (FIGURE 1.18).

13. Cody, C. W. ; Prasher, D. C. ; Westler, W. M. ; Prendergast, F. G. ; Ward, W. W. *Biochemistry* **1993**, *32*, 1212–1218.

14. Ormö, M. ; Cubitt, A. B. ; Kallio, K. *et al. Science* **1996**, *273*, 1392–1395.

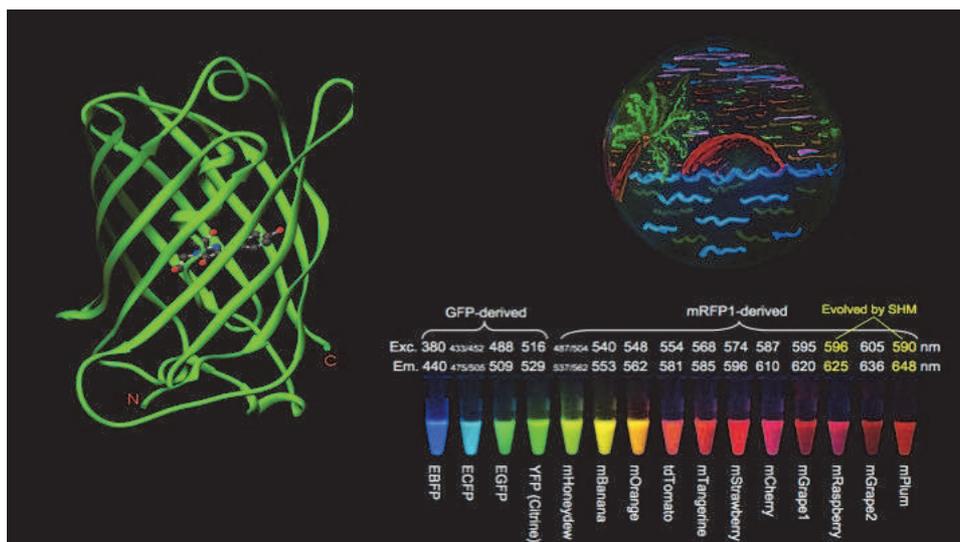


FIGURE 1.18 – Structure 3D de la GFP et sa gamme spectrale ainsi que celle de ses dérivés

1.2.2 Fluorophores synthétiques

Les fluorophores synthétiques peuvent être divisés en trois groupes : les oligomères π -conjugués, les complexes organométalliques, les petites molécules organiques fluorescentes (fluorescent organic dyes).¹⁵

1.2.2.1 Oligomères

Les oligomères sont constitués d'une chaîne composée d'un petit nombre de motifs monomères allant de 2 à quelques dizaines et dont le degré de polymérisation est inférieur à 30.

Ce type de composé possède des propriétés opto-électroniques intéressantes¹⁶ et trouve leurs applications dans les appareils opto-électroniques tels que les OLED (Organic Light-Emitting Diode), les OFET (Organic Field-Effect Transistor) et les lasers.

Deux principales familles d'oligomères π -conjugués ont été étudiées. La première famille est celle des dérivés OPV oligo(*p*-phénylènevinylène) dont leur utilisation dans le domaine des LED (Light Emitting Diode) s'est répandu depuis les années 1990.¹⁷

15. Kim, E. ; Park, S. B. *Chem. Asian J.* **2009**, *4*, 1646–1658.

16. Martin, R. E. ; Diederich, F. *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1440–1469.

17. Burroughes, J. H. ; Bradley, D. D. C. ; Brown, A. R. *et al.* *Nature* **1990**, *347*, 539–541.

Plusieurs groupes ont contribué à l'étude des propriétés opto-électroniques des OPV¹⁸⁻²⁰ tel que le groupe de Webb qui a étudié la relation structure-propriétés photophysiques de ces oligomères pour une application en absorption à deux photons.²¹ Ils ont ainsi montré que la longueur d'onde d'émission pouvait être déplacée en augmentant la longueur du lien π -conjugué ou le transfert de charge intramoléculaire *via* la présence de groupements électro-attracteur ou électro-donneur aux extrémités de la molécule (FIGURE 1.19).²²

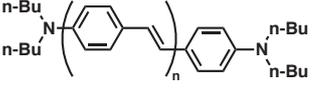
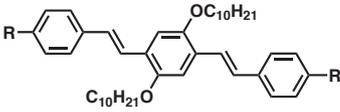
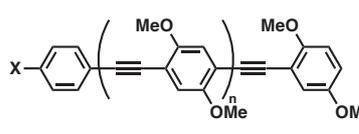
	n	1	2					
	λ_{em} (nm)	410	455					
	Φ_F	0.90	0.88					
	R	H	OCH ₃	Br	COOCH ₃	CN	CHO	NO ₂
	λ_{em} (nm)	444	446	452	474	479	502	610
	Φ_F	0.65	0.09	0.48	0.96	0.85	0.68	0.08

FIGURE 1.19 – Étude structure-propriétés photophysiques des composés OPV

La seconde famille concerne les dérivés OPE oligo(*p*-phénylèneéthynylène) comportant les liens acétyléniques. L'équipe de Yamaguchi a étudié les relations structure-propriétés photophysiques en fonction de la longueur de la π -conjugaison, du groupement électro-attracteur et du groupement électro-donneur présent sur l'oligomère. On constate alors que l'extension de la conjugaison entraîne un effet bathochrome, c'est-à-dire un déplacement vers les grandes longueurs d'onde, pour l'émission. De plus, la présence d'un groupement électro-attracteur ($-\text{CF}_3$, $-\text{CO}_2\text{Me}$ et $-\text{CN}$) permet d'obtenir une augmentation du rendement quantique Φ_F en plus de l'effet bathochrome (FIGURE 1.20)²³

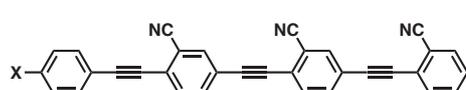
18. Nishizawa, T. ; Lim, H. K. ; Tajima, K. ; Hashimoto, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2464–2465.
 19. Liang, T.-T. ; Naitoh, Y. ; Horikawa, M. ; Ishida, T. ; Mizutani, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13720–13726.
 20. Tajima, K. ; Li, L.-S. ; Stupp, S. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5488–5495.
 21. Albota, M. ; Beljonne, D. ; Brédas, J.-L. *et al. Science* **1998**, *281*, 1653–1656.
 22. Jiu, T. ; Li, Y. ; Liu, H. *et al. Tetrahedron* **2007**, *63*, 3168–3172.
 23. Yamaguchi, Y. ; Tanaka, T. ; Kobayashi, S. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9332–9333.



n	1				2			
	R	H	CF ₃	CO ₂ Me	CN	H	CF ₃	CO ₂ Me
λ _{em} (nm)	401	411	428	434	430	435	441	447
Φ _F	0.76	0.78	0.78	0.79	0.81	0.86	0.85	0.91

FIGURE 1.20 – Influence du groupement électro-attracteur sur des OPE

La présence de groupement électro-donneur (–Me, –OMe, –SMe, –NMe₂) en bout de chaîne permet d’obtenir un meilleur déplacement bathochrome avec un déplacement de plus d’une centaine de nm par rapport au groupement électro-attracteur (–CN) (FIGURE 1.38).²⁴



X	CN	Me	OMe	SMe	NMe ₂
λ _{em} (nm)	392	403	434	455	555
Φ _F	0.86	0.96	0.98	0.97	1

FIGURE 1.21 – Influence du groupement sur des OPE

Parmi les différents types d’oligomères synthétisés ces dernières années, différents facteurs autres que les groupements électro-donneur ou attracteur ainsi que la longueur de la conjugaison ont été étudiés. Notamment dans le groupe de Kim, où des modifications ont été réalisées sur le coeur et la périphérie des fluorophores afin d’influencer les spectres d’absorption et d’émission. On peut alors constater que les modifications du coeur ont plus d’effet sur les propriétés photophysiques des oligomères étudiés (FIGURE 1.22).^{25,26}

24. Yamaguchi, Y. ; Ochi, T. ; Wakamiya, T. ; Matsubara, Y. ; Yoshida, Z.-i. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 717–720.

25. Hwang, G. T. ; Son, H. S. ; Ku, J. K. ; Kim, B. H. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2469–2471.

26. Hwang, G. T. ; Son, H. S. ; Ku, J. K. ; Kim, B. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11241–11248.

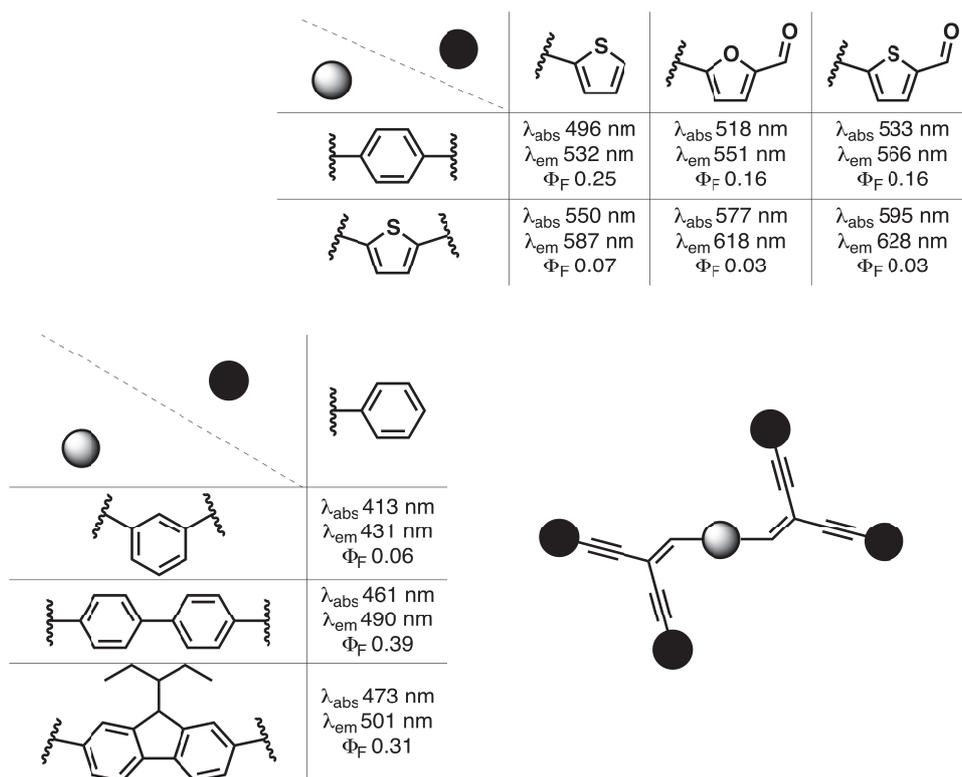


FIGURE 1.22 – Variations du coeur et de la périphérie de l'oligomère

1.2.2.2 Complexes organométalliques

De la même façon que les oligomères π -conjugués, les complexes organométalliques présentent de bonnes propriétés photophysiques et trouvent de nombreuses applications pour la synthèse de matériaux luminescents et de semi-conducteurs inorganiques.

Les premiers oligomères ont été découverts par le groupe de Tang en 1987 avec le *tris*-(8-hydroxyquinolato)aluminium (AlQ_3). Les AlQ_3 possèdent un ion central métallique Al^{3+} entouré de trois anions bidentates 8-hydroxyquinoline comme représentés ci-dessous (FIGURE 1.23). Plusieurs modifications ont eu lieu depuis, afin d'introduire différents substituants sur les ligands quinoléiques. Notamment, les travaux de l'équipe de Anzenbacher ont montré qu'il était possible de contrôler les propriétés photophysiques des systèmes AlQ_3 en fonction des groupements électro-attracteur ou électro-donneur et de la présence ou non de liens acétyléniques (FIGURE 1.23).²⁷

27. Montes, V. A.; Pohl, R.; Shinar, J.; Anzenbacher, P. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 4523–4535.

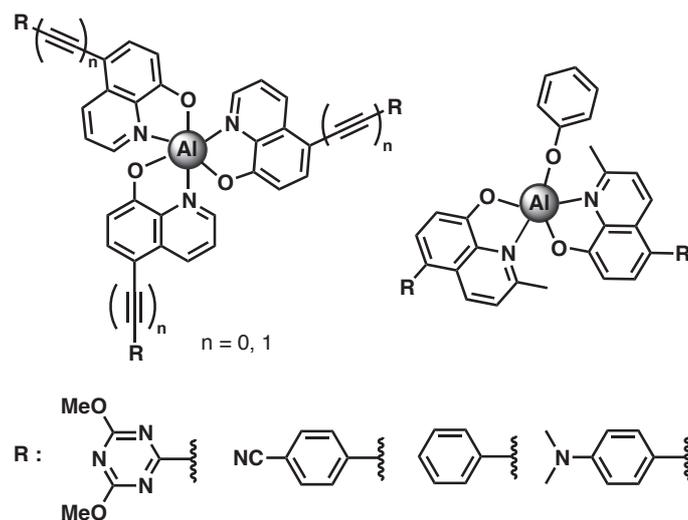


FIGURE 1.23 – Exemples de structures AlQ_3

L'utilisation de métaux lourds tels que l'iridium a aussi beaucoup été étudiée en raison de leur grand rendement quantique de phosphorescence et de leur longue durée de vie (≈ 15 ns). Les groupes de Thomson et Forrest ont réalisé des séries de complexes à l'iridium en variant les ligands bidentates et secondaires afin d'étudier leurs propriétés photophysiques. Certains exemples sont représentés ci-dessous.^{28,29}

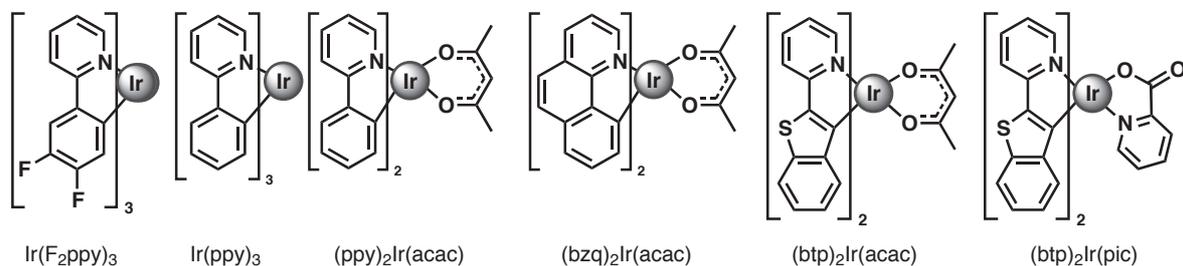


FIGURE 1.24 – Exemples de complexes à l'iridium

D'autres métaux ont aussi été utilisés comme ion central tels que le béryllium, le lithium, le zinc et des lanthanides dont quelques exemples sont représentés dans la figure suivante (FIGURE 1.25).^{30,31}

28. Sajoto, T.; Djurovich, P. I.; Tamayo, A. *et al. Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 7992–8003.

29. Lamansky, S.; Djurovich, P.; Murphy, D. *et al. Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 1704–1711.

30. Chen, C. H.; Shi, J. *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *171*, 161–174.

31. Wang, S. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *215*, 79–98.

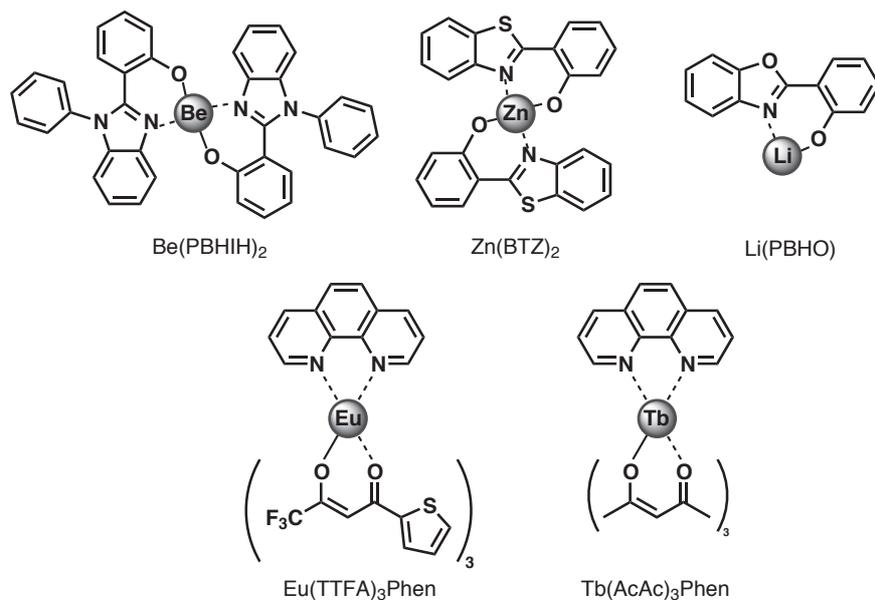


FIGURE 1.25 – Exemples de structures de complexes organométalliques

1.2.2.3 Petites molécules organiques fluorescentes

Les petites molécules organiques fluorescentes ont beaucoup été étudiées pour différentes applications dans les matériaux et les sciences biomédicales. De plus, de nombreuses études ont été effectuées dans le but de découvrir de nouveaux fluorophores mais aussi dans le but d'améliorer leurs propriétés photophysiques telles que le rendement quantique, le déplacement de Stokes, les longueurs d'onde d'absorption et d'émission... Malgré un grand nombre de fluorophores différents, il n'existe qu'un nombre limité de squelette possédant suffisamment de flexibilité pour permettre ces améliorations *via* différentes voies de synthèse.

Un exemple connu de fluorophore organique concerne les cyanines dont les propriétés photophysiques sont fortement modifiées en fonction de leur structures (FIGURE 1.26).^{32,33}

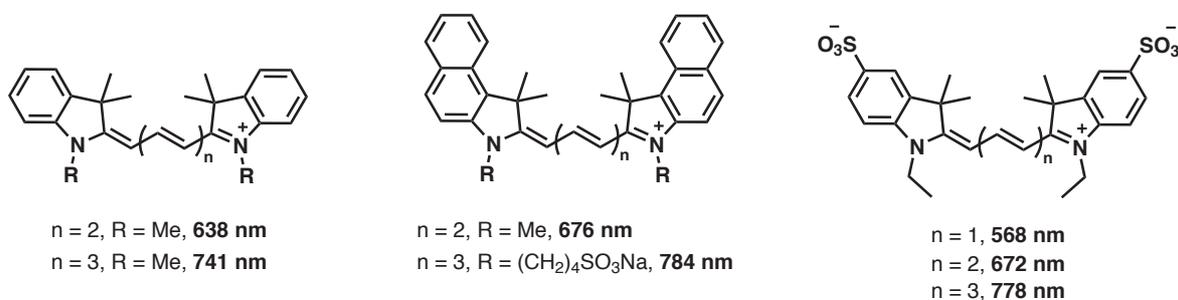


FIGURE 1.26 – Influence des modulations sur les propriétés photophysiques des cyanines

32. Benson, R. C. ; Kues, H. A. *J. Chem. Eng. Data* **1977**, *22*, 379–383.

33. Fabian, J. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1197–1226.

On constate ainsi que l'extension de la conjugaison par ajout d'une double liaison sur la chaîne entraîne un effet bathochrome de 100 nm. De même, l'orthocondensation sur les cycles benzéniques permet l'obtention d'un effet bathochrome de 20-40 nm. Ces variations de longueur d'onde d'émission basées sur la compréhension des relations structure-propriétés photophysiques des cyanines ont alors permis de développer des fluorophores émettant dans le proche infrarouge.^{34,35}

1.2.2.3.a Anthracène

L'anthracène est un composé aromatique tricyclique, dont les 3 cycles benzéniques sont linéaires. Il fut synthétisé pour la première fois par Richard Anschütz en 1883.

L'anthracène est incolore mais une fois soumis aux UV, il peut présenter une fluorescence bleue à 400 et 440 nm pouvant provoquer sa photodimérisation (FIGURE 1.27).

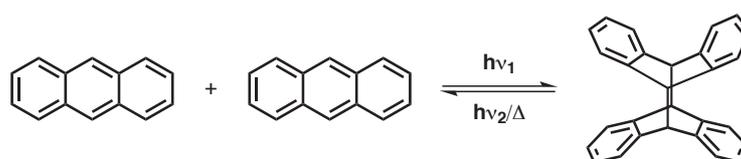


FIGURE 1.27 – Photodimérisation de l'anthracène

L'anthracène a beaucoup été utilisé en fluorescence et l'influence des substitutions en positions 2 et 6 ont été étudiées par les groupes de Yamashita et Twieg, en voici un exemple.^{36,37}

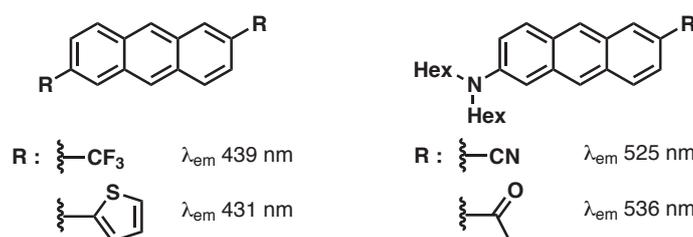


FIGURE 1.28 – Influence des substitutions en positions 2 et 6 sur l'anthracène

L'introduction d'hétéroatomes sur l'anthracène a une influence sur les résultats photophysiques. En effet, un décalage vers le rouge pour les longueurs d'onde d'émission et

34. Kundu, K.; Knight, S. F.; Willett, N. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 299–303.

35. Lin, Y.; Weissleder, R.; Tung, C.-H. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 605–610.

36. Ando, S.; Nishida, J.-i.; Fujiwara, E. *et al. Chem. Mater.* **2005**, *17*, 1261–1264.

37. Lu, Z.; Lord, S. J.; Wang, H.; Moerner, W. E.; Twieg, R. J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9651–9657.

d'absorption est possible en présence de soufre entre le naphthalène et le coeur anthracène (FIGURE 1.29).^{38,39}

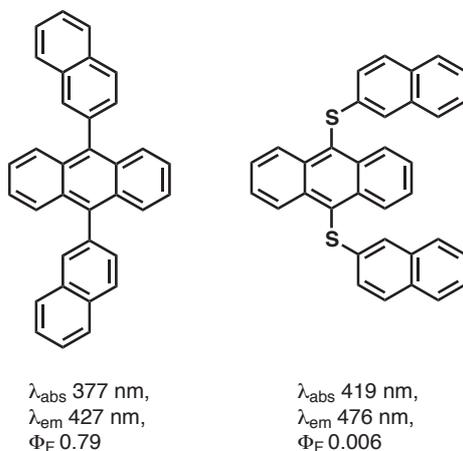


FIGURE 1.29 – Influence des substitutions en positions 9 et 10 sur l’anthracène

1.2.2.3.b Coumarine

La coumarine est un composé naturel aromatique bicyclique comportant une fonction carbonyle. Ce terme désigne aussi une classe de composés phénoliques dont la forme la plus simple est celle de la 2*H*-1-benzopyrane-2-one (FIGURE 1.30).

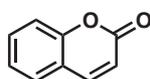


FIGURE 1.30 – 2*H*-1-benzopyrane-2-one

Les propriétés luminescentes des coumarines ont largement été étudiées, notamment par le groupe de Takadate.^{40,41} Il a été montré que les résultats photophysiques variaient en fonction de l’origine des substituants et de leur position. De plus, Takadate a aussi expliqué le lien entre le transfert de charge intramoléculaire (ICT) et les résultats photophysiques des dérivés de la coumarine. Son équipe a utilisé la constante de Hammett (σ_p) qui caractérise le pouvoir électro-attracteur d’un ou plusieurs atomes en prenant comme exemple la 6-méthoxycoumarine. L’effet bathochrome, dû à l’augmentation du pouvoir

38. Nerungsi, C. ; Wanitchang, P. ; Sahasithiwat, S. *et al. Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6392–6395.

39. Tao, S. ; Xu, S. ; Zhang, X. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *429*, 622–627.

40. Takadate, A. ; Masuda, T. ; Murata, C. *et al. Anal. Sci.* **1995**, *11*, 97–101.

41. Takadate, A. ; Masuda, T. ; Murata, C. ; Shibuya, M. ; Isobe, A. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 256–260.

électro-attracteur du substituant en position 3 provoquant une augmentation du transfert de charge, est alors bien visible. (FIGURE 1.31).⁴²

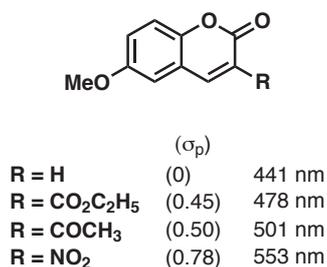


FIGURE 1.31 – Influence du groupement électro-attracteur en position 3

Des études sur les relations structure-propriétés photophysiques des dérivés de coumarine sont toujours en cours. On peut notamment citer les travaux de Romieu et la synthèse d'une nouvelle série de fluorophores hydrosolubles comportant une bande d'émission allant de 485 nm à 631 nm, dont trois exemples sont présentés ci-dessous.⁴³

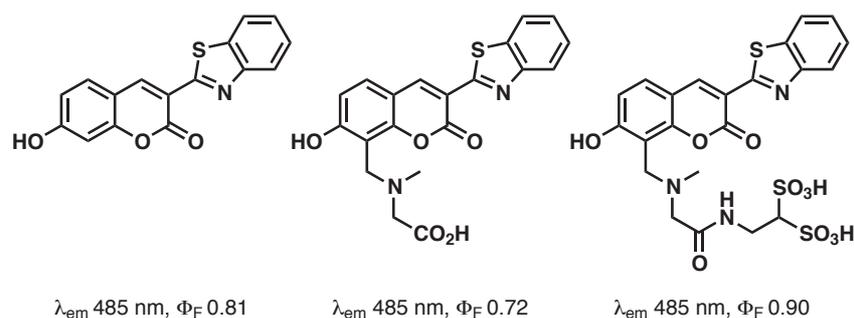


FIGURE 1.32 – Relation structure-propriétés photophysiques de dérivés de coumarines hydrosolubles

1.2.2.3.c Fluorescéine et rhodamine

Les fluorescéines et les rhodamines (FIGURE 1.33) sont des composés organiques hétérotricycliques fluorescents, basés sur la fluorone. Ces derniers sont des colorants bien connus, dérivés du **xanthène** et utilisés notamment pour colorer les lasers. Ces colorants ont des maxima d'absorption dans les grandes longueurs d'ondes 480 et 600 nm et des longueurs d'ondes d'émission allant de 510 à 615 nm. Les rhodamines ont des spectres d'émission et d'absorption très étroits mais un déplacement de Stokes petit.

42. Murata, C. ; Masuda, T. ; Kamochi, Y. *et al. Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 750–758.

43. Roubinet, B. ; Renard, P.-Y. ; Romieu, A. *Dyes and Pigments* **2014**, in press.

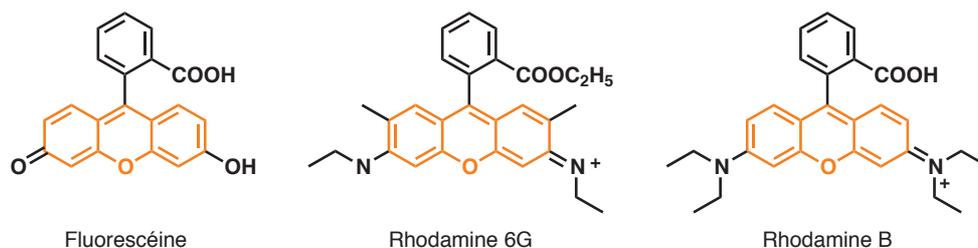


FIGURE 1.33 – Fluorescéine et rhodamines

Une des utilisations les plus répandues des fluorescéines et des rhodamines est le marquage d'anticorps. Une large catégorie d'immunoglobuline marquée par ces colorants est disponible dans le commerce et ces protéines sont fréquemment utilisées en microscopie de fluorescence et en immunoessais. En effet, elles possèdent de grands rendements quantiques de fluorescence et de grandes longueurs d'onde d'absorption et d'émission, ce qui permet de réduire tout problème d'absorption et de fluorescence du milieu environnemental.³

Le groupe carboxyphényle des rhodamines est peu impliqué dans la conjugaison du système π puisqu'il se retrouve orienté perpendiculairement au noyau xanthénique, à cause de son encombrement stérique. On obtient alors des composés appelés pyronines aux propriétés photophysiques comparables aux rhodamines. Lorsque l'on remplace l'atome de carbone du noyau central (opposé à l'oxygène) par un azote, on obtient une nouvelle famille de fluorophores appelés oxazines qui sont utilisées comme colorant de laser dans la région 600-750 nm (FIGURE 1.34).

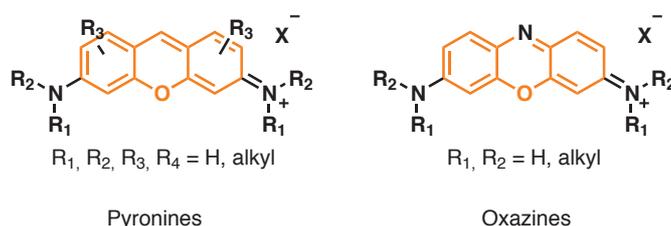


FIGURE 1.34 – Pyronines et oxazines

La fluorescéine est elle aussi très utilisée grâce à sa forte intensité, son excellente solubilité dans l'eau et son grand coefficient d'extinction molaire. Elle trouve son application notamment en tant que sonde fluorescente, sonde de cations (Hg^{2+} , Ca^{2+})

et sonde de pH.⁴⁴⁻⁴⁷

Des modifications ont été réalisées afin d'améliorer les propriétés photophysiques des fluorophores.^{48,49} Notamment, l'équipe de Nagano a beaucoup travaillé sur la synthèse de dérivés de la fluorescéine afin d'obtenir une large gamme de fluorophores. Ils ont démontré la structure « donneur-accepteur » de la fluorescéine avec la partie benzénique comme groupement donneur par phénomène d'électron photoinduit et la partie dérivée du xanthène pour le groupement électro-attracteur (FIGURE 1.35). Le système n'est conjugué que si les deux parties sont orthogonales, ce qui est le cas en présence du groupement acide carboxylique.⁵⁰

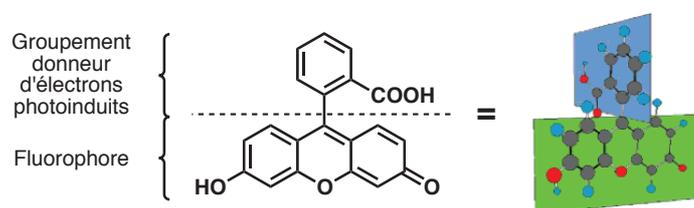


FIGURE 1.35 – Structure push-pull de la fluorescéine

Quasiment tous les dérivés de la fluorescéine comportent le groupement acide carboxylique sur la partie benzénique. Hors Nagano a montré que ce groupement n'avait pas d'influence sur les résultats photophysiques mais que sa présence servait à contraindre l'orthogonalité des parties benzénique et xanthène. On constate alors que le rendement quantique et les longueurs d'onde d'émission restent les mêmes avec un méthyle alors que le rendement quantique chute en présence d'un hydrogène (FIGURE 1.36).⁵⁰

48. Miura, T.; Urano, Y.; Tanaka, K. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8666–8671.

49. Ueno, T.; Urano, Y.; Setsukinai, K.-i. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14079–14085.

50. Urano, Y.; Kamiya, M.; Kanda, K. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4888–4894.

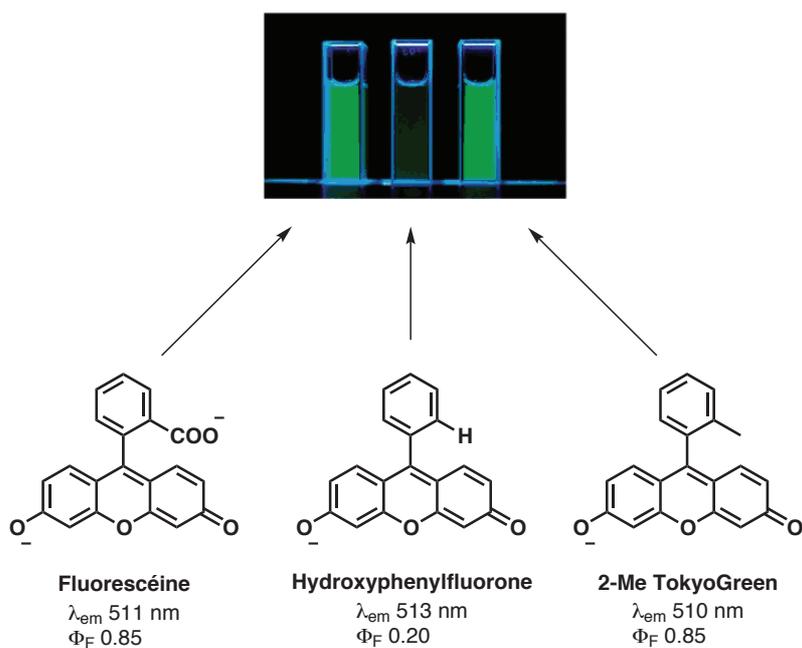


FIGURE 1.36 – Influence du groupement acide carboxylique sur la partie benzénique de la fluorescéine

Le groupement acide carboxylique a ensuite été remplacé par différents substituants afin d'élaborer les nouveaux fluorophores TokyoGreens et TokyoMagentas, élargissant ainsi la gamme spectrale d'émission.^{50,51}

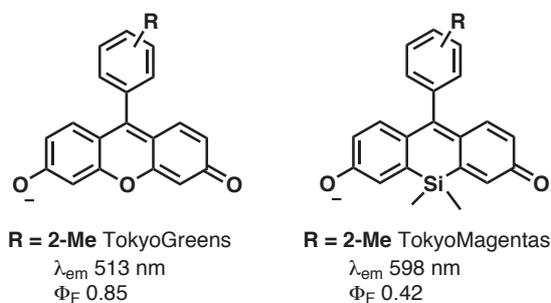


FIGURE 1.37 – Dérivés de la fluorescéine

Depuis, des études sur l'influence des substituants ont aussi été réalisées, dont un exemple est représenté dans la figure ci-dessous.⁵²

51. Egawa, T.; Koide, Y.; Hanaoka, K. *et al. Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4162–4164.

52. Zhang, X.-F.; Zhang, J.; Liu, L. *J. Fluoresc.* **2014**, *24*, 819–826.

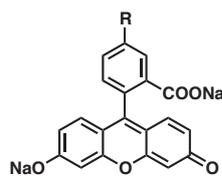
	R	NH ₂	H	COOH	SCN	NO ₂
						
λ_{abs} (nm)		496	500	500	503	507
λ_{em} (nm)		517	522	524	530	523
Φ_{F}		0.044	0.92	0.92	0.84	0.08

FIGURE 1.38 – Influence du groupement en position 5'

1.2.2.3.d BODIPY

Les BODIPY (**bore-dipyrométhène**) sont de petites molécules dérivées du (4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacène) (FIGURE 1.39). Des dérivés de BODIPY ont été synthétisés pour la première fois en 1968 par Treibs et Kreuzer⁵³ mais la première synthèse de BODIPY non substitué n'a eu lieu qu'en 2009, par le groupe de Jung.⁵⁴ En effet, la difficulté de la synthèse est due à la forte possibilité d'une attaque électrophile. Il présente toute fois un intérêt particulier avec une fluorescence de 7.2 ns et une grande photostabilité.

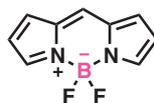


FIGURE 1.39 – 4,4-Difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacène

Depuis ces vingt dernières années, l'intérêt des BODIPY pour des applications biomédicales et bioanalytiques n'a fait que croître.^{55,56} Ils font parti des fluorophores les plus attractifs grâce à leur grand coefficient d'extinction molaire, leur rendement quantique de fluorescence élevé, une bonne photostabilité, d'étroites bandes d'émission et d'absorption et leur excitation aux lasers Ar-Fe (env. 500 nm).^{57,58}

Ils ont cependant comme principal inconvénient une faible émission à l'état solide qui s'explique par leur faible déplacement de Stokes, conduisant à un recouvrement important limitant leurs applications optoélectroniques. De plus, la structure plane du coeur du

53. Treibs, A. ; Kreuzer, F.-H. *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 718, 208–223.

54. Schmitt, A. ; Hinkeldey, B. ; Wild, M. ; Jung, G. *J. Fluoresc.* **2009**, 19, 755–758.

55. Burghart, A. ; Thoresen, L. H. ; Chen, J. *et al. Chem. Commun.* **2000**, 2203–2204.

56. Yogo, T. ; Urano, Y. ; Ishitsuka, Y. ; Maniwa, F. ; Nagano, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12162–12163.

57. Boyer, J. H. ; Haag, A. M. ; Sathyamoorthi, G. ; Soong, M.-L. ; Thangaraj, K. *Heteroatom Chem.* **1993**, 4, 39–49.

58. Falk, H. ; Hofer, O. ; Lehner, H. *Monatshefte für Chemie* **1974**, 105, 169–178.

BODIPY peut faciliter la formation d'agrégats provoquant alors une extinction de la luminescence. L'insertion de groupements encombrés permet de pallier cet inconvénient.⁵⁹ Néanmoins, l'amélioration de la fluorescence induite par l'agrégation peut être une stratégie de choix pour produire des nano-objets fluorescents à partir de molécules non fluorescentes en solution. Dans certains cas, le contrôle de l'agrégation peut faciliter la formation d'agrégats particuliers avec des propriétés d'absorption et d'émission dans le proche infrarouge.^{60,61}

Dans une revue, le Dr. Ziessel classe les BODIPY selon deux grandes familles en fonction des hétéroatomes utilisés N,N ou N,O. Chaque type est alors divisé en sous groupes en fonction du cycle à 5, 6 ou 7 chaînons formé avec l'atome de bore, et des substituants possibles (FIGURE 1.41).⁶²

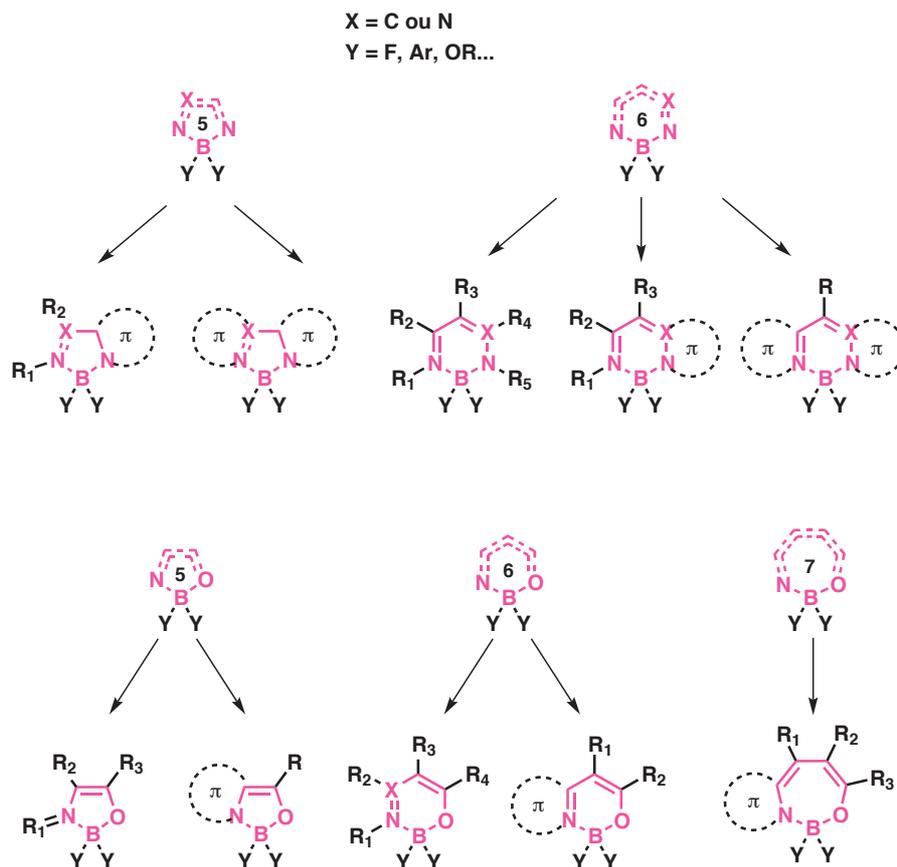


FIGURE 1.40 – Différents groupes de BODIPY pour le type de chélation N,N et N,O

59. Xiao, S.; Cao, Q.; Dan, F. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 2970–2981.

60. Hong, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5361–5388.

61. Olivier, J.-H.; Widmaier, J.; Ziessel, R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 11709–11714.

62. Frath, D.; Massue, J.; Ulrich, G.; Ziessel, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2290–2310.

Dans l'exemple suivant, différents types de BODIPY (N,N; N,O; cycles à 5 et 6 chaînons) sont représentés avec leurs propriétés photophysiques.^{63–66}

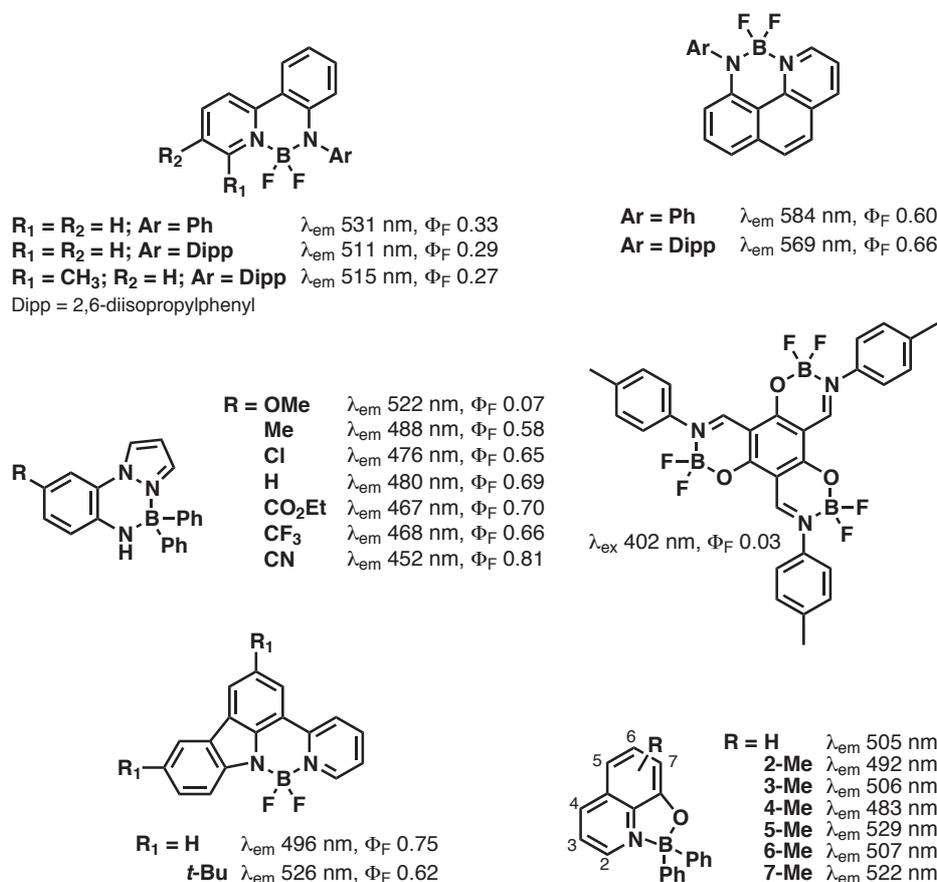


FIGURE 1.41 – Exemples de résultats photophysiques de BODIPY

1.2.2.3.e Quantum dots

Les quantum dots (QDs) ou boîtes quantiques en français sont des nanocristaux semi-conducteurs découverts dans les années 1980 par Alexei Ekimov et Louis E. Brus.⁶⁷ Ces nanoparticules sont de petite taille (entre 2 à 10 nm de diamètre) et sont composées d'un coeur cristallin semi-conducteur. Les couples d'éléments les plus souvent utilisés sont : cadmium/sélénium, cadmium/tellure, indium/arsenic ou indium/phosphore. Ce coeur est ensuite recouvert d'une coque de protection, la plus souvent composée de sulfure de zinc.

63. Liddle, B. J.; Silva, R. M.; Morin, T. J. *et al. J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5637–5646.

64. Araneda, J. F.; Piers, W. E.; Heyne, B.; Parvez, M.; McDonald, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12214–12217.

65. Anderson, S.; Weaver, M. S.; Hudson, A. J. *Synth. Met.* **2000**, *111-112*, 459–463.

66. Riddle, J. A.; Lathrop, S. P.; Bollinger, J. C.; Lee, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10986–10987.

67. Ekimov, A. I.; Onushchenko, A. A. *JETP Lett.* **1981**, *34*, 345–349.

Les nanoparticules cristallines possèdent un grand coefficient d'extinction molaire, une forte brillance et sont peu sensibles au photoblanchiment. De plus, la longueur d'onde d'émission peut-être facilement modulée en fonction de la taille du QD. Il est alors possible d'obtenir une longueur d'onde d'émission allant du bleu au rouge en modifiant la taille du QD (FIGURE 1.42). Contrairement aux fluorophores conventionnels, l'excitation peut être effectuée à n'importe quelle longueur d'onde du moment qu'elle est inférieure à la longueur d'onde d'émission.⁶⁸

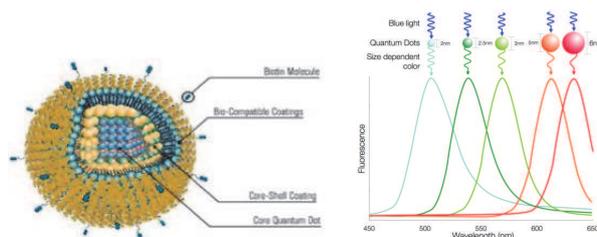


FIGURE 1.42 – Propriété des quantum dots

L'ajout d'une couche de silice permet aux QD d'être alors hydrosoluble, en faisant un outil de choix pour la biologie. Ces nanocristaux peuvent alors être conjugués aux anti-corps, avidine, biotine, etc.⁶⁹ De telles modifications permettent, par exemple, des utilisations pour marquer des fibroblastes⁷⁰ ou des couplages avec des biomolécules pour la détection biologique ultrasensible de cellules telles que HeLa.⁷¹

1.3 Absorption à deux photons

L'optoélectronique définit ce qui est relatif à la technique permettant la transformation des signaux électriques en signaux optiques et inversement.⁷² Cette technique touche de nombreux secteurs d'activité aussi bien grand public (caméscopes, écrans plats à cristaux liquides, lecteurs de CD et de vidéos...) que des secteurs plus spécialisés (imprimantes lasers, capteurs à fibres optiques, liaisons inter satellites...). Plusieurs facteurs ont rendu possible ces réalisations : la maîtrise et l'élaboration des matériaux semi-conducteurs ainsi que la mise au point de diodes laser ; le développement des fibres optiques de haute

68. Oliver, C. ; Jamur, M. C., *Immunocytochemical Methods and Protocols*; Oliver, C., Jamur, M. C., éd. ; Springer : 2009.

69. Liz-Marzán, L. M. ; Giersig, M. ; Mulvaney, P. *Langmuir* **1996**, *12*, 4329–4335.

70. Bruchez Jr, M. ; Moronne, M. ; Gin, P. ; Weiss, S. ; Alivisatos, A. P. *Science* **2014**, *281*, 2013–2016.

71. Chan, W. C. W. ; Nie, S. *Science* **2013**, *281*, 2016–2018.

72. Définition d'optoélectronique.

pureté permettant la transmission des signaux sur plusieurs centaines de kilomètres ; et la découverte des lasers femtosecondes ($1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$) qui sont des sources brèves et très intenses permettant de créer des champs électromagnétiques importants. C'est d'ailleurs grâce à l'arrivée des lasers, que le phénomène d'absorption à deux photons a pu être démontrée expérimentalement.

1.3.1 Principe de l'absorption à deux photons

L'absorption à deux photons est un procédé d'optique non-linéaire du troisième ordre qui a été prédit en 1931 par Maria Göppert-Mayer (co-lauréate avec Hans Daniel Jensen du prix Nobel de Physique en 1963, « pour leurs découvertes à propos de la structure en couches du noyau atomique ») au cours de son doctorat à l'université de Göttingen.⁷³ Elle explique que des photons de plus faible énergie peuvent, ensemble, entraîner une excitation « normalement » obtenue par l'absorption d'un seul photon d'énergie plus élevée.^{74,75} Cependant, la probabilité d'absorption à deux photons obtenue est trop petite pour être mesurée avec la lumière « conventionnelle ». C'est pour cette raison, qu'il a fallu attendre l'arrivée des lasers dans les années 1960 pour observer réellement le phénomène d'ADP. En 1961, un an seulement après l'arrivée du premier laser,⁷⁶ Kaiser et Garrett rapportent la première observation de l'absorption à deux photons dans un échantillon de $\text{CaF}_2:\text{Eu}^{2+}$ cristallin sous la radiation intense d'un laser pulsé aux cristaux de rubis à 694,3 nm.⁷⁷



FIGURE 1.43 – Maria Göppert-Mayer

73. Göppert-Mayer, M. *Annalen der Physik* **1930**, 273–294.

74. Pawlicki, M. ; Collins, H. A. ; Denning, R. G. ; Anderson, H. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3244–3266.

75. He, G. S. ; Tan, L.-S. ; Zheng, Q. ; Prasad, P. N. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1245–1330.

76. Maiman, T. H. *Nature* **1960**, *187*, 493–494.

77. Kaiser, W. ; Garrett, C. *Phys. Rev. Lett.* **1961**, *7*, 229–231.

L'absorption à deux photons est effectuée à une longueur d'onde d'excitation plus grande afin d'éviter l'absorption plus forte d'un seul photon de telle sorte que deux photons soient nécessaires pour atteindre le même niveau d'énergie (FIGURE 1.44). L'absorption des deux photons se fait de façon simultanée et non de façon séquentielle d'où l'absence d'état intermédiaire. L'émission du fluorophore s'effectue à partir du même état excité que pour l'absorption à un photon.

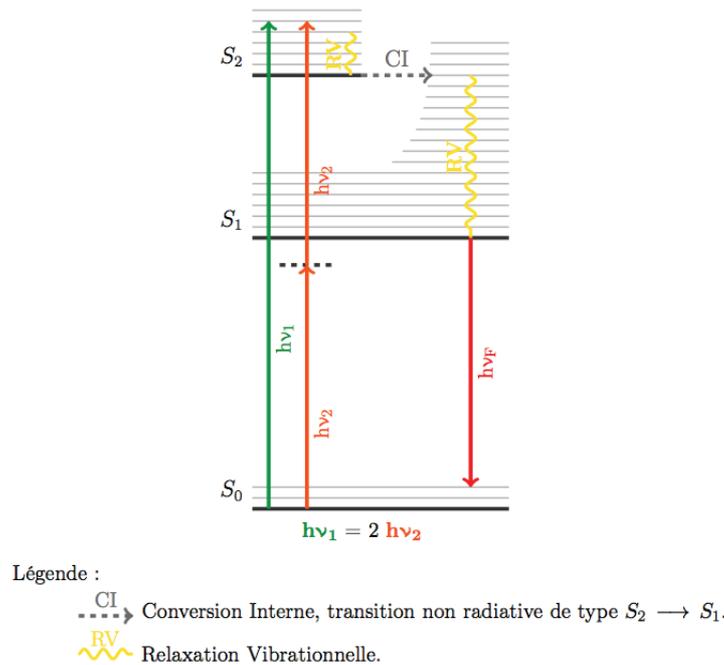


FIGURE 1.44 – Diagramme de Jablonski appliqué à l'absorption à deux photons

L'atténuation du faisceau lumineux passant à travers un milieu s'exprime généralement ainsi :

$$\frac{dI(z)}{dz} = -\alpha I(z) - \beta I^2(z) - \gamma I^3(z) - \eta I^4(z) \quad (1.5)$$

avec $I(z)$ l'intensité du faisceau lumineux incident le long de l'axe z et α , β , γ et η les coefficients d'absorption à 1, 2, 3, 4 photons du milieu. Si l'on considère le rayon incident comme étant uniforme, que l'intensité initiale ne dépend pas du temps et qu'il n'y a pas d'absorption linéaire ($\alpha = 0$) à la longueur d'onde λ , alors pour l'absorption à deux photons, l'équation précédente devient :

$$\frac{dI(z)}{dz} = -\beta I^2(z) \quad (1.6)$$

Cela signifie que la probabilité d'absorption à deux photons d'une molécule donnée est proportionnelle au carré de l'intensité lumineuse. La solution de l'équation 1.6 est donc :

$$I(z, \lambda) = \frac{I_0(\lambda)}{1 + \beta(\lambda) I_0(\lambda) z} \quad (1.7)$$

avec $I_0(\lambda)$ l'intensité du rayon incident, z la longueur de propagation dans le milieu étudié et $\beta(\lambda)$ le coefficient d'ADP qui dépend de la longueur d'onde du rayon incident.

En tant que paramètre macroscopique, et donc dépendant de la concentration des molécules absorbantes à deux photons, $\beta(\lambda)$ peut aussi s'exprimer ainsi :

$$\beta(\lambda) = \sigma'_2(\lambda) N_0 = \sigma'_2(\lambda) N_A d_0 \times 10^{-3} \quad (1.8)$$

où σ'_2 est la section efficace, N_0 la densité moléculaire, N_A le nombre d'Avogadro et d_0 la concentration des molécules absorbantes. La section efficace s'exprime en $\text{cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photons}^{-1} \cdot \text{molécule}^{-1}$, et pour simplifier l'écriture, elle est le plus souvent exprimée en GM (Göppert-Mayer) avec $1 \text{ GM} \equiv 10^{-50} \text{ cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photons}^{-1} \cdot \text{molécule}^{-1}$.⁷⁵

La dépendance au carré est la base même de la nature de l'absorption à deux photons puisque doubler l'intensité lumineuse entraîne une augmentation de la fluorescence par quatre. Focaliser le faisceau réduit donc sa taille mais augmente son intensité, ce qui se traduit par une quantité lumineuse non constante à travers la cuve et un maximum d'intensité au point focal du laser (à droite sur la FIGURE 1.45). C'est donc au point focal que s'effectue l'absorption à deux photons.

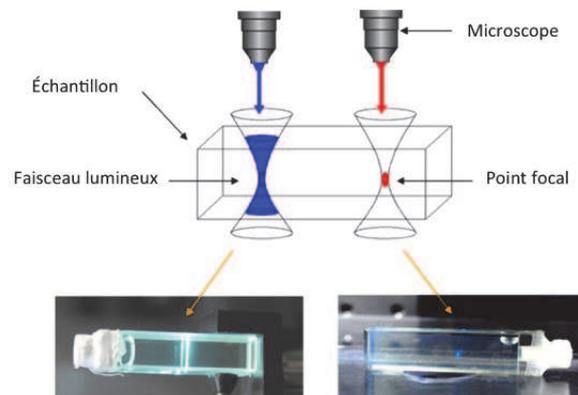


FIGURE 1.45 – Absorption à un photon (gauche) et à deux photons (droite)

1.3.2 Fluorophores

L'absorption à deux photons de composés organiques fluorescents a été démontrée en 1963 par le groupe de Rieckhoff,⁷⁸ mais les études structure-propriétés photophysiques n'ont émergé que plus tard, avec pour objectif la synthèse de composés possédant une grande section efficace.

Plusieurs paramètres ont été montrés comme influençant les résultats photophysiques en absorption à deux photons : le transfert de charge intramoléculaire, notamment avec la présence de groupement terminaux électro-donneurs ou électro-attracteurs ; l'extension de la conjugaison et enfin la coplanarité afin de renforcer le transfert de charge.

Concernant les molécules organiques, trois classes générales peuvent être considérées : les composés dipolaires A- π -D, quadripolaires A- π -A, D- π -D, D- π -A- π -D ou encore A- π -D- π -A et enfin, les composés octupolaires c'est-à-dire les composés « branchés », A₃-(coeur-D) et D₃-(coeur-A). Les pionniers dans ce domaine sont les équipes de Marder,^{21,79-81} Prasad⁸²⁻⁸⁴ et Blanchard-Desce.⁸⁵⁻⁹⁰

Voici quelques exemples de composés linéaires et branchés absorbant à deux photons :

-
78. Peticolas, W. L. ; Goldsborough, J. P. ; Rieckhoff, K. E. *Phys.Rev. Lett.* **1963**, *10*, 43-45.
79. Chung, S.-J. ; Zheng, S. ; Odani, T. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14444-14445.
80. Pond, S. J. K. ; Rumi, M. ; Levin, M. D. *et al. J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11470-11480.
81. Beverina, L. ; Fu, J. ; Leclercq, A. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7282-7283.
82. Reinhardt, B. ; Brott, L. L. ; Clarson, S. J. *et al. Chem. Mater.* **1998**, *10*, 1863-1874.
83. Kannan, R. ; He, G. S. ; Lin, T.-C. *et al. Chem. Mater.* **2004**, *16*, 185-194.
84. Chung, S.-J. ; Kim, K.-S. ; Lin, T.-C. *et al. J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10741-10745.
85. Katan, C. ; Tretiak, S. ; Werts, M. H. V. *et al. J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 9468-9483.
86. Mongin, O. ; Porrès, L. ; Charlot, M. ; Katan, C. ; Blanchard-Desce, M. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 1481-1498.
87. Varnavski, O. ; Yan, X. ; Mongin, O. ; Blanchard-Desce, M. ; Goodson, T. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 149-162.
88. Le Droumaguet, C. ; Mongin, O. ; Werts, M. H. V. ; Blanchard-Desce, M. *Chem. Commun.* **2005**, 2802.
89. Porrès, L. ; Mongin, O. ; Katan, C. *et al. Org. Lett.* **2004**, *6*, 47-50.
90. Ventelon, L. ; Charier, S. ; Moreaux, L. ; Mertz, J. ; Blanchard-Desce, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2098-12101.

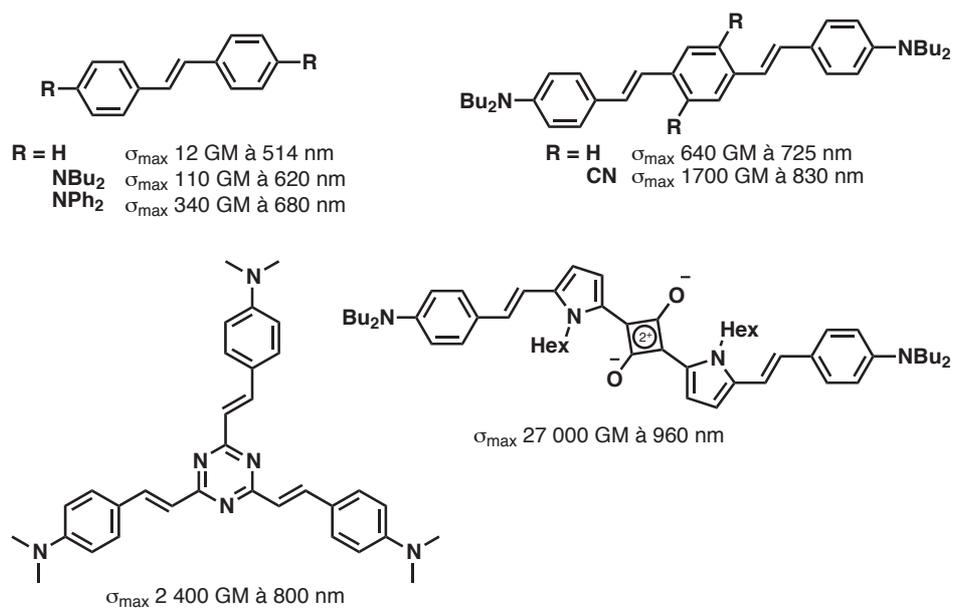


FIGURE 1.46 – Exemples de chromophores linéaires et branchés

D'autres types de composés peuvent être utilisés en absorption à deux photons. Les composés macrocycliques π -conjugués telles que les porphyrines sont de bons candidats pour l'ADP avec leur grand moment dipolaire de transition. Cependant, les monomères simples montrent de faibles sections efficaces en ADP (< 50 GM),^{91,92} contrairement à des structures plus complexes telles que le porphycène. Les porphyrines π -conjuguées étendues présentent elles aussi de bons résultats photophysiques comme le système comportant des azulènes développé par le groupe d'Osuka.⁹³

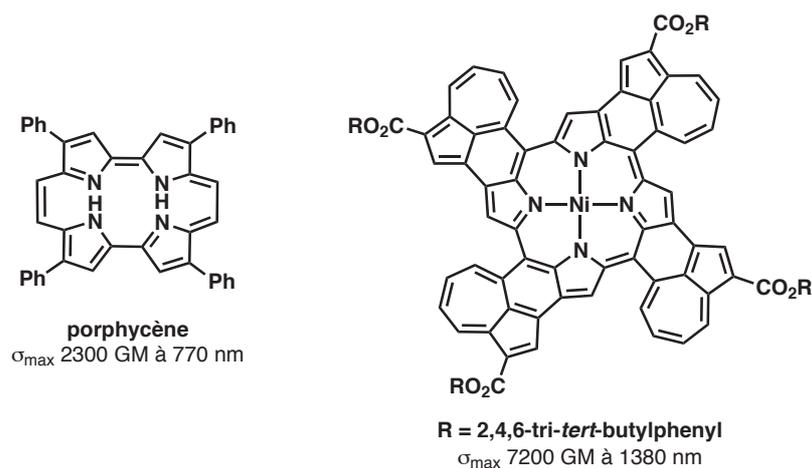


FIGURE 1.47 – Exemples de porphyrines

91. Makarov, N. S.; Drobizhev, M.; Rebane, A. *Opt. Express* **2008**, *16*, 4029–4047.

92. Senge, M. O.; Fazekas, M.; Notaras, E. G. A. *et al. Adv. Mater.* **2007**, *19*, 2737–2774.

93. Kurotobi, K.; Kim, K. S.; Noh, S. B.; Kim, D.; Osuka, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3944–3947.

Osuka, Kim *et coll.* ont aussi démontré que les macrocycles aromatiques permettent d'obtenir des sections efficaces plus importantes que les non-aromatiques, un exemple étant présenté ci-dessous avec les complexes d'octaphyrines.^{74,94,95}

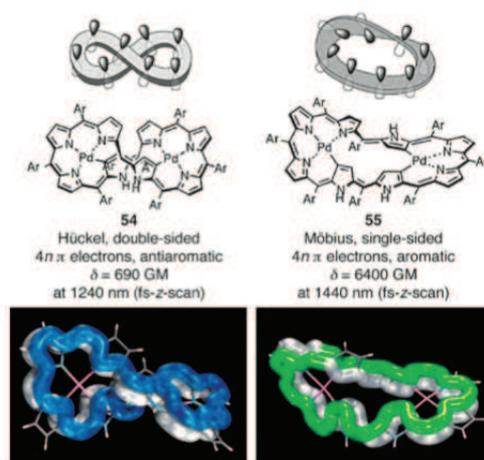


FIGURE 1.48 – Influence de l'aromaticité sur les porphyrines macrocycliques

Les études de Haley, Goodson *et coll.* sur les annulènes ont permis de montrer l'influence du nombre de branches en fonction de la section efficace dont un exemple est présenté dans la figure suivante.⁹⁶

94. Tanaka, Y. ; Saito, S. ; Mori, S. *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 681–684.

95. Lim, J. M. ; Yoon, Z. S. ; Shin, J.-Y. *et al.* *Chem. Commun.* **2009**, 261.

96. Bhaskar, A. ; Guda, R. ; Haley, M. M. ; Goodson *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13972–13973.

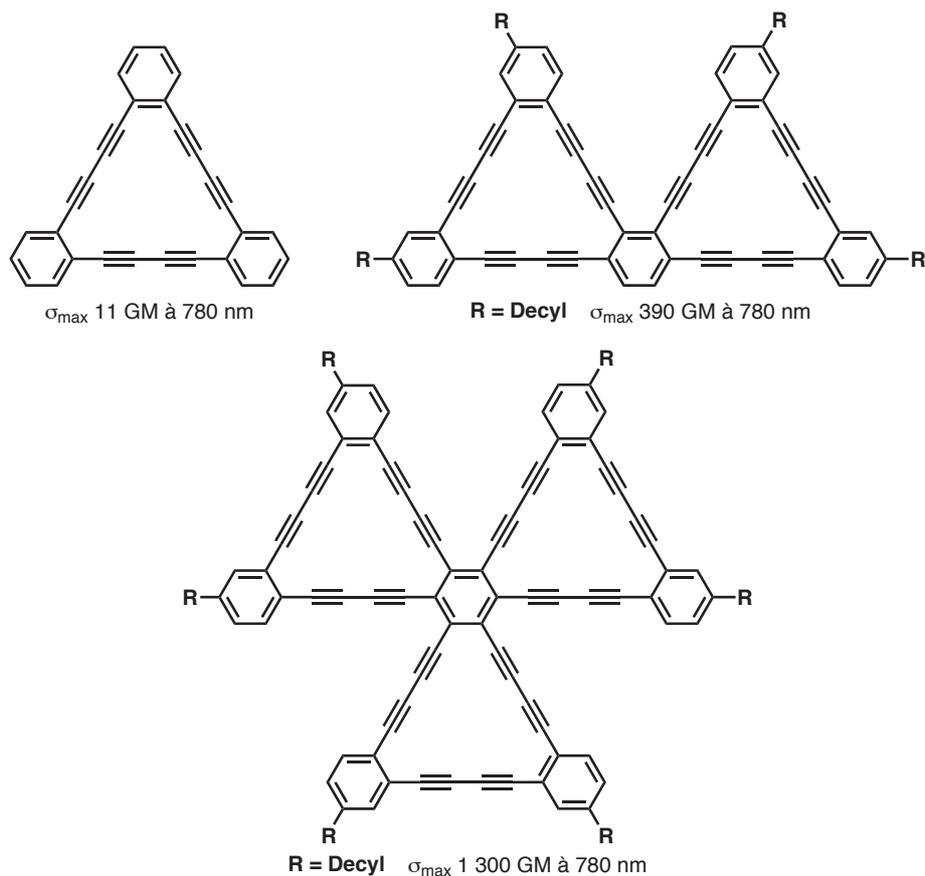


FIGURE 1.49 – Influence du nombre de branche sur les annulènes

L'ensemble des molécules absorbant à deux photons peut être également classé de la même façon que les molécules fluorescentes (cf. section 1.2) : oligomères, complexes métalliques, petites molécules organiques... Seuls quelques exemples ont été cités précédemment. Des revues complètes recensent les molécules absorbant plusieurs photons.^{74,75}

1.3.3 Applications

De nombreuses applications ont été développées à partir du principe de l'ADP, telles que la limitation optique, le stockage optique 3D, l'imagerie médicale, la micro-fabrication et la photochimiothérapie.

1.3.3.1 Traceurs, sondes et capteurs

Les molécules absorbantes à deux photons ont été utilisées en tant que traceurs afin de suivre dans l'organisme les molécules biologiquement actives non fluorescentes. Le

paramètre important de ces composés est la brillance ($\Phi_F\sigma$), qui est le produit entre le rendement quantique de fluorescence (Φ_F) et la section efficace (σ).

Nous pouvons citer les travaux de Belfield qui a utilisé, en 2010, l'absorption à deux photons pour visualiser les capacités de traceur sélectif de lysosomes des cellules cancéreuses HCT16 par sa molécule LT1, un dérivé hydrosoluble du fluorène (FIGURE 1.50).⁹⁷

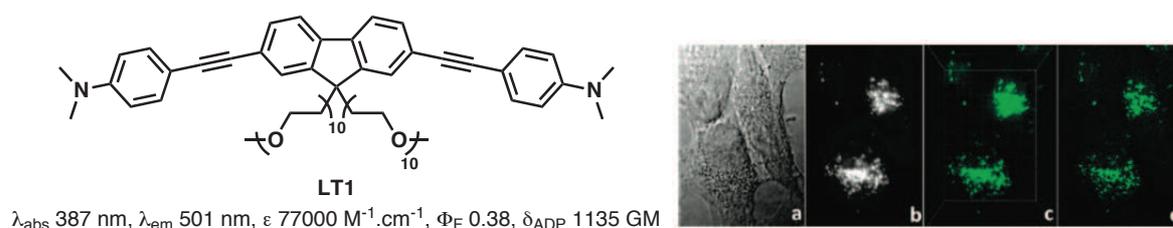


FIGURE 1.50 – Images des cellules HCT16 incubées avec LT1 (20 μM , 2 h), (b) image de fluorescence 1-photon, (c) reconstruction 3D provenant des images 2-photons, (d) image de fluorescence 2-photons.

Plusieurs molécules fluorescentes ont été synthétisées dans le but de capter des ions métalliques. Par exemple, Marder et Cho ont décrit la synthèse de fluorophore D- π -A- π -D incorporant des éthers couronnes aux extrémités. En effet, en présence d'ions Mg^{2+} , la section efficace du chromophore diminue fortement de 2200 GM à 45 GM à la longueur d'onde de 810 nm, alors que le rendement quantique reste identique.^{98,99}

D'autres types de capteurs ont aussi été réalisés, notamment via les bis(2-pyridyl)amines, afin de chélater des cations de métaux lourds comme le mercure, le cadmium et des anions fluorures.¹⁰⁰⁻¹⁰⁵

97. Wang, X. ; Nguyen, D. M. ; Yanez, C. O. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12237–12239.

98. Pond, S. J. K. ; Tsutsumi, O. ; Rumi, M. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9291–9306.

99. Kim, H. M. ; Jeong, M.-Y. ; Ahn, H. C. ; Jeon, S.-J. ; Cho, B. R. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5749–5751.

100. Ahn, H. C. ; Yang, S. K. ; Kim, H. M. *et al. Chem. Phys. Lett.* **2005**, *410*, 312–315.

101. Sumalekshmy, S. ; Henary, M. M. ; Siegel, N. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11888–11889.

102. Kim, H. M. ; Seo, M. S. ; An, M. J. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5167–5170.

103. Huang, C. ; Fan, J. ; Peng, X. *et al. J. Photochem. Photobiol. A* **2008**, *199*, 144–149.

104. Ha Thi, M. H. ; Penhoat, M. ; Drouin, D. *et al. Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 5941–5950.

105. Liu, Z.-q. ; Shi, M. ; Li, F.-Y. *et al. Org. Lett.* **2005**, *7*, 5481–5484.

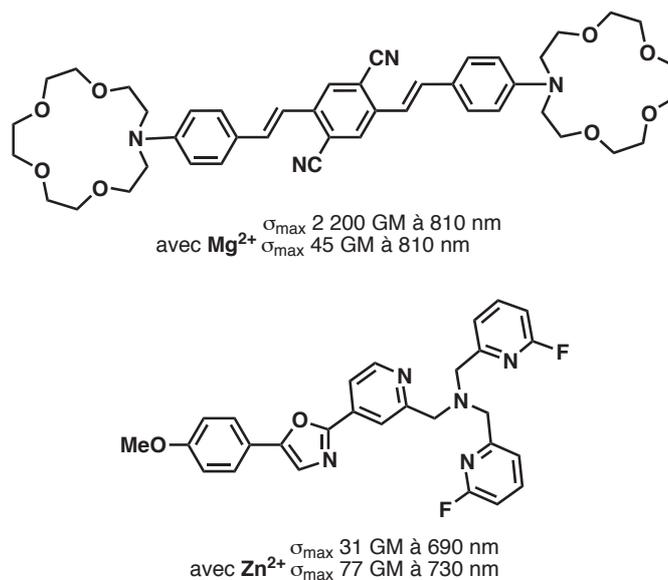


FIGURE 1.51 – Exemples de capteurs d’ions métalliques

1.3.3.2 Photoactivation et drug delivery

La libération de molécules bioactives amorcée par l’absorption à deux photons est un outil extrêmement puissant dans la recherche fondamentale en sciences vivantes. Actuellement, les chromophores utilisés en ADP ont des sections efficaces particulièrement faibles, la majorité étant les chromophores utilisés en 1-photon sans optimisation pour l’ADP. Pour cela, des dérivés de coumarines et de stilbènes ont été étudiés afin d’augmenter les sections efficaces.^{106–109}

L’encapsulation de micelles ou de liposomes est une stratégie très répandue pour la libération d’agents bioactifs. En effet, si la stabilité de la molécule bioactive pouvait être dirigée par un agent externe tel que la lumière, la molécule pourrait alors être délivrée de manière sélective dans les tissus contaminés, sans être présente dans tout l’organisme.

En 2005, le groupe de Fréchet a réalisé le premier système micellaire sensible aux infrarouges *via* l’utilisation de l’absorption à deux photons à des longueurs d’onde permettant la photoactivation du transporteur.¹¹⁰

106. Furuta, T. ; Wang, S. S. H. ; Dantzker, J. L. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 1193–1200.

107. Matsuzaki, M. ; Ellis-Davies, G. C. R. ; Nemoto, T. *et al. Nat. Neurosci.* **2001**, *4*, 1086–1092.

108. Gug, S. ; Charon, S. ; Specht, A. *et al. ChemBioChem* **2008**, *9*, 1303–1307.

109. Momotake, A. ; Lindeger, N. ; Niggli, E. ; Barsotti, R. J. ; Ellis-Davies, G. C. R. *Nat. Methods* **2006**, *3*, 35–40.

110. Goodwin, A. P. ; Mynar, J. L. ; Ma, Y. ; Fleming, G. R. ; Fréchet, J. M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9952–9953.

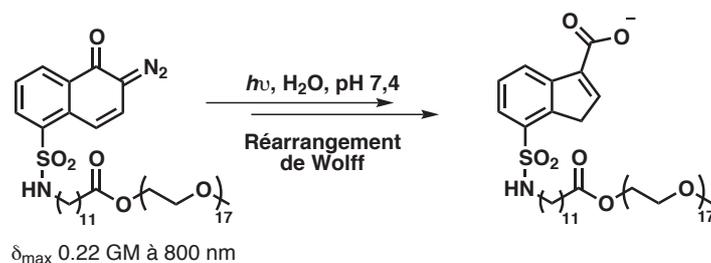


FIGURE 1.52 – Composé hydrophile qui entraîne la désintégration de micelles afin de relarguer le composé bioactif

1.3.3.3 Thérapie photo-dynamique

La thérapie photo-dynamique est une technique permettant de neutraliser ou de détruire des tissus endommagés à l'aide d'un composé dit photosensibilisant. Cette technique est largement utilisée pour traiter les cancers de la peau ou des organes creux. La phototoxicité des molécules photosensibilisantes provient principalement de l'oxygène singulet, qui est généré lors du transfert d'énergie de l'état excité de ce photosensibilisant.¹¹¹

En combinant cette technique avec l'absorption à deux photons, il est alors possible grâce à l'utilisation de lasers infrarouges de pénétrer plus profondément dans les tissus vivants, d'obtenir une meilleure résolution spatiale et de diminuer les photodommages des tissus environnants.

Des études ont donc été réalisées dans le but d'améliorer les propriétés photophysiques des photosensibilisants puisqu'ils possèdent de faibles sections efficaces à deux photons.

Deux méthodes sont alors utilisées. La première consiste à coupler le photosensibilisant avec un colorant absorbant à deux photons.¹¹²⁻¹¹⁴ Tandis que la seconde cherche plutôt à modifier un chromophore d'ADP afin qu'il puisse former l'oxygène singulet nécessaire à la thérapie photodynamique.¹¹⁵⁻¹¹⁷

111. Brown, S. B. ; Brown, E. A. ; Walker, I. *Lancet Oncol.* **2004**, *5*, 497–508.

112. Oar, M. A. ; Dichtel, W. R. ; Serin, J. M. *et al. Chem. Mater.* **2006**, *18*, 3682–3692.

113. Starkey, J. R. ; Rebane, A. K. ; Drobizhev, M. A. *et al. Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 6564–6573.

114. Kim, S. ; Ohulchanskyy, T. Y. ; Pudavar, H. E. ; Pandey, R. K. ; Prasad, P. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2669–2675.

115. Arnbjerg, J. ; Jiménez-Banzo, A. ; Paterson, M. J. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5188–5199.

116. Beverina, L. ; Crippa, M. ; Landenna, M. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1894–1902.

117. Collins, H. A. ; Khurana, M. ; Moriyama, E. H. *et al. Nat. Photonics* **2008**, *2*, 420–424.

1.3.3.4 Microfabrications

L'absorption multiphotonique permet d'effectuer des structures en 3 dimensions grâce à sa non-linéarité en fonction de l'intensité incidente. En effet, il est possible de transformer un matériau par photopolymérisation à un endroit bien précis, au point focal du laser. Des structures complexes peuvent être alors réalisées en 3D en déplaçant le point focal, avec des résolutions inférieures à 100 nm.¹¹⁸⁻¹²¹ Plusieurs exemples sont représentés dans la figure suivante.

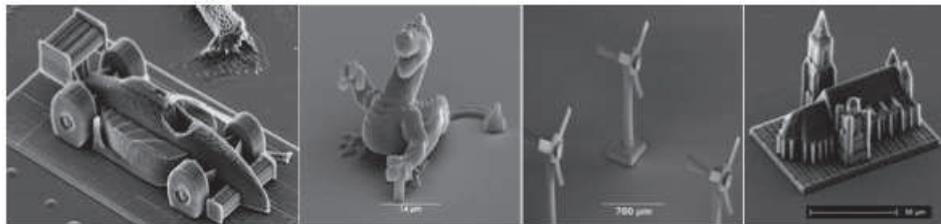


FIGURE 1.53 – Exemples de microfabrication biphotonique

Actuellement, des recherches sont en cours afin d'allier cette technique à l'étude des organismes, comme les travaux de Kaehr concernant l'isolement d'une cellule tout en la conservant en vie (FIGURE 1.54).¹²²

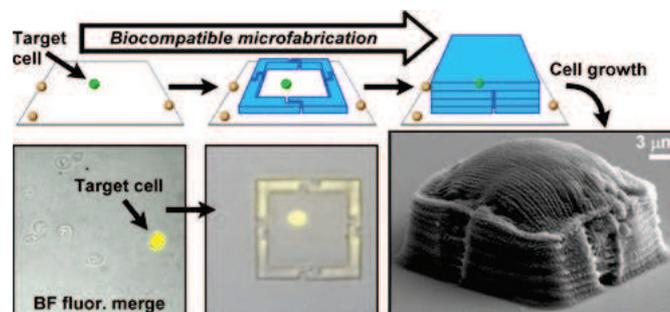


FIGURE 1.54 – Chambre d'isolation d'une cellule

1.3.3.5 Stockage optique en 3-D

Les appareils de stockage optique de données tels que les CD ou DVD utilisent actuellement un procédé à un photon pour écrire et lire l'information sur une surface à deux dimensions. Plus précisément, l'information est enregistrée lors de l'absorption de

118. Kawata, S. ; Sun, H.-B. ; Tanaka, T. ; Takada, K. *Nature* **2001**, *412*, 697–698.

119. Ovsianikov, A. ; Ostendorf, A. ; Chichkov, B. N. *Appl. Surf. Sci.* **2007**, *253*, 6599–6602.

120. Marder, S. R. ; Brédas, J.-L. ; Perry, J. W. *MRS Bull.* **2007**, *32*, 561–565.

121. Li, Y.-C. ; Cheng, L.-C. ; Chang, C.-Y. *et al.* *Opt. Express* **2012**, *20*, 19030–19038.

122. Harper, J. C. ; Brozik, S. M. ; Brinker, C. J. ; Kaehr, B. *Anal. Chem.* **2012**, 8985–8989.

photons, ce qui entraîne un changement dans la réflexion du milieu.

La précision de l'ADP permet alors de stocker des données dans l'épaisseur du disque simplement en changeant la position du point focal du laser sur le milieu. La difficulté consiste à synthétiser le composé permettant l'enregistrement des données. Pour cela, il doit comporter une grande section efficace, un rendement quantique de fluorescence élevé pour faciliter la lecture ainsi qu'un grand déplacement de Stokes.

Un prototype a été réalisé au sein du Call/Recall en Californie. Il s'agit d'un disque de 120 mm de diamètre, capable de contenir 1 Tbyte de données, ce qui correspond à 200 fois la capacité d'un DVD. Cependant, la vitesse d'enregistrement est de 3 Mbyte.s^{-1} ce qui correspond à 4 jours pour enregistrer 1 Tbyte.¹²³

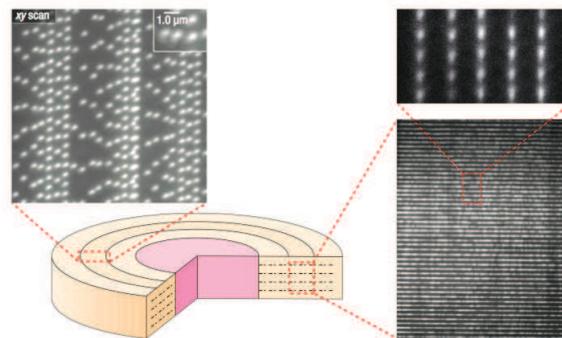


FIGURE 1.55 – Prototype de stockage de données en 3D

Actuellement, des efforts sont fournis pour réduire le temps d'enregistrement *via* la synthèse de nouveaux matériaux absorbant à deux photons.¹²⁴ Cependant, il semblerait que la commercialisation du premier disque de stockage 3D utilisant l'ADP soit prévu en 2015 par la compagnie Fujifilm.^{125–127}

L'absorption à deux photons fait l'objet d'études depuis plus de 50 ans, et les applications présentées précédemment montrent que cette technique est de plus en plus appréciée. L'idée se répand de plus en plus que deux photons peuvent être meilleurs que un.

123. Walker, E.; Rentzepis, P. M. *Nat. Photonics* **2008**, *2*, 406–408.

124. Belfield, K. D. Patent, US 7,964,333 B1, 212011.

125. Takizawa, H.; Akiba, M.; Tani, T. *et al.* Patent, US 2004/0131969 A1, 82004.

126. Akiba, M.; Goto-Takahashi, E.; Takizawa, H. *et al.* *Fujifilm Research Development* **2011**, *56*, 21–24.

127. Sasaki, T.; Mochizuki, H.; Mikami, T. *et al.* *Jpn. J. Appl. Phys.* **2013**, *52*, 09LB01.

1.4 Tomographie par émission de positons

La tomographie par émission de positons (TEP) est une technique d'imagerie fonctionnelle qui permet de mesurer la distribution tridimensionnelle d'une molécule marquée par un émetteur de positons. Elle est utilisée en clinique depuis plus d'une décennie essentiellement en oncologie mais aussi en cardiologie et neurologie. Elle est utilisée pour la caractérisation tissulaire, la classification tumorale et l'évaluation de l'efficacité des traitements.

Les émetteurs de positons sont des isotopes radioactifs qui peuvent facilement être incorporés aux molécules sans altérer leurs propriétés biologiques. La réalisation d'un examen TEP nécessite l'injection d'un traceur radioactif au préalable qui est constitué d'un vecteur moléculaire et d'un isotope radioactif (^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F) permettant ainsi la localisation de la distribution de cette molécule dans l'organisme.¹²⁸ Ils sont caractérisés par un excès de charge positive dans leur noyau et se désintègrent vers un état stable par une transformation d'un proton en un neutron qui conduit à l'émission d'un neutrino et d'un positon. Celui-ci est de masse égale à celle d'un électron mais de charge opposée.

Une fois émis, le positon parcourt quelques millimètres dans un milieu biologique (ex.: 1-3 mm dans l'eau), au cours desquels il perd toute son énergie cinétique et finit par se combiner avec un électron du milieu. Les deux particules s'annihilent mutuellement avec une émission de deux photons γ de 511 keV, émis dans des directions opposées (FIGURE 1.56).

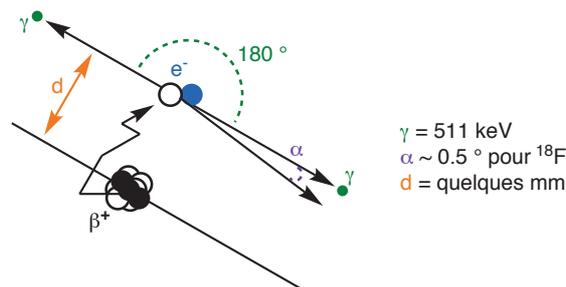


FIGURE 1.56 – Désintégration du positon et réaction d'annihilation

Le principe de la TEP consiste alors à détecter les deux photons émis, afin de déterminer le lieu de la réaction d'annihilation et non à celui de l'émission β^+ . La distance

128. de Dreuille, O. ; Maszelin, P. ; Foehrenbac, H. ; Bonardel, G. ; Gaillard, J. F. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* **2002**, 35-310-A-10, 1-22.

entre les deux est appelée « libre parcours moyen du positon » et peut être déterminée par l'énergie d'émission des positons. Elle constitue alors une limite en terme de résolution spatiale. Une autre limitation en terme de résolution spatiale provient de la non-colinéarité des deux photons résultant de l'annihilation du positon qui n'a pas perdu toute son énergie cinétique ($\alpha \sim 0,5^\circ$). Par conséquent, la combinaison de ces deux phénomènes entraîne la limitation de la résolution spatiale, propre à la détection en coïncidence, qui est < 1 mm pour le ^{18}F .

Ces photons traversent les tissus et sont détectés simultanément à l'extérieur de l'organisme par une caméra à positons (FIGURE 1.57).¹²⁹

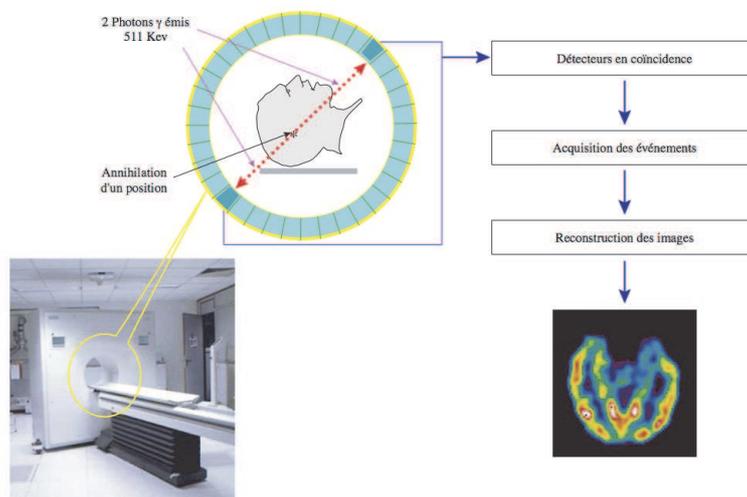


FIGURE 1.57 – Principe de tomographie par émission de positons

L'acquisition est réalisée par un ensemble de détecteurs répartis en cercle autour du patient (FIGURE 1.57). Les détecteurs sont constitués d'un scintillateur qui est choisi en fonction de nombreuses propriétés, pour améliorer l'efficacité et le rapport signal sur bruit. Le circuit de coïncidence mesure les deux photons γ de 511 keV émis. Les coupes sont reconstruites par des algorithmes de plus en plus complexes pour s'adapter à des géométries d'acquisition tridimensionnelles, dont un exemple est présenté dans la FIGURE 1.57.

Le ^{18}F possède des propriétés nucléaires idéales (positons de faible énergie, période radioactive suffisamment longue pour permettre la synthèse et la distribution des molécules marquées) pour son utilisation en tant qu'émetteur de positons. L'isotope 18 du fluor

129. Semah, F.; Tamas, C.; Syrota, A. *STV* **2004**, *16*, 471–495.

se désintègre en oxygène 18 stable. De plus, sa durée de vie ($t_{1/2} = 109,7$ min) est un grand avantage puisqu'elle permet une flexibilité dans la synthèse des radiotraceurs (par comparaison avec le carbone 11 où $t_{1/2} = 20,4$ min) mais aussi dans la distribution auprès des centres hospitaliers non équipés d'un cyclotron.¹³⁰

Le traceur le plus utilisé chez l'homme et le premier à être disponible sur le marché, est le ¹⁸FDG ou ¹⁸F-fluoro-2-déoxy-D-glucose qui est un analogue du glucose comportant un fluor radioactif en position 2. En effet, le glucose étant métabolisé par les cellules présentes dans le cerveau, le foie et les cellules cancéreuses, il est un candidat idéal pour la tomographie par émission de positons.

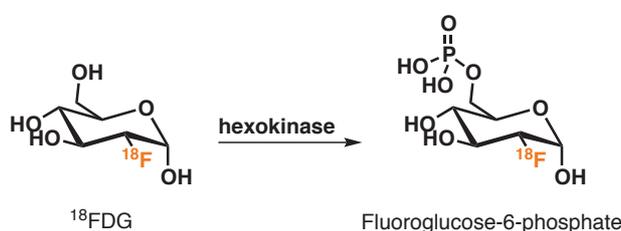


FIGURE 1.58 – ¹⁸F-fluoro-2-déoxy-D-glucose et ¹⁸F-fluoro-2-déoxyglucose-6-phosphate

Il est ensuite phosphorylé par l'hexokinase en fluorodésoxyglucose-6-phosphate de façon à ne plus pouvoir quitter la cellule. En effet, l'hydroxyde en position 2 est nécessaire à la métabolisation complète du glucose, et donc en son absence, la dégradation du composé est arrêtée. Le ¹⁸FDG est alors fixé et permet l'observation par l'imagerie TEP de l'absorption et phosphorylation du glucose dans l'organisme.

Le ¹⁸F est ensuite désintégré en ¹⁸O formant alors le ¹⁸O-glucose-6-phosphate non radioactif et sans conséquence pour l'organisme.

1.5 Sondes multimodales

1.5.1 Introduction générale

L'imagerie médicale permet de « voir » à travers le corps humain et de comprendre son fonctionnement dans le but de traiter les maladies. Elle implique l'étude non-invasive

130. Joyard, Y. Synthèse de nouveaux radiomarqueurs potentiels de l'hypoxie tumorale – Développement d'une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile et son application vers la synthèse du 2-[¹⁸F]Fluoro-2-déoxy-D-glucose., thèse de doct., **2013**, INSA de Rouen.

des procédés biologiques *in vivo*, à l'échelle cellulaire ou moléculaire. Cette technologie est devenue un élément indispensable dans la recherche clinique, la prise en charge de maladies et dans la mise au point de nouveaux traitements. Elle recouvre une grande variété de techniques développées grâce aux découvertes du XX^e siècle : les ondes radios, les rayons X, la radioactivité de certains éléments et les champs magnétiques. Il est actuellement attendu de l'imagerie médicale de fournir des informations à la fois anatomique, physiologique, moléculaire et génomique dans le but de permettre le diagnostic de maladies ainsi que leur contrôle, mais aussi la recherche de nouveaux traitements.

Ses différentes techniques d'imagerie médicale utilisées actuellement sont : la radiographie, le scanner, la scintigraphie monophotonique (TEMP), la tomographie par émission de positons (TEP), l'échographie (ultrasons US), l'électro-encéphalographie, la magnéto-encéphalographie, l'imagerie par résonance magnétique (IRM), l'IRM de diffusion, et l'IRM fonctionnelle.

Ces techniques d'imagerie moléculaires ont des avantages et des inconvénients complémentaires en terme de résolution spatiale et temporelle, de profondeur de pénétration, de sensibilité et de coût. Dans le but d'exploiter leurs avantages tout en diminuant les inconvénients, la combinaison de plusieurs techniques d'imagerie est devenue une stratégie de choix pour les études *in vivo*.

L'imagerie bi- ou multi-modale est la combinaison de deux ou plusieurs techniques de détection, rendue possible par l'utilisation de sonde multimodale. Elle permet d'améliorer la visualisation des composés biologiques et d'obtenir des données avec une meilleure fiabilité. Parmi les différentes combinaisons possible, nous nous intéresserons plus particulièrement aux techniques bimodales couplant la tomographie par émission de positons à la fluorescence.

En effet, la fluorescence permet d'imager des fonctions complexes avec une résolution submicrométrique, cependant, elle est restreinte à une pénétration des tissus de quelques millimètres et ne peut produire des mesures quantitatives. La TEP permet, quant à elle, une mesure quantitative du corps entier malgré une résolution spatiale assez faible (quelques millimètres).

De plus, la fluorescence dans le proche infrarouge est particulièrement intéressante pour l'imagerie *in vivo* puisqu'elle permet de diminuer l'absorption des tissus et l'autofluorescence. En effet, comme nous pouvons le constater avec le spectre d'absorption des tissus du corps

humain (FIGURE 1.59), il y a une fenêtre optique dans la zone du rouge et du proche infrarouge, c'est-à-dire une zone où l'absorption d'un fluorophore sera le moins dérangé par son environnement.¹³¹

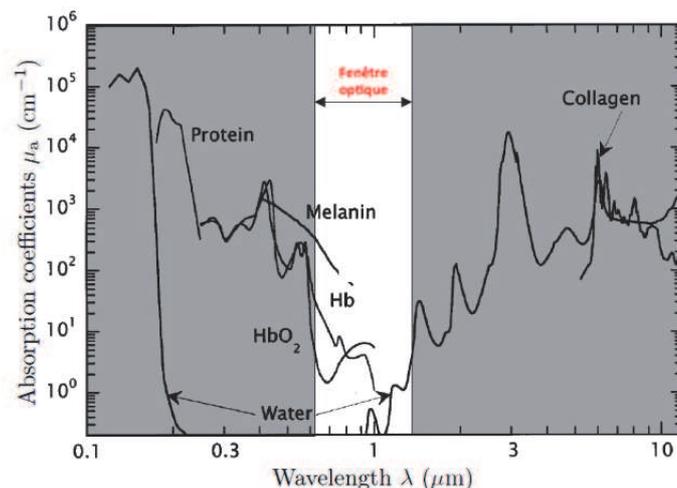


FIGURE 1.59 – Spectre d'absorption par les tissus du corps

Le couplage TEP/proche infrarouge est prometteur pour le développement d'applications cliniques où une grande sensibilité et une grande résolution sont nécessaires.

1.5.2 Sonde bimodale TEP/fluorescence dans le proche infrarouge

Les principaux travaux concernant des sondes bimodales TEP/fluorescence dans le proche infrarouge se résument à l'utilisation de quantum dots (QD) connu pour leurs propriétés fluorescentes intéressantes : le rendement quantique, la bonne résistance au photoblanchiment, une large gamme d'excitation et la petite gamme d'émission (cf. 1.2.2.3.e). Une grande partie des groupes utilise le ⁶⁴Cu comme radioisotope.¹³²⁻¹³⁶

131. Vogel, A.; Venugopalan, V. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 577–644.

132. Cai, W.; Chen, K.; Li, Z. B.; Gambhir, S. S.; Chen, X. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1862–1870.

133. Paudyal *Oncology Reports* **2009**, *22*, 115–119.

134. Ranyuk, E.; Lebel, R.; Bérubé-Lauzière, Y. *et al. Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 1624–1633.

135. Viehweger, K.; Barbaro, L.; García, K. P. *et al. Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 1011–1022.

136. Brand, C.; Abdel-Atti, D.; Zhang, Y. *et al. Bioconjugate Chem.* **2014**, *in press*.

La première sonde bimodale a été préparée par l'équipe de Chen en 2007. Elle possède un coeur fluorescent de type QD et un azamacrocycle greffé à la superficie (DOTA) permettant la chelation avec le ^{64}Cu (FIGURE 1.60).¹³²

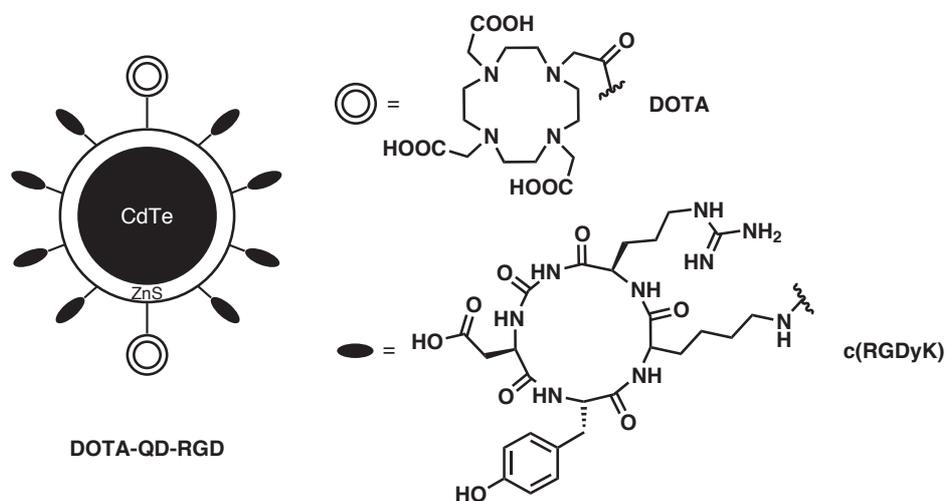


FIGURE 1.60 – Structure du DOTA-QD-RGD

Cependant, le ^{64}Cu n'est pas facilement disponible pour une utilisation quotidienne en clinique. C'est pourquoi, les synthèses de sondes bimodales au ^{18}F commencent à se développer. En effet, comme nous l'avons présenté précédemment, l'isotope 18 du fluor peut être produit quotidiennement dans les cliniques équipées d'un cyclotron. De plus, comparé au cuivre, il possède une durée de vie plus courte et une meilleure sensibilité.

Les premiers travaux avec le fluor en imagerie multimodale TEP/fluorescence dans le proche infrarouge ont été réalisés par le groupe de Dubertret avec la synthèse de QD phospholipidiques marqués au ^{18}F qui fournissent un signal radioactif très sensible en imagerie TEP *in vivo* et *ex vivo* (FIGURE 1.61).¹³⁷

137. Ducongé, F.; Pons, T.; Pestourie, C. *et al. Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1921–1926.

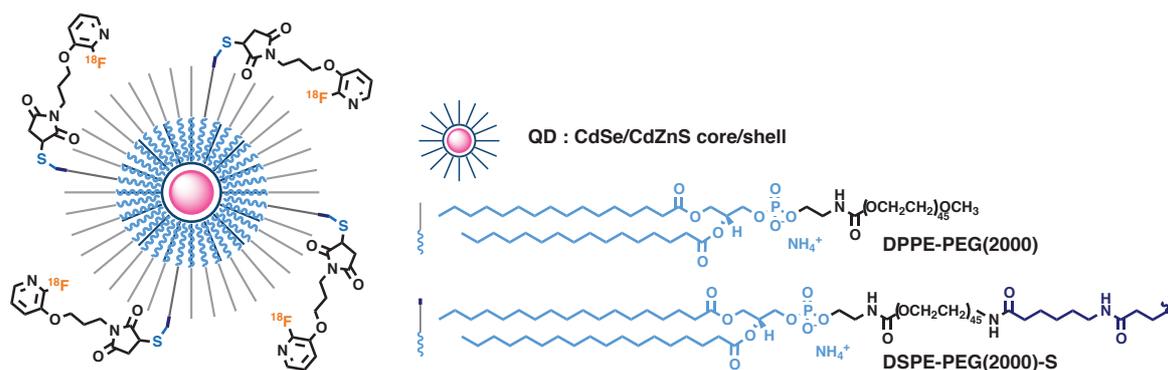


FIGURE 1.61 – Structure du quantum dot marqué au fluor-18

Par ailleurs, en 2010, l'équipe de Tsien a synthétisé une molécule, dans le but de visualiser le Lymphoseek d'une souris (FIGURE 1.62).¹³⁸

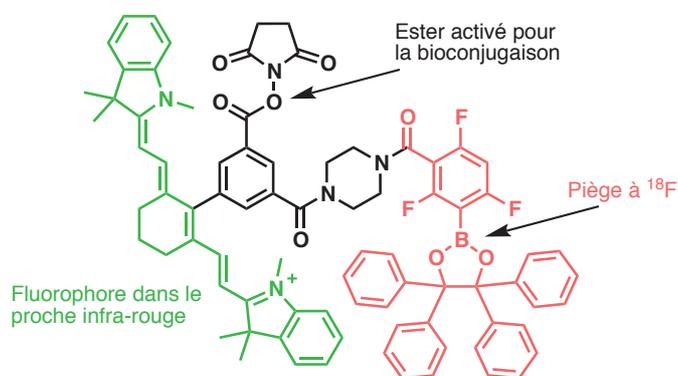


FIGURE 1.62 – Structure de la sonde TEP/fluorescence dans le proche infrarouge

La combinaison d'un boronate servant de piège à $^{18}\text{F}^-$ et un fluorophore du proche infrarouge permet ainsi l'utilisation de la TEP et de la fluorescence dans le proche infrarouge. La liaison B-F est moins stable que la liaison C-F mais suffisamment pour que l'hydrolyse soit négligeable pendant la durée de vie du radioélément (FIGURE 1.63).

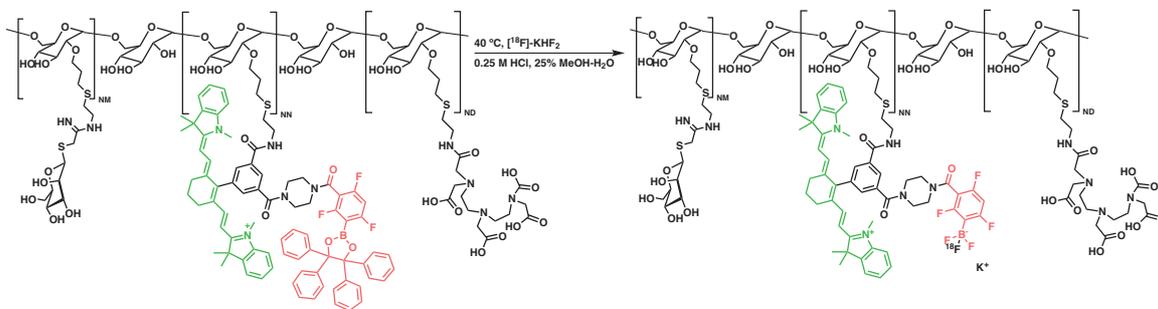


FIGURE 1.63 – Sonde ^{18}F -BOMB Lymphoseek

138. Ting, R. ; Aguilera, T. A. ; Crisp, J. L. *et al. Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 1811–1819.

Dans l'optique de combiner deux méthodes d'imagerie, le couplage entre la tomographie par émission de positons et l'absorption à deux photons semble intéressant. En effet, l'énergie nécessaire à l'absorption de deux photons étant deux fois plus petite que pour un photon (cf. section 1.3), il suffirait de synthétiser un fluorophore possédant de bonnes propriétés photophysiques et dont l'absorption se situe vers 400 nm pour une longueur d'onde d'absorption bi-photonique dans le proche infrarouge. De la même manière, il serait possible d'utiliser de petites molécules organiques au lieu de QD qui sont cytotoxiques du fait que leur coeur est constitué de métaux lourds et dont la petite taille entraîne certain problème *in vivo* : réaction immunitaire, mauvaises distributions et élimination.

De plus, il n'y a actuellement, à notre connaissance, aucune publication traitant de sondes bimodales visant l'utilisation de l'absorption à deux photons et la TEP en imagerie médicale.

1.6 Présentation du projet

L'objectif de ce projet consiste donc en le design, la synthèse et l'évaluation de nouveaux contrastophores organiques ADP fluorés pouvant être radiomarqués avec le fluor-18 pour une utilisation en absorption à deux photons et en tomographie par émission de positons. Ces contrastophores seront dans un premiers temps évalués en absorption à un photon puis à deux photons avant d'être testés en TEP après conjugaison à deux vecteurs spécifiques de nature différente : l'albumine¹³⁹ et un dérivé de l'ifenprodil¹⁴⁰.

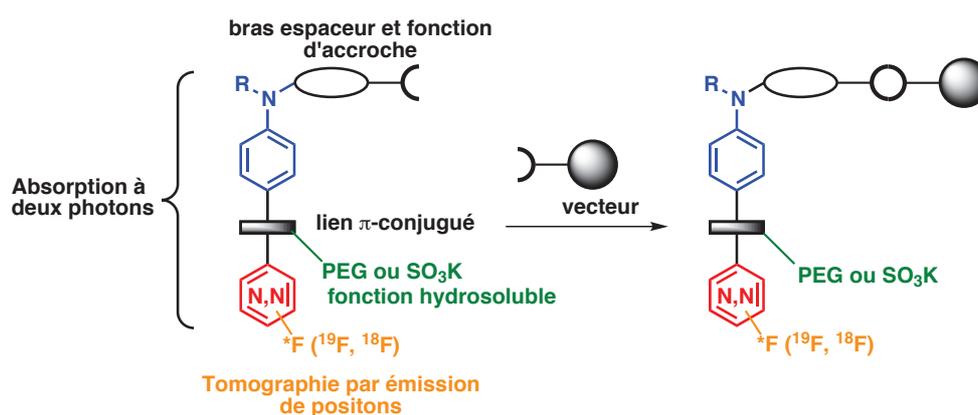


SCHÉMA 1.1 – Plan du projet

139. Ramenda, T.; Kniess, T.; Bergmann, R.; Steinbach, J.; Wuest, F. *Chem. Commun.* **2009**, 7521.

140. Marchand, P.; Becerril-Ortega, J.; Mony, L. *et al. Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 21–26.

Le squelette du fluorophore choisi dans le cadre de ce projet est basé sur un système push-pull ou **A**- π -**D**. En effet, ces molécules ont déjà montré leur efficacité en terme de propriétés photophysiques et font, encore aujourd'hui, l'objet de nombreuses études. Leurs propriétés peuvent être modulées en fonction des groupements électro-attracteur et électro-donneur, faisant ainsi varier le transfert de charge intramoléculaire.

Le fluorophore comportera donc un groupement électro-attracteur **A**, un lien π -conjugué et un groupement électro-donneur **D** (SCHÉMA 1.2).

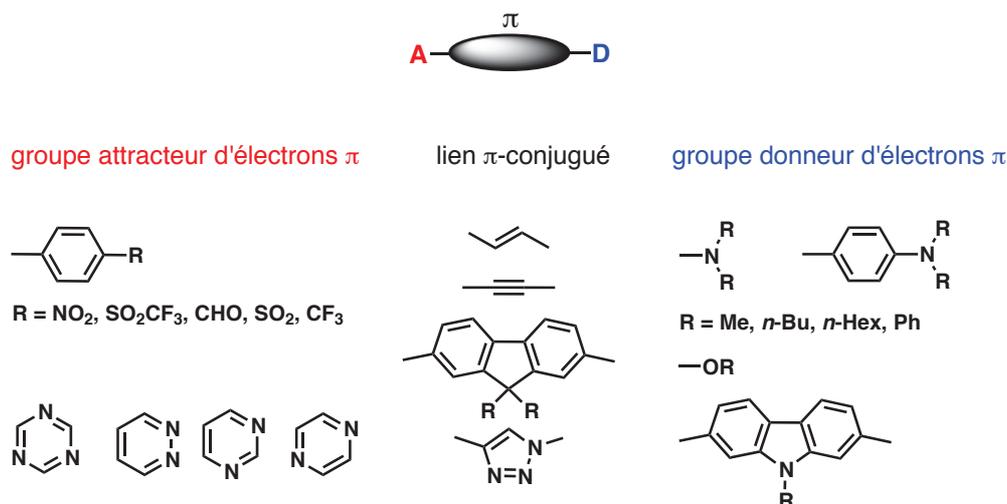


SCHÉMA 1.2 – Système **A**- π -**D**

Les diazines et plus particulièrement les pyridazines et pyrimidines, ont été choisies comme groupement électro-attracteur. En effet, les diazines sont des hétérocycles aromatiques dont le caractère π -déficitaire permet un bon transfert de charge intramoléculaire dans les systèmes push-pull. De plus, la présence des atomes d'azote leur donne la possibilité de former des liaisons hydrogènes, des chélation et des protonations pouvant alors en faire des sondes de pH et de cations métalliques. Leur propriétés photophysiques ont largement été étudiées notamment au sein de notre équipe.¹⁴¹⁻¹⁴⁶ Le

141. Denneval, C. ; Achelle, S. ; Baudequin, C. ; Guen, F. R.-l. *Dyes and Pigments* **2014**, *110*, 49–55.

142. Martin, F.-A. ; Baudequin, C. ; Fiol-Petit, C. *et al. Tetrahedron* **2014**, *70*, 2546–2555.

143. Hadad, C. ; Achelle, S. ; López-Solera, I. ; García-Martinez, J. C. ; Rodríguez-López, J. *Dyes and Pigments* **2013**, *97*, 230–237.

144. Achelle, S. ; Plé, N. *Curr. Org. Synth.* **2012**, *9*, 163–187.

145. Achelle, S. ; Plé, N. ; Turck, A. *RSC Adv.* **2011**, *1*, 364–388.

146. Achelle, S. Synthèse de nouveaux oligomères possédant un ou plusieurs motifs diaziniques : applications en tant que cristaux liquides et matériaux fluorescents., thèse de doct., **2007**, INSA de Rouen.

groupement électro-donneur choisi est le 4-(*N,N*-diméthylamino)phényl.

Le lien π -conjugué choisi est le fluorène car sa conjugaison- π permet généralement l'obtention de bons résultats de fluorescence. De plus, la possibilité d'introduire en position 9 des chaînes alkyles ou polyéthylène-glycols, permettant ainsi d'augmenter la solubilité des composés en milieu organique ou aqueux, en fait un très bon candidat.

D'autre part, afin d'accroître la conjugaison, des liens acétyléniques et/ou des triazoles pourront être introduits de part et d'autre du fluorène. En effet, il a été montré au sein du laboratoire que l'insertion d'un lien triazole sur des fluorophores **A**- π -**D** permettait l'obtention de meilleurs rendements quantiques que les liaisons acétyléniques (SCHÉMA 1.3).^{147,148}

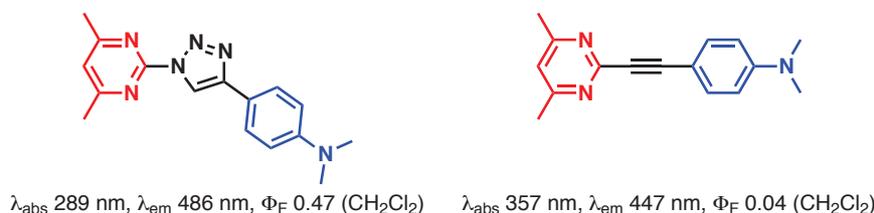


SCHÉMA 1.3 – Précédents travaux au sein du laboratoire

Dans un premier temps, nous envisageons de réaliser une étude relation structure–propriétés photophysiques. Pour cela, des liens acétyléniques ou des groupements triazoles pourront être introduits de part et d'autre du fluorène, 4 types de molécules **A**- π -**D** seront alors obtenues :

- le type I comprend le fluorène comme transmetteur, et fait intervenir des réactions de couplage de Suzuki.
- le type II contient deux liens acétyléniques de part et d'autre du fluorène via des réactions de couplage de Sonogashira.
- le type III comporte un lien triazole obtenu à partir de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre I.
- le type IV incorpore deux triazoles.

147. Cornec, A.-S. Synthèse et relation structure-propriétés photophysiques de nouveaux fluorophores diaziniques obtenus par réactions de couplage croisé et « Click Chemistry », thèse de doct., **2012**, Université de Rouen.

148. Cornec, A.-S.; Baudequin, C.; Fiol-Petit, C. *et al. Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 1908–1915.

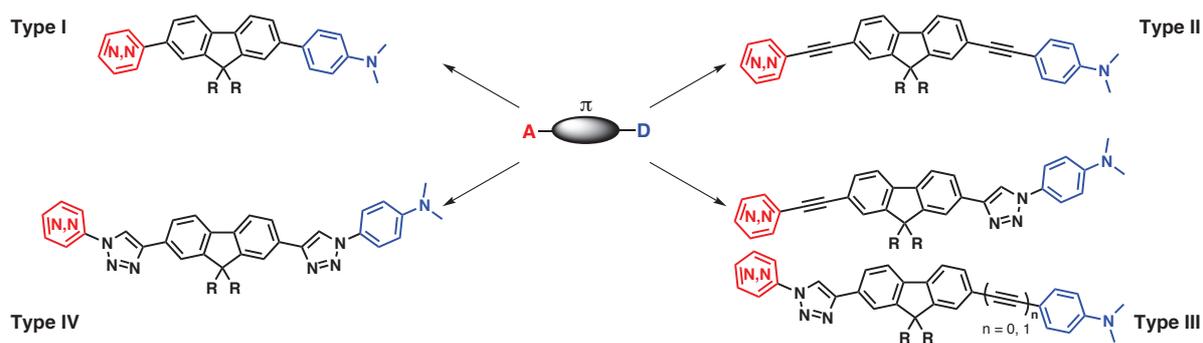


SCHÉMA 1.4 – Différents type de système A-π-D

Une seconde étude relation structure–propriétés photophysiques a pu être réalisée sur des fluorophores portant des chaînes polyéthylène glycols en position 9 du fluorène

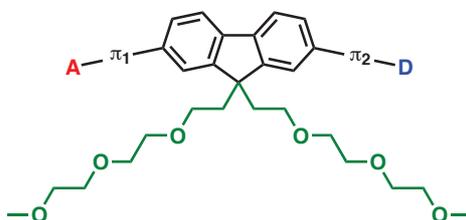


SCHÉMA 1.5 – Structure de la sonde bimodale en version hydrosoluble

Parallèlement, une étude permettant l'insertion du fluor-19 a été réalisée, dans le but d'obtenir une référence avant d'introduire l'isotope 18 du fluor.

Deuxième partie

Résultats et discussion

Chapitre 2

Version chaînes alkyles

La première partie de ce projet a consisté en la détermination du squelette de la sonde bimodale de type **A**- π -**D**. Des réactions de couplage de Suzuki et de Sonogashira, ainsi que des cycloadditions 1,3-dipolaires de Huisgen seront nécessaires à la synthèse des molécules de type I-IV.

2.1 Fluorène et absorption à deux photons – rappel bibliographique

Plusieurs groupes ont montré que le transfert de charge intramoléculaire (ICT) permettait d'améliorer les propriétés photophysiques en absorption à deux photons.^{149–155} Pour cela, des groupements électro-donneurs et/ou électro-attracteurs ont été introduits de part et d'autre de liens π -conjugués. Une classe particulière de ces composés π -conjugués a fait l'objet de nombreuses études dans ce domaine : les dérivés du fluorène.

-
149. Katan, C. ; Terenziani, F. ; Mongin, O. *et al. J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 3024–3037.
150. Bhaskar, A. ; Ramakrishna, G. ; Lu, Z. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11840–11849.
151. Qin, A. ; Jim, C. K. W. ; Lu, W. *et al. Macromolecules* **2007**, *40*, 2308–2317.
152. Kim, K. S. ; Noh, S. B. ; Katsuda, T. *et al. Chem. Commun.* **2007**, 2479–2481.
153. Fakis, M. ; Ftilis, I. ; Stefanatos, S. *et al. Dyes and Pigments* **2009**, *81*, 63–68.
154. Cheng, J.-Z. ; Lin, C.-C. ; Chou, P.-T. ; Chaskar, A. ; Wong, K.-T. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 734–739.
155. Ali Khan, M. ; Mahon, M. F. ; Lowe, J. P. ; Stewart, A. J. W. ; Lewis, S. E. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 13480–13493.

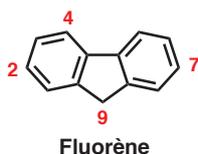


SCHÉMA 2.1 – Fluorène

Le fluorène est un composé comportant deux phényles reliés entre eux par un cycle à cinq carbones rendant ainsi l'ensemble rigide et coplanaire (SCHÉMA 2.3). Par conséquent, cette structure permet un bon recouvrement des orbitales moléculaires π entre les deux cycles, favorisant ainsi la délocalisation des électrons. De plus, le fluorène peut être rapidement fonctionnalisé dans les positions 2, 4, 7, et/ou 9. La réactivité des positions 2, 4 et 7 a contribué à l'élongation de la conjugaison nécessaire pour atteindre de bonnes propriétés photophysiques à un et deux photons. La réactivité de la position 9, quant à elle, permet de faciliter l'introduction de groupements solubilisants tels que des chaînes alkyles, ou polyéthylène glycols. De plus, la nature des chaînes présentent sur le fluorène n'engendre pas de modifications particulières sur les propriétés photophysiques des fluorophores. Quelques exemples de fluorophores synthétisés par le groupe de Belfield sont représentés ci-dessous (SCHÉMA 2.2).¹⁵⁶

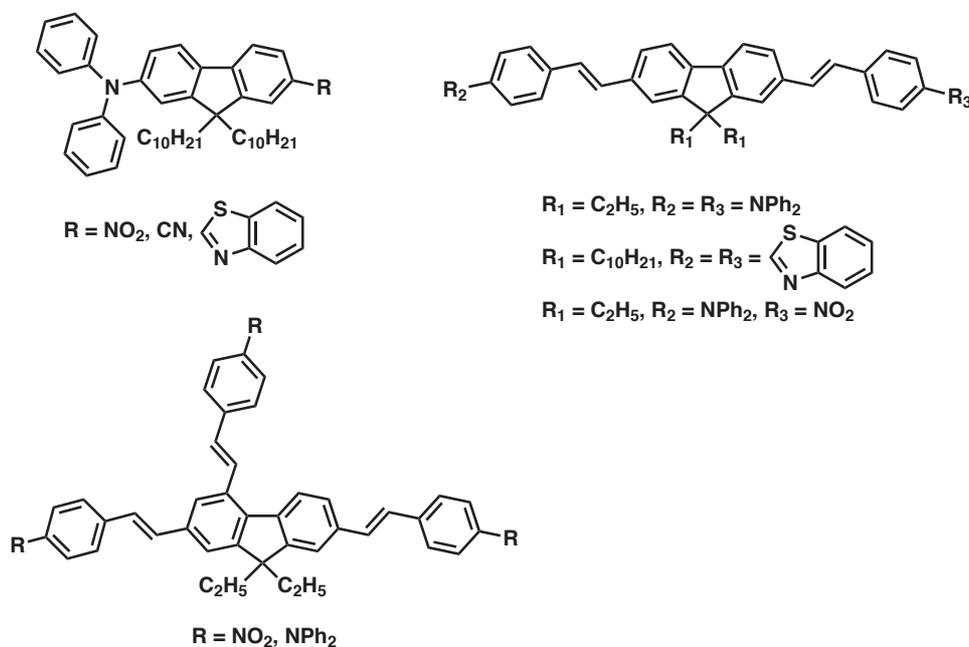


SCHÉMA 2.2 – Exemples de structures comportant un noyau fluorène

156. Belfield, K. D.; Yao, S.; Bondar, M. V. *Adv. Polym. Sci.* **2008**, *213*, 97–156.

De plus, les composés dérivés du fluorène sont connus pour posséder de bonnes propriétés d'absorption à deux photons.¹⁵⁴

2.2 Détermination du squelette

2.2.1 Synthèse du lien π -conjugué

La première étape a consisté en la fonctionnalisation du fluorène. Pour cela, nous avons dans un premiers temps introduit deux halogènes différents en position 2 et 7 du fluorène afin de pouvoir réaliser les différents couplages de façon régiosélective.

Tout d'abord, une monobromation a été réalisée sur le fluorène en présence d'un équivalent de *N*-bromosuccinimide et de carbonate de propylène. L'intermédiaire monobromé **1** est obtenu majoritairement avec un rendement de 79% après recristallisation. Ensuite, une substitution électrophile aromatique est effectuée en présence d'iode en position 7 afin d'obtenir le 2-bromo-7-iodofluorène **2** avec un rendement de 74% après purification par recristallisation (SCHÉMA 2.3).^{157,158}

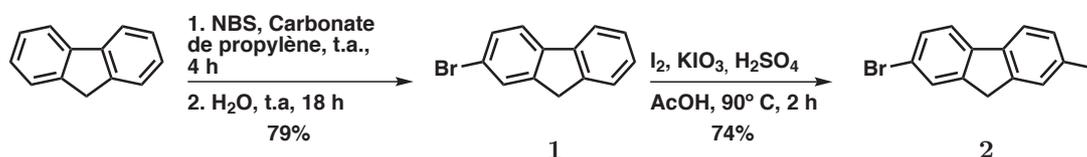


SCHÉMA 2.3 – Synthèse du 2-bromo-7-iodofluorène **2**

La dernière étape permet l'introduction de chaînes alkyles permettant une meilleure solubilité en solvant organique usuel. Pour cela, 2 conditions ont été étudiées au cours de ce travail. La première consiste en une alkylation par transfert de phase en présence de NaOH_{aq}. Bien que la présence de chlorure de tetrabutylammonium comme agent de transfert ne soit pas nécessaire, elle permet de réaliser la réaction sous agitation modérée. Le produit **3** est alors obtenu avec un rendement de 63%.¹⁵⁸

157. Peterson, J. J. ; Simon, Y. C. ; Coughlin, E. B. ; Carter, K. R. *Chem. Commun.* **2009**, 4950–4952.

158. Fisher, A. L. ; Linton, K. E. ; Kamtekar, K. T. *et al. Chem. Mater.* **2011**, *23*, 1640–1642.

La seconde condition consiste à utiliser une base forte dans le THF en suivant la méthode décrite par Bazan.¹⁵⁹ Une augmentation du rendement de 63 à 93 % est alors observée pour conduire au composé **3** (SCHÉMA 2.4).

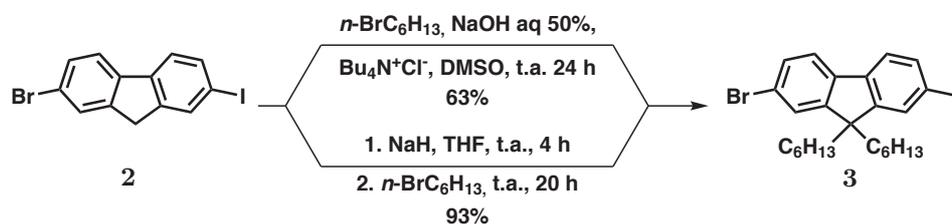


SCHÉMA 2.4 – Synthèse du lien π -conjugué de départ

Une fois le produit de départ en main, nous avons pu commencer la synthèse des composés **A**– π –**D** de type I-IV.

2.2.2 Synthèse des composés de type I

La première stratégie consiste à introduire le groupement électro-donneur en réalisant un couplage de Suzuki entre le composé **3** et l'acide 4-(diméthylamino)phénylboronique. Le composé **4** est obtenu par catalyse au Pd(0) et en présence d'une base carbonatée (SCHÉMA 2.5).

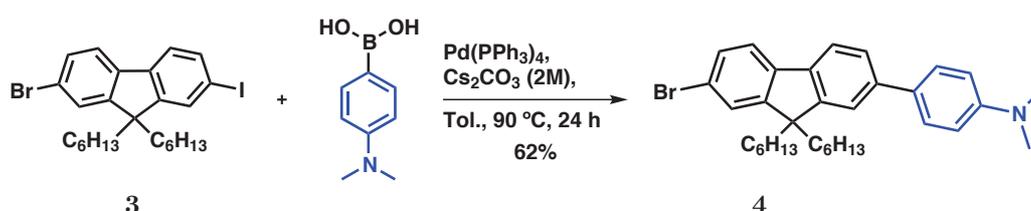


SCHÉMA 2.5 – Synthèse du 4-(7-bromo-9,9-dihexyl-9H-fluorène-2-yl)-*N,N*-diméthylaniline

Cependant, en raison de problème de répétabilité en fonction du lot du palladium tetrakis $\text{Pd(PPh}_3)_4$, une brève étude a été effectuée afin de déterminer les meilleures conditions possibles. Pour cela, nous avons fait varier la nature des ligands du Pd, le solvant et la température du milieu réactionnel (TABLEAU 2.1).

159. Traina, C. A.; Bakus II, R. C.; Bazan, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12600–12607.

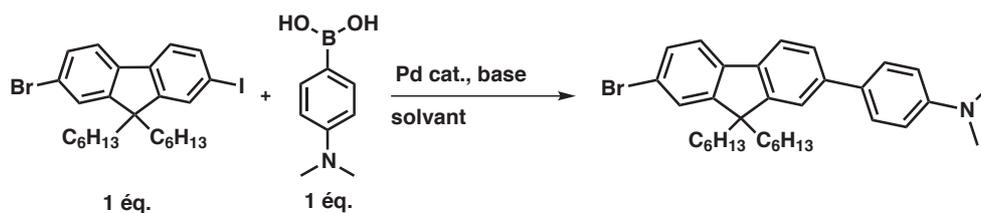


SCHÉMA 2.6 – Étude du couplage de Suzuki

TABLEAU 2.1 – Étude du couplage de Suzuki

N°	Catalyseurs ^[a]	Bases	Conditions	Rendement
1	Pd(PPh ₃) ₄ (0,07 éq.)	Na ₂ CO ₃	Tol., 90 ° C, 24 h	43%
2	Pd(PPh ₃) ₄	K ₂ CO ₃ , Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	64%
3	Pd(PPh ₃) ₄	K ₂ CO ₃ , Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	23%
4	Pd(PPh ₃) ₄	K ₂ CO ₃ , Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	26%
5	Pd(PPh ₃) ₄	K ₂ CO ₃ , Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	-
6	Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	Tol., μω 110 ° C, 2 h	33%
7	Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	DMF, μω 150 ° C, 1 h	7%
8	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,06 éq.)	Na ₂ CO ₃	Tol., μω 90 ° C, 2 h	46%
9	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ (0,06 éq.)	Na ₂ CO ₃	Tol., μω 110 ° C, 1 h	25%
10	PdCl ₂ dppf	K ₂ CO ₃ , Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	31%
11	PdCl ₂ dppf	Na ₂ CO ₃	Tol., reflux, 24 h	28%
12	PdCl ₂ dppf	Na ₂ CO ₃	Tol., reflux, 48 h	65%
13	Pd(OAc) ₂ + PPh ₃	K ₂ CO ₃	Tol., 90 ° C, 24 h	30%
14 ^[b]	Pd(PPh ₃) ₄	K ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	43%
15 ^[b]	Pd(PPh ₃) ₄	Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	62%
16 ^[b]	Pd(PPh ₃) ₄ (0,07 éq.)	Cs ₂ CO ₃	Tol., EtOH, reflux, 24 h	42%

[a] 0,1 éq. sauf indiqué

Pd(PPh₃)₄ fraîchement synthétisé

[b] tube scellé

Pd(PPh₃)₄ commercial

Pd(PPh₃)₄ Strem Chemicals Inc.

Les essais 1 et 2 ont été effectués avec du Pd(PPh₃)₄ synthétisé au préalable et permettent l'obtention du produit désiré avec un rendement respectif de 43 et 64%.¹⁴⁶ L'utilisation de Pd(PPh₃)₄ fraîchement synthétisé (essais 3 et 4 *vs* 2), permet l'obtention de résultats nettement moins bons (26%). L'essai 5, quant à lui, a été effectué avec un lot de palladium tetrakis commercial et seuls les réactifs de départ ont pu être récupérés.

Afin d'améliorer les faibles rendements obtenus, des tests ont été effectués sous activation micro-ondes avec le lot palladium tetrakis synthétisé (essais 6 et 7). Le meilleur rendement

a été obtenu en présence de Na_2CO_3 dans le toluène à 110°C pendant 2 h (33%, essai 6). L'utilisation de $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ à 90°C a permis l'obtention d'un meilleur rendement (46%, essai 8) en comparaison avec celui obtenu à 110°C (25%, essai 9).

Des essais sur différents catalyseurs ont pu être effectués (PdCl_2dppf et $\text{Pd}(\text{OAc})_2+\text{PPh}_3$) mais n'ont pas permis d'améliorer le rendement sur 24 h, bien qu'un rendement de 65% ait pu être atteint après 48 h de réaction en présence de PdCl_2dppf (essai 12).

Finalement, les résultats les plus concluants concernent les essais 14 à 16 avec l'utilisation de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ commercialisé chez Strem Chemicals Inc. et effectués en tube scellé. En effet, un rendement supérieur à 60% a pu être obtenu en 24 h (essai 15).

Les diazines iodées n'étant pas commerciales, elles ont donc été synthétisées suivant la méthode de Horváth¹⁶⁰ pour la pyrimidine **5** et la méthode de Wilkins¹⁶¹ pour la pyridazine **6**, toutes deux utilisant l'acide iodhydrique.

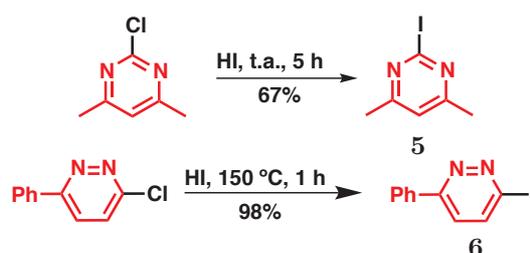


SCHÉMA 2.7 – Synthèse des diazines iodées

La 6-phényl-4-(trifluorométhyl)pyridazine nous a été fournie par l'équipe de J.-P. Bouillon et dont la synthèse¹⁶² est décrite ci-dessous.

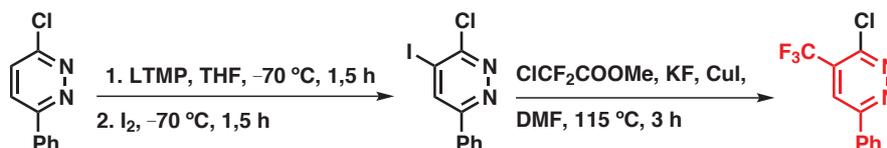


SCHÉMA 2.8 – Synthèse de la 6-phényl-4-(trifluorométhyl)pyridazine

L'insertion du groupement électro-attracteur a été réalisée en deux étapes. Dans un premier temps, sachant que la synthèse d'acide boronique diazinique est délicate, nous

160. Vlád, G. ; Horváth, I. T. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6550–6552.

161. Coad, P. ; Coad, R. A. ; Clough, S. *et al. J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 218–221.

162. Achelle, S. ; Plé, N. ; Turck, A. ; Bouillon, J.-P. ; Portella, C. *J. Heterocyclic Chem.* **2006**, *43*, 1243–1249.

avons cherché à placer le groupement $-B(OH)_2$ sur le fluorène.¹⁶³ Le composé **7** est obtenu à partir du composé **4** après un échange halogène-métal, puis une transmétallation suivie d'une hydrolyse pour donner l'acide boronique correspondant. Ce dernier est engagé sans purification dans un second couplage de Suzuki en présence d'une diazine halogénée (SCHÉMA 2.9). Les composés **8** et **9** sont obtenus avec des rendements respectifs de 16% et 20% tandis que le composé **10** comportant le groupement $-CF_3$ est obtenu avec un rendement de 44%.

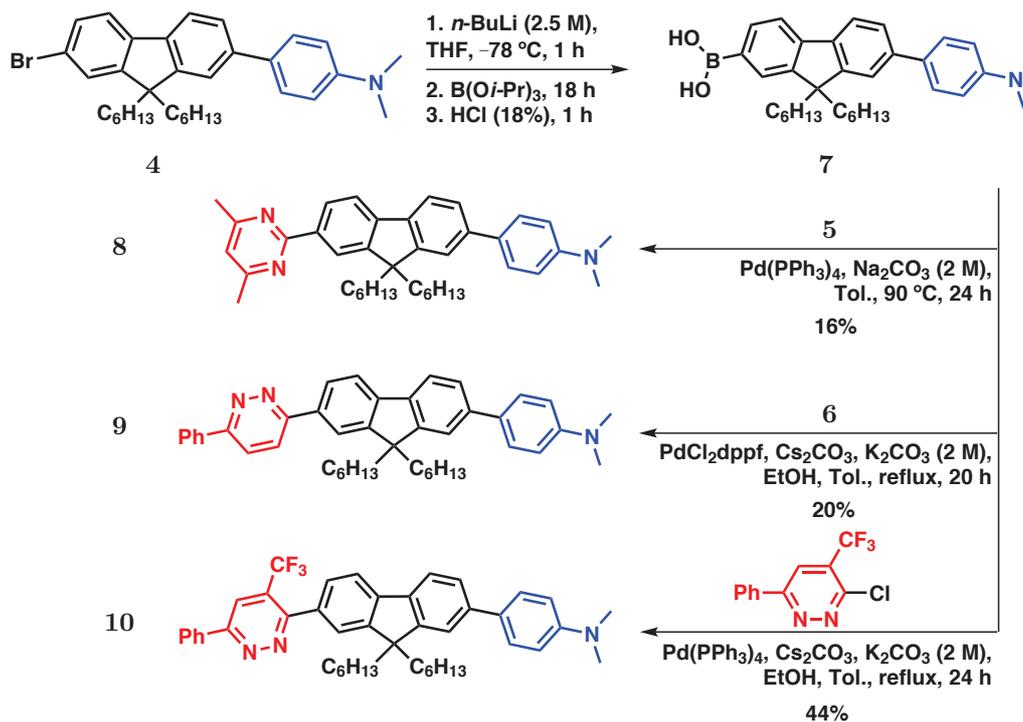


SCHÉMA 2.9 – Synthèse des composés **A-π-D** de type I

Il a été montré que les chromophores quadripolaires **A-π-A** permettaient l'obtention de bonnes sections efficaces voies supérieures à celles obtenues avec des chromophores dipolaires **A-π-D**. Dans ce contexte, nous avons synthétisé des fluorophores de type diazine- π -diazine.

Nous avons obtenu l'acide boronique **11**, à partir du 2,7-diiodofluorène synthétisé préalablement au laboratoire¹⁶⁴ par réaction d'échange halogène-métal suivie d'une

163. Novakova, V.; Miletin, M.; Kopecky, K.; Zimcik, P. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14273–14282.

164. Moldovan, S. O. Ingénierie de systèmes conjugués **A-π-D** diaziniques et évaluation de leurs propriétés optoélectroniques. Mélatamines spirodendritiques à partir des amino-1,3-dioxanes sérinologiques énantiopures. Design, synthèse et analyse structurale., thèse de doct., **2012**, Université de Rouen, Faculté de Chimie et Génie Chimique de Cluj Napoca.

transmétallation puis d'une hydrolyse acide. Cet acide boronique est directement mis en réaction dans un double couplage de Suzuki avec la 2-iodo-4,6-diméthylpyrimidine **5** et conduit au composé **12** avec un rendement de 34% sur les 2 étapes (SCHÉMA 2.10).

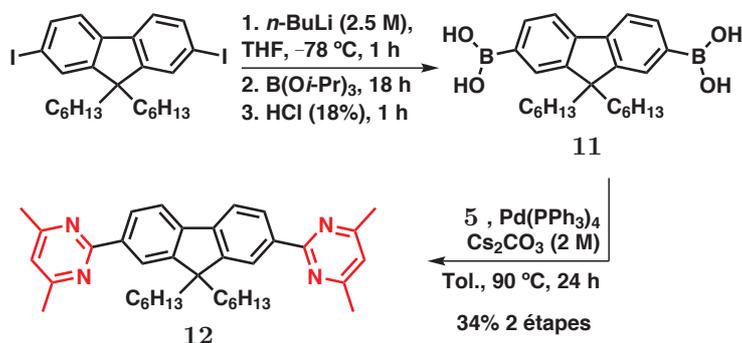


SCHÉMA 2.10 – Synthèse des composés **A-π-A** de type I

2.2.3 Synthèse des composés de type II

Les composés **A-π-D** de type II ont été synthétisés au préalable dans le laboratoire par O. Moldovan¹⁶⁴ à l'exception du composé **A-π-A** diazinique.

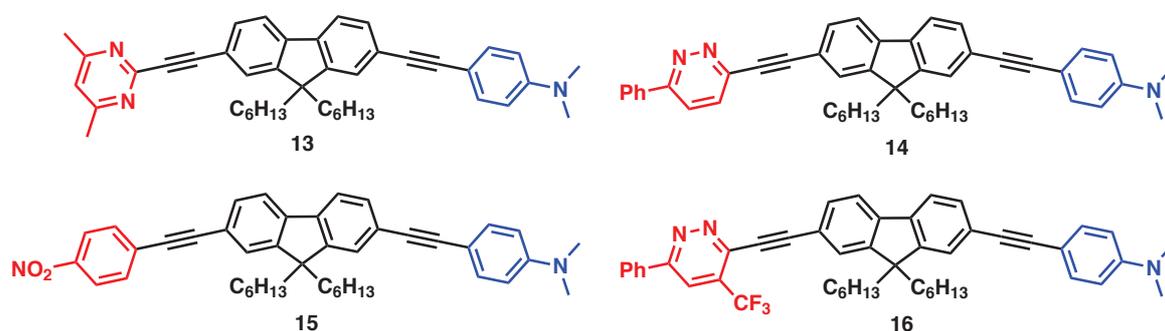


SCHÉMA 2.11 – Synthèse de composés **A-π-D** de type II

Les liens acétyléniques protégés ont été introduits de part et d'autre du 2,7-diiodofluorène par réactions de couplage de Sonogashira avec un rendement de 62%. Ensuite, une séquence de déprotection-couplage sur le composé **17** permet l'obtention du fluorophore **18** avec un rendement de 35% sur les deux étapes (SCHÉMA 2.12).

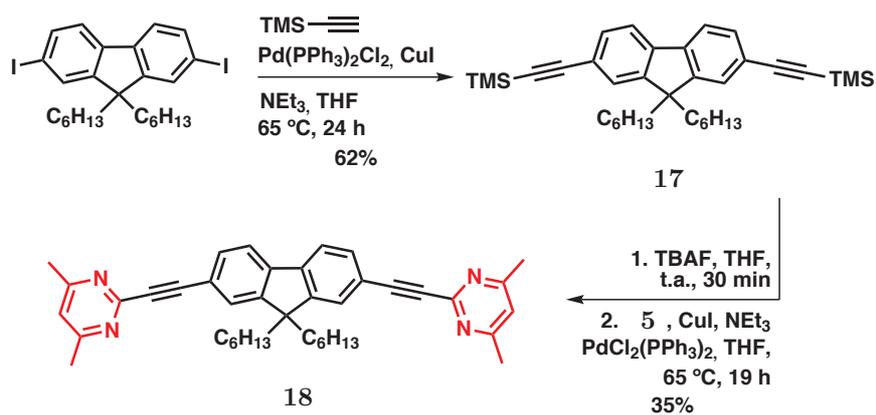


SCHÉMA 2.12 – Synthèse du composé **A- π -A** de type II

2.2.4 Synthèse des composés de type III

Les premiers chromophores incorporant le motif triazole au sein même de la structure du chromophore ont été développés par l'équipe de Blanchard-Desce.¹⁶⁵

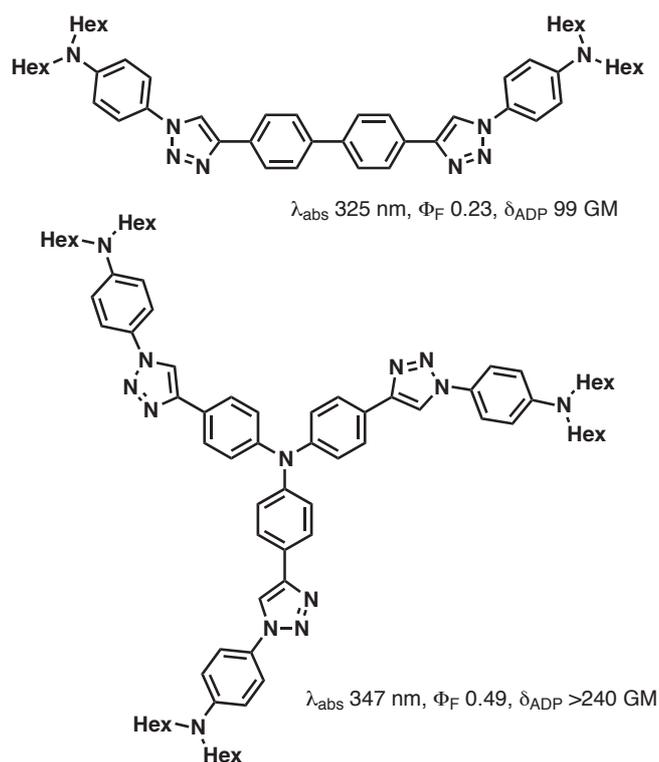


SCHÉMA 2.13 – Chromophores comportant le motif triazole

165. Parent, M.; Mongin, O.; Kamada, K.; Katan, C.; Blanchard-Desce, M. *Chem. Commun.* **2005**, 2029–2031.

La même année, le groupe de Van Maarseveen et Reek utilise le triazole dans des polyfluorènes comme lien π -conjugué et les composés obtenus présentent de bonnes propriétés photophysiques (SCHÉMA 2.14).¹⁶⁶

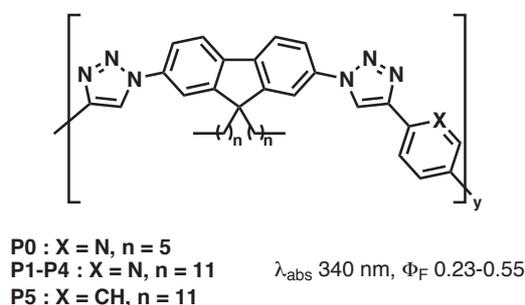


SCHÉMA 2.14 – Polyfluorène comportant le motif triazole

Depuis, des études au laboratoire ont permis d'établir que le lien triazole, dans des structures **A**- π -**D** permettait l'obtention de bonnes propriétés photophysiques voire supérieures à celles obtenues avec le lien acétylénique.^{147,148} Concernant les chromophores du type III, un lien triazole a donc été introduit sur le fluorène *via* la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée par le cuivre I (CuAAC). Trois composés ont ainsi été synthétisés :

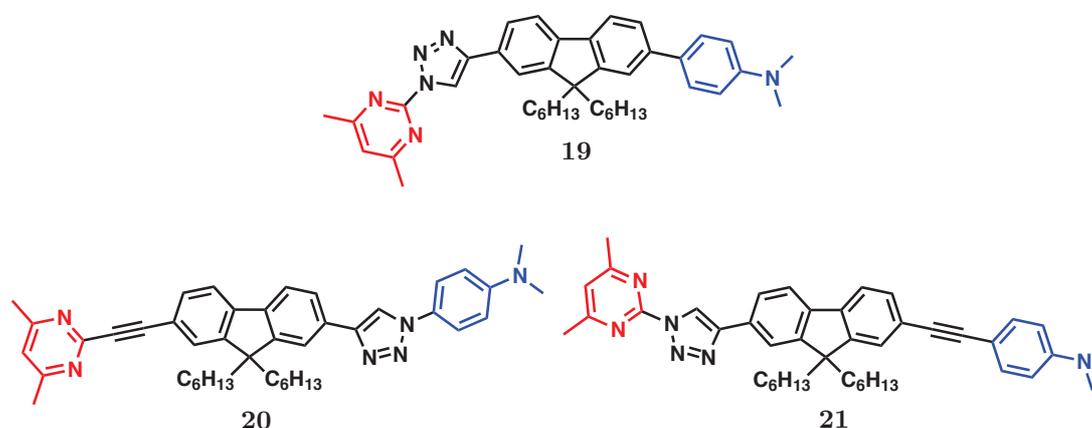


SCHÉMA 2.15 – Composés **A**- π -**D** de type III

Les azotures n'étant pas commerciaux, ils ont été synthétisés et purifiés avant d'être mis en jeu dans une réaction de cycloaddition. Le 2-azido-4,6-diméthylpyrimidine a pu être préparé suivant la méthode décrite par Weigelt¹⁶⁷ qui consiste en une cyclodéshydratation

166. van Steenis, D. J. V. C.; David, O. R. P.; van Strijdonck, G. P. F.; van Maarseveen, J. H.; Reek, J. N. H. *Chem. Commun.* **2005**, 4333–4335.

167. Nilsson, L. I.; Ertan, A.; Weigelt, D.; Nolsöe, J. M. J. *J. Heterocycl. Chem.* **2010**, *47*, 887–892.

catalysée au cuivre I et qui conduit à l'obtention d'un mélange d'azoture **22a** et de tétrazole **22b** avec un ratio de 27:73 déterminé par RMN.

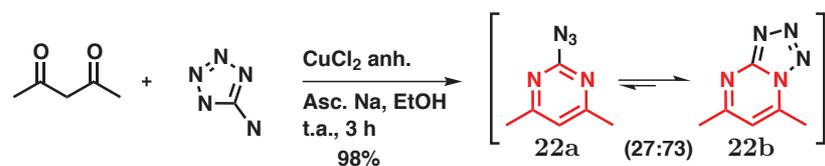


SCHÉMA 2.16 – Synthèse de la 2-azido-4,6-diméthylpyrimidine

Le 4-azido-*N,N*-diméthylaniline **23** a été obtenu grâce à la méthode développée par Liu, Guo et Aldrich qui consiste en un couplage catalysé au cuivre et en présence d'un acide boronique et d'azoture de sodium.^{168,169}

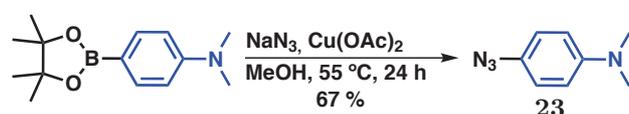


SCHÉMA 2.17 – Synthèse de la 4-azido-*N,N*-diméthylaniline

Un couplage de Sonogashira a permis l'introduction d'un lien acétylénique sur le composé iodé-bromé **3** permettant l'obtention du composé **24** avec un rendement de 84%. Ensuite, le couplage de Suzuki avec l'acide 4-(diméthylamino)phénylboronique permet d'accéder au composé **25** avec un rendement de 35%. La triple liaison est déprotégée par du TBAF puis une réaction de « click chemistry » (CuAAC) en présence du mélange azoture/tétrazole **22** conduit au composé **19** désiré avec un rendement de 52%.

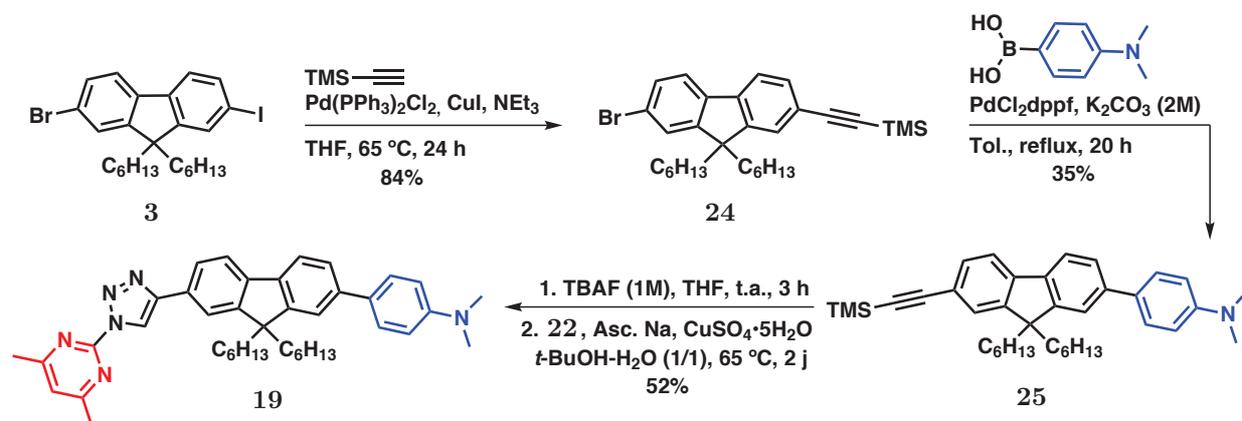


SCHÉMA 2.18 – Synthèse du composé **A-π-D** de type III comportant un lien triazole

168. Tao, C.-Z.; Cui, X.; Li, J. *et al. Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3525–3529.

169. Grimes, K.; Gupte, A.; Aldrich, C. *Synthesis* **2010**, *2010*, 1441–1448.

Afin d'étendre la conjugaison, un lien acétylénique a été introduit permettant l'obtention du composé **20**, isomère du composé **21** préalablement synthétisé au sein du laboratoire.

Dans un premier temps, le composé **26** comportant deux liens acétyléniques différemment protégés a été obtenu avec un rendement global de 55% sur les deux étapes.

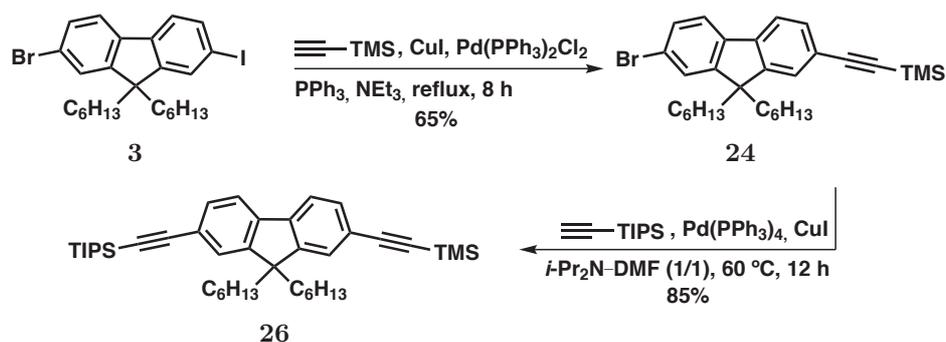


SCHÉMA 2.19 – Synthèse du ((9,9-dihexyl-7-((triisopropylsilyl)éthynyl)-9*H*-fluorèn-2-yl)éthynyl)triméthylsilane

Dans un second temps, le fluorophore **20** a été obtenu selon 2 voies de synthèse faisant intervenir des réactions de CuAAC et de Sonogashira avec des rendements globaux similaires (SCHÉMA 2.20). Pour cela, des déprotections spécifiques des groupements $-\text{TMS}$ et $-\text{TIPS}$ ont été réalisées afin de permettre l'insertion des groupements électro-attracteur puis électro-donneur et inversement pour la seconde voie.

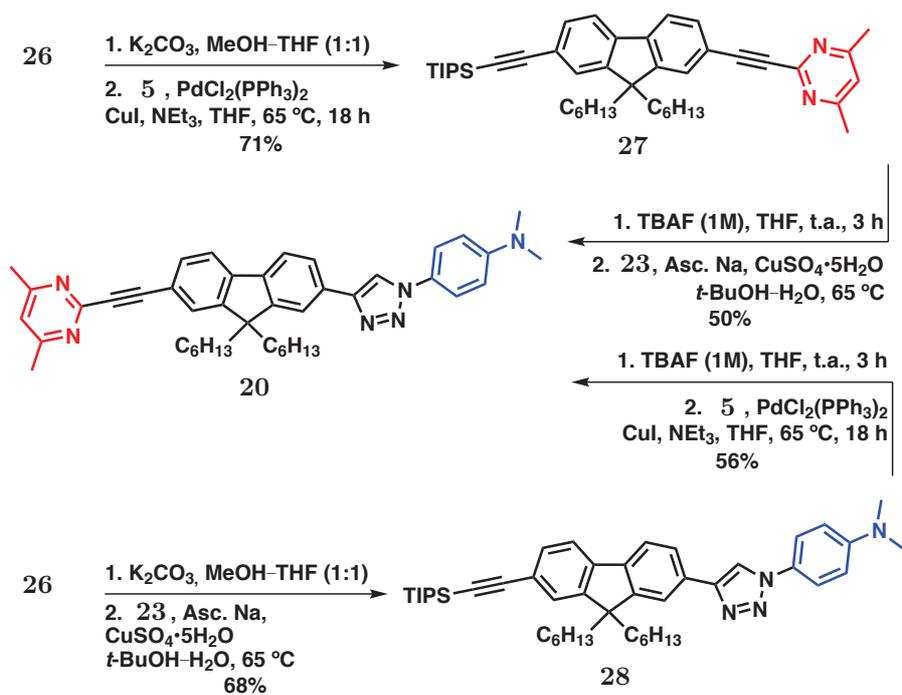


SCHÉMA 2.20 – Synthèse du composé **A- π -D** de type III comportant un triazole et une triple liaison

2.2.5 Synthèse des composés de type IV

De la même façon que décrit précédemment, une déprotection sélective du composé **26** a permis d'effectuer la première cycloaddition de type « click-chemistry ». Une seconde déprotection suivi d'une nouvelle cycloaddition a permis d'obtenir le chromophore **29** avec un rendement global de 68% (SCHÉMA 2.21).

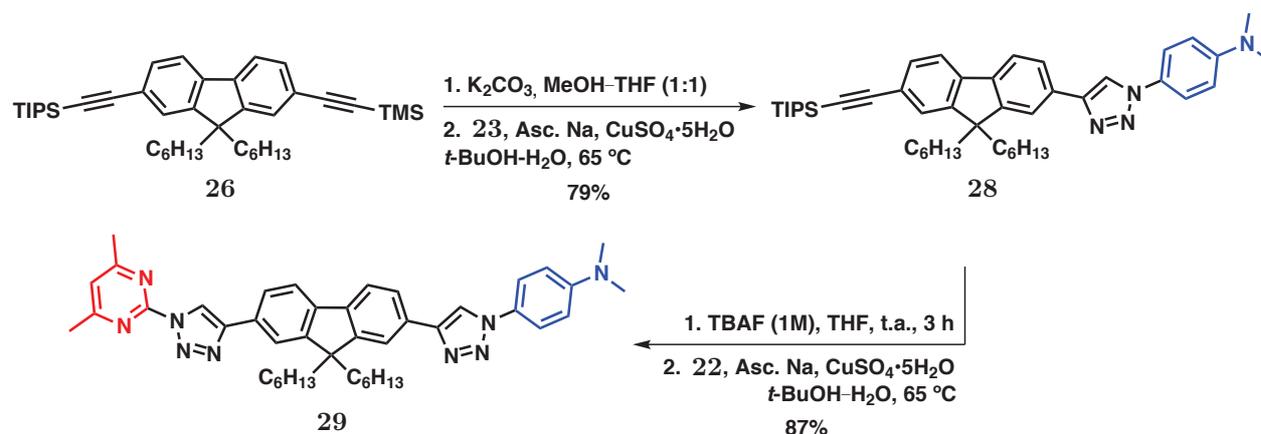


SCHÉMA 2.21 – Synthèse du composé **A- π -D** de type IV

2.3 Propriétés photophysiques

Des études de propriétés photophysiques des fluorophores synthétisés possédant des chaînes alkyles ont pu être effectuées.¹⁷⁰ Dans un premier temps, les analyses des propriétés de fluorescence d'absorption à un photon et d'émission ont été réalisées au sein du laboratoire COBRA. Dans un deuxième temps, des mesures d'ADP ont été réalisées en collaboration avec P. Baldeck de l'université de Grenoble et l'ENS de Lyon.

2.3.1 Propriétés d'absorption à un photon et de fluorescence

L'ensemble des spectres d'absorption et d'émission ont été réalisés en solution, dans le dichlorométhane à 25 ° C. Les maxima d'émission et d'absorption, les coefficients d'extinction molaire ϵ (L.mol⁻¹.cm⁻¹), les rendements quantiques Φ_F et les déplacements de Stokes $\Delta\lambda$ de chaque produit final sont présentés dans le TABLEAU 2.2.

170. Denneval, C. ; Moldovan, O. ; Baudequin, C. *et al. Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 2013, 5591–5602.

TABLEAU 2.2 – Propriétés photophysiques à un photon

Type	N°	A	π_1	π_2	λ_{abs} en nm	λ_{em} en nm	$\Delta\lambda$ en nm	ϵ en $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$	$\Phi_{\text{F}}^{[\text{a}]}$
I	8				360	483	123	58838	0.69
	9				368	528	160	35013	0.35
	10				358	423	65	39268	0.01
A- π -A	12				354	384	30	24641	0.39
II	13				372	515	143	52094	0.64 ^[b]
	14				377	539	162	58114	0.21
	16				392	506	114	74708	0.05
	15				391	474	83	51883	0.01
A- π -A	18				353	381	28	11412	0.81
III	19				338	380	42	19419	0.53
	20				348	500	152	40030	0.42
	21				362	450	88	71469	0.71
IV	29				334	422	88	81953	0.47 ^[b]

[a] $\pm 10\%$, référence utilisée : harmane dans H_2SO_4 0.1 M ($\Phi_{\text{F}} = 0.58$) excitation à 360 nm

[b] excitation à 300 nm

Tous les composés étudiés ont une longueur d'onde d'absorption (λ_{abs}) dans la région de l'ultraviolet (334–392 nm) et une longueur d'onde d'émission (λ_{em}) dans la région du violet au vert.

On constate que les composés **8**, **9** et **10** ont des λ_{abs} équivalentes mais le composé **8** comporte un coefficient d'extinction molaire (ϵ) important et un bon Φ_{F} (0.69). Une chute du rendement quantique est observée pour **10**, ce qui peut s'expliquer par un encombrement stérique du groupement trifluorométhyle adjacent au lien pyridazine-fluorène. Cet encombrement entraîne une perte de conjugaison entre le groupement électro-donneur et électro-attracteur. En effet, des calculs de géométrie ont montré la présence d'un angle dièdre de l'ordre de 37° pour le composé **10** alors que la géométrie du composé **8** est quasiment coplanaire avec une angle de 0.075° (FIGURE 2.1).

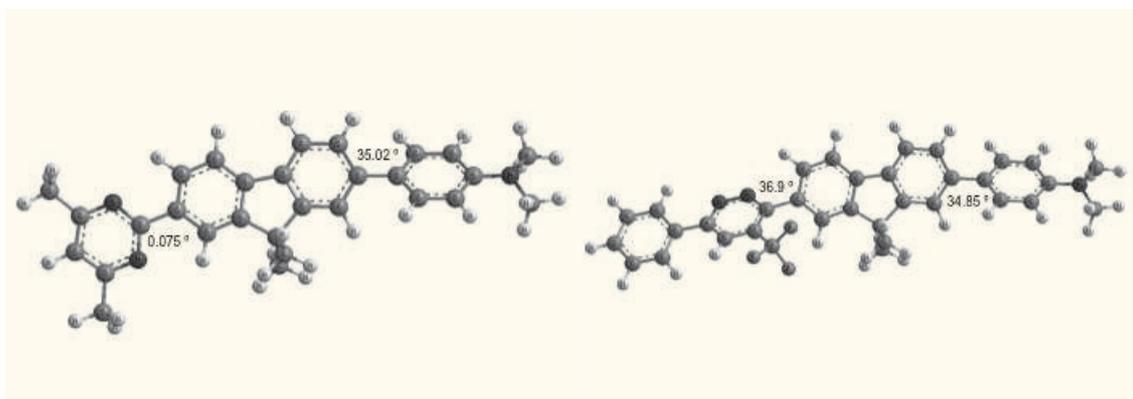


FIGURE 2.1 – Géométrie du composé **8** à gauche et du composé **10** à droite

Pour les composés **8**, **13**, **19**, **20** et **21** comportant la pyrimidine comme groupement électro-attracteur, seule la nature du corps π -conjugué a été modulée. En effet, l'ajout d'un groupement acétylénique entre la pyrimidine et le fluorène engendre un effet bathochrome de la longueur d'onde d'émission (**8** *vs* **13** et **20**), alors que la présence du triazole entraîne plutôt un effet hypsochrome de la longueur d'onde d'émission (**8** *vs* **19** et **21**). De plus une forte augmentation du coefficient d'extinction molaire est observée (**13** *vs* **21**) tandis que leur rendements quantiques sont quasiment équivalents (0.64 à 0.71). Lorsque le fluorophore comporte deux triazoles (**29**) une baisse du rendement quantique et un faible effet hypsochrome sont obtenus alors que le coefficient d'extinction molaire augmente fortement.

Quant aux composés **13**, **14** et **16**, l'élongation de la conjugaison offre des résultats similaires en termes de Φ_{F} et ϵ pour le composé **13** (*vs* **8**), alors qu'un meilleur ϵ est observé pour les fluorophores **14** (*vs* **9**) et **16** (*vs* **10**). Pour ces deux derniers composés, aucune

amélioration du Φ_F n'a été obtenue. Les résultats du composé nitré **15** peuvent être utilisés comme référence pour évaluer l'influence de la diazine sur les composés **13**, **14** et **16**.

Les composés **12** et **18** possèdent des Φ_F corrects et leurs coefficients d'extinction molaires sont assez faibles.

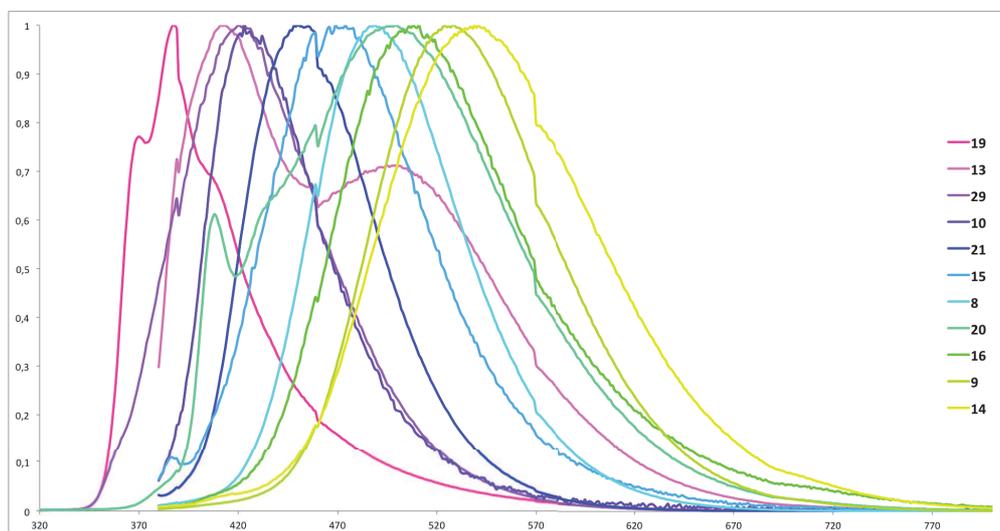


FIGURE 2.2 – Spectres d'émission des différents composés

2.3.2 Propriétés d'absorption à deux photons

Les mesures des sections efficaces d'absorption à deux photons (δ_{ADP}) ont été réalisées en utilisant la méthode de fluorescence par excitation à deux photons. Pour la zone d'excitation entre 690 et 940 nm, nous avons utilisé un laser Ti:saphir à impulsion femtoseconde. L'intensité du faisceau incident a été réglée de façon à avoir une dépendance quadratique de l'intensité de fluorescence dans la zone mesurée. Les longueurs d'onde maximales d'absorption à deux photons et les sections efficaces des composés **8**, **10**, **12–14**, **18–21** et **29** sont présentées dans le TABLEAU 2.3.

TABLEAU 2.3 – Propriétés photophysiques à deux photons

N°	Type I		Type II			Type III			Type IV	A- π -A	
	8	10	13	14	16	19	20	21	29	12	18
$\lambda_{ADP}^{[a]}$ (en nm)	740	700	760	780	740	730	700	760	730	770	700
$\delta_{ADP}^{[b]}$ (en GM)	120	263	82	269	367	31	69	148	39	129	99

[a] longueur d'onde du maximum de la section efficace

[b] section efficace (1 GM = 10^{-50} cm⁴.s.photon⁻¹)

Tous les composés absorbent en ADP dans le rouge et le proche infrarouge. Les meilleures sections efficaces obtenues correspondent aux composés **14** et **16** avec une valeur de 269 et 367 GM à 780 et 740 nm respectivement.

On remarque que la présence du CF₃ entraîne une augmentation de la section efficace de l'ordre de 100 GM (**16 vs 13**), ce qui peut être expliqué par une exaltation du caractère électro-attracteur de la diazine-CF₃.

De plus, si on compare les composés **8 vs 13** et **10 vs 16**, on constate que l'élongation de la conjugaison par un lien acétylénique entre la pyrimidine et le fluorène engendre un forte diminution de la section efficace (**13 vs 8**) alors que cette valeur augmente de 100 GM pour le dérivé pyridazinique (**16 vs 10**).

L'ajout d'un triazole entraîne une diminution de la section efficace pour les composés **19** et **20** mais lorsque qu'un lien acétylénique est présent entre le fluorène et le groupement électro-donneur (**21**), une légère augmentation de δ_{ADP} est observée (148 GM). De plus, la présence de deux triazoles (**29**) engendre une chute importante de cette valeur.

Par ailleurs, pour les composés de type A- π -A, les résultats obtenus sont comparables à ceux des composés A- π -D. Cependant, la présence du lien acétylénique entraîne une forte diminution dans la longueur d'onde maximale (770 nm pour **12** et 700 nm pour **18**) ainsi qu'une diminution dans la section efficace (129 GM pour **12** et 99 GM pour **18**).

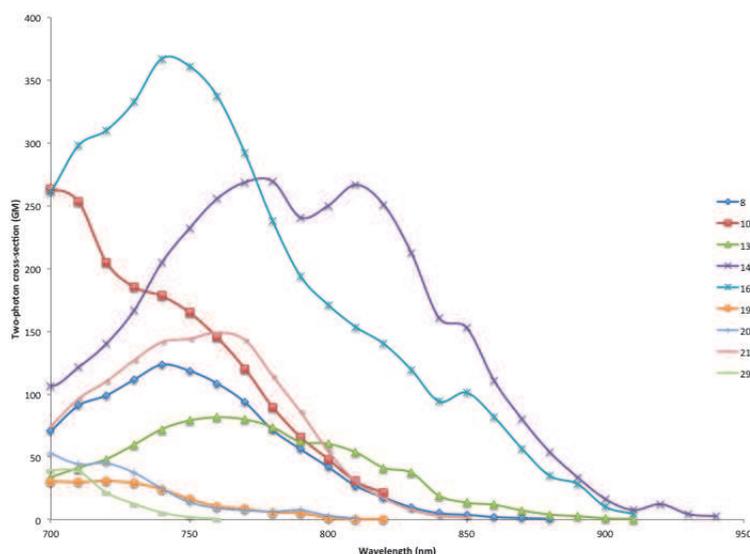


FIGURE 2.3 – Sections efficaces des différents composés

2.4 Conclusion

Pour cette première partie, une nouvelle série de dérivés diaziniques **A**- π -**D** comportant le fluorène comme lien π -conjugué et le 4-(diméthylamino)phényle comme groupement électro-donneur a été synthétisée avec succès.

Une étude des propriétés photophysiques a été réalisée sur l'ensemble des fluorophores de type **A**- π -**D** et **A**- π -**A**. On peut conclure que les composés comportant une pyrimidine comme groupement électro-attracteur permettent d'obtenir de bon à très bon rendements quantiques (Φ_F de 42 à 71%). L'introduction d'un triazole entre le fluorène et la pyrimidine permet d'augmenter le coefficient d'extinction molaire (ϵ). Lorsque celui-ci est remplacé par une triple liaison, le déplacement de Stokes augmente.

Les analyses d'absorption à deux photons montrent que les meilleures sections efficaces sont obtenues pour les fluorophores comportant la pyridazine comme groupement électro-attracteur (263 et 269 GM). De plus, l'insertion du $-\text{CF}_3$ engendre une augmentation de cette valeur de 100 GM.

L'ensemble de ces travaux ont montré que les meilleurs candidats pour une application en imagerie médicale sont les composés pyrimidiques **8** et **21** qui possèdent la meilleure brillance ($\Phi_F \delta_{ADP}$).

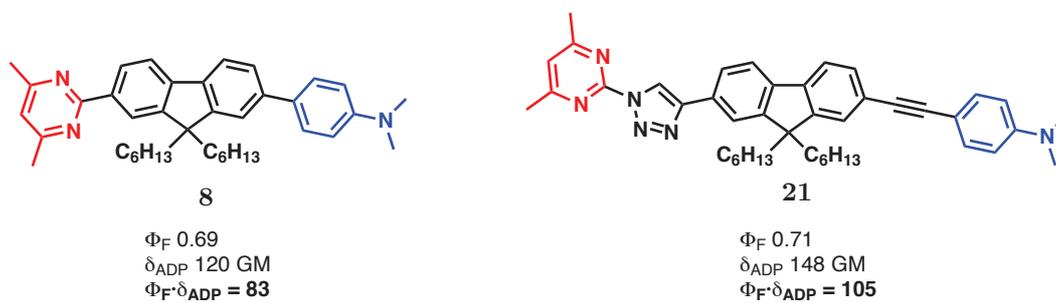


SCHÉMA 2.22 – Meilleurs candidats pour une application en imagerie

Chapitre 3

Version hydrosoluble

La seconde partie de ce projet a consisté en la synthèse de fluorophores **A- π -D** hydrosolubles *via* des réactions de couplage de Suzuki et de Sonogashira, ainsi que des cycloadditions 1,3-dipolaires de Huisgen. Suite aux résultats précédemment présentés, la 4,6-diméthylpyrimidine a été choisie comme groupement électro-attracteur. Quelques modifications du lien π -conjugué ont été effectuées *via* l'insertion de lien acétylénique ou de triazole de part et d'autre du fluorène.

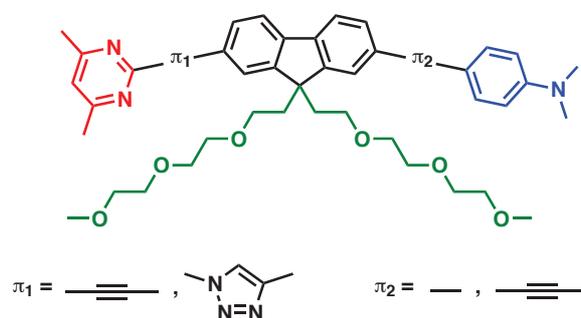


SCHÉMA 3.1 – Familles des composés hydrosolubles

3.1 Fluorène hydrosoluble – rappel bibliographique

L'intérêt des chaînes polyéthylène glycols est de rendre hydrosolubles les molécules possédant un squelette hydrophobe. De plus, les chaînes PEG peuvent être facilement introduites en position 9 du fluorène selon les mêmes conditions utilisées que pour l'insertion des chaînes alkyles.

Dernièrement, le groupe de Belfield a réalisé la synthèse de sondes hydrosolubles pour une application en imagerie médicale. Ces travaux publiés en 2010 concernant la sonde LT1 ont déjà été présentés précédemment (cf. section 1.3.3.1).⁹⁷

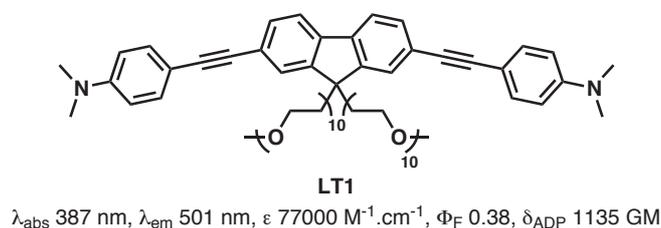


FIGURE 3.1 – Sonde LT1

La même année, il présente deux sondes cationiques. La première sonde est munie d'une thiourée et d'un macrocycle permettant la chélation du cation Zn^{2+} (FIGURE 3.2). Les propriétés photophysiques sont légèrement améliorées une fois la complexation effectuée (Φ_{F} 0.46 à 0.51 et δ 130 à 170 GM).¹⁷¹

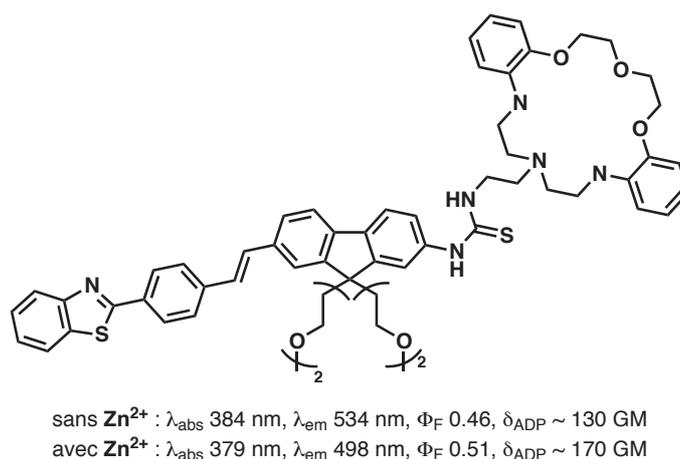
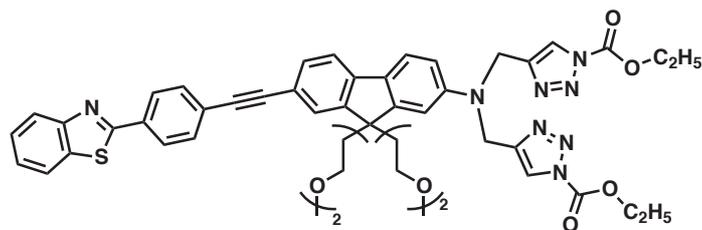


FIGURE 3.2 – Sonde zincique *via* l'utilisation d'un macrocycle

La seconde sonde hydrosoluble capte sélectivement les cations Zn^{2+} . Les propriétés photophysiques sont alors nettement améliorées (FIGURE 3.3).¹⁷²

171. Belfield, K. D.; Bondar, M. V.; Frazer, A. *et al. J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 9313–9321.

172. Nguyen, D. M.; Wang, X.; Ahn, H.-Y. *et al. ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2*, 2978–2981.



λ_{abs} 384 nm, λ_{em} 643 nm, ϵ 6000 M⁻¹.cm⁻¹, Φ_F 0.1, $\delta_{\text{ADP}} \sim 50$ GM sans Zn²⁺

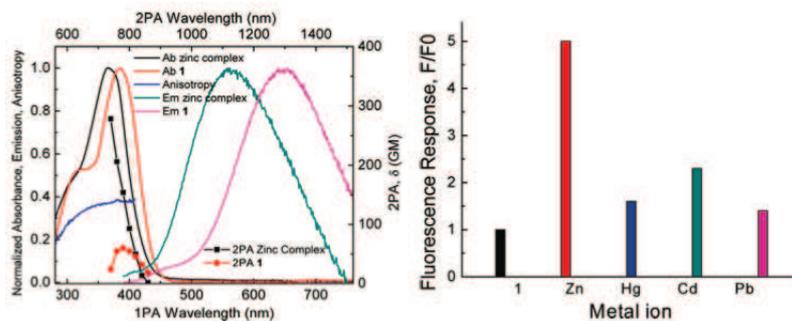
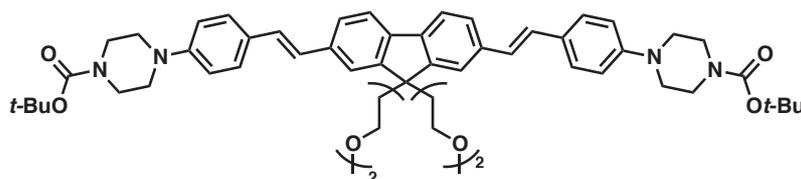


FIGURE 3.3 – Sonde zincique *via* l'utilisation de triazoles

Plus récemment, une nouvelle sonde fluorescente **D- π -D** a été élaborée par Belfield.¹⁷³



λ_{abs} 394 nm, λ_{em} 530 nm, Φ_F 0.94, $\delta_{\text{ADP}} \sim 300$ GM

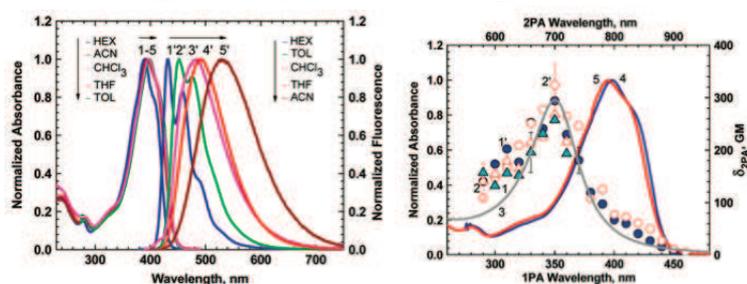


FIGURE 3.4 – Sonde **D- π -D**

173. Belfield, K. D.; Bondar, M. V.; Morales, A. R. *et al. J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 11261–11271.

3.2 Détermination du squelette

3.2.1 Synthèse du lien π -conjugué

La première étape a consisté à fonctionnaliser les chaînes polyéthylènes glycols selon la méthode de Bazan. Le dérivé iodé **31** a été obtenu avec un bon rendement en passant par l'intermédiaire tosylé **30**. (SCHÉMA 3.2).¹⁵⁹

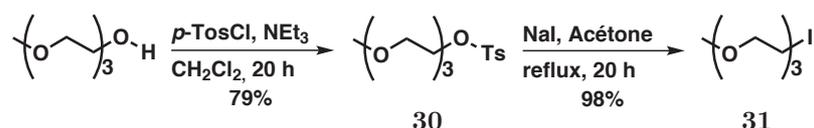


SCHÉMA 3.2 – Synthèse des chaînes PEG

L'insertion des chaînes PEG sur le fluorène **2** a été effectuée en présence d'une base forte (NaH) dans le DMF pour conduire au composé **32** avec un rendement de 84% (SCHÉMA 3.3).¹⁵⁹

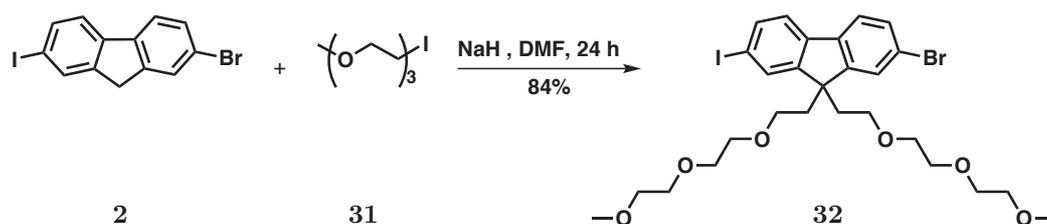


SCHÉMA 3.3 – Synthèse du lien π -conjugué

3.2.2 Synthèse des composés de type I

Dans le cas des composés hydrosolubles, les composés de type I sont caractérisés par le groupement électro-donneur lié au fluorène *via* une liaison simple et le groupement électro-attracteur relié au fluorène soit par un lien acétylénique, soit par un triazole (SCHÉMA 3.4).

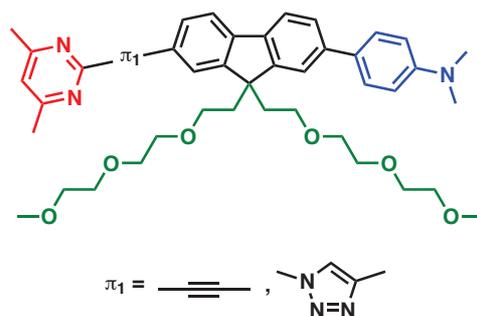


SCHÉMA 3.4 – Composés hydrosolubles de type I

Dans un premier temps, un couplage de Suzuki conduit au composé **33** avec un rendement de 44% puis un couplage de Sonogashira permet l'insertion d'un lien acétylénique (SCHÉMA 3.5). Des essais avec le triméthylsilylacétylène (TMSA) et le triisopropylsilylacétylène (TIPSA) ont été effectués, seul le TIPSA a permis l'obtention du composé protégé **34** avec un rendement de 74%.

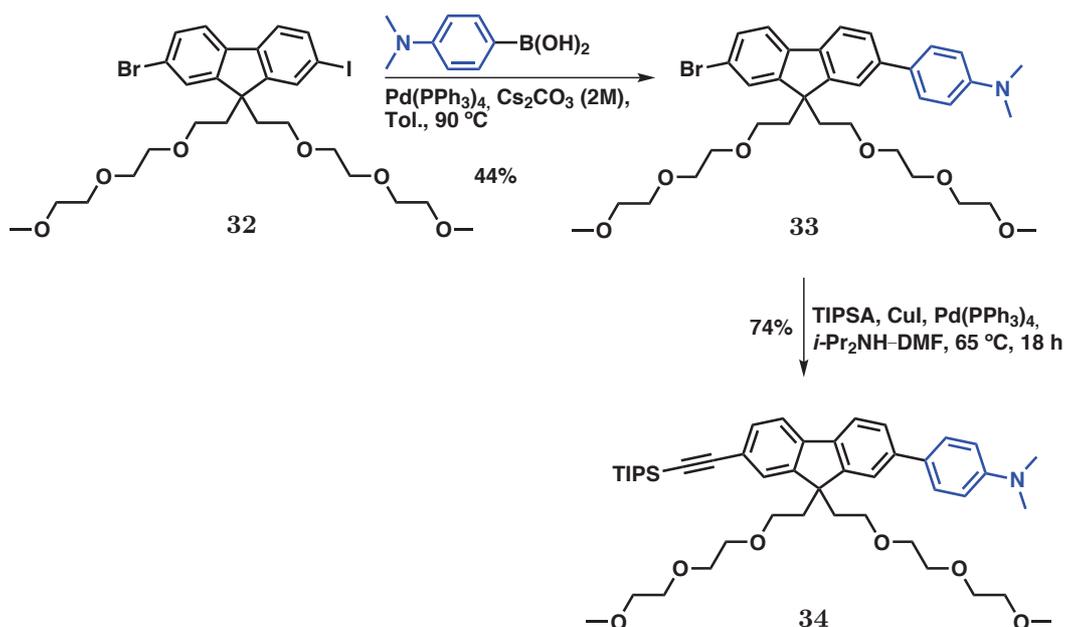


SCHÉMA 3.5 – Synthèse de l'intermédiaire **34**

Ensuite, le composé **35** est obtenu après déprotection au TBAF suivi d'un couplage de Sonogashira. Après 3 jours de réaction, le composé **35** est isolé avec 14% de rendement après purification sur C18 avec ACN-H₂O (8:2 jusqu'à 4:6) comme éluant (SCHÉMA 3.6). Ce rendement s'explique par la difficulté que nous avons eue pour purifier ce composé.

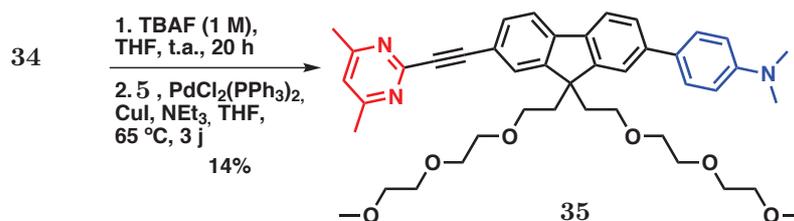


SCHÉMA 3.6 – Synthèse du composé **35** de type I

Le composé **36** a été obtenu selon deux protocoles. La cycloaddition peut être réalisée en utilisant la méthode de Dong¹⁷⁴ qui permet d'obtenir le composé désiré avec un rendement de 27% en présence de CuBr/PMDETA. Les conditions décrites par Emrick¹⁷⁵ (CuSO₄·5H₂O/Asc. Na) conduisent au composé final avec un rendement semblable de 31% après purification par chromatographie sur gel de silice.

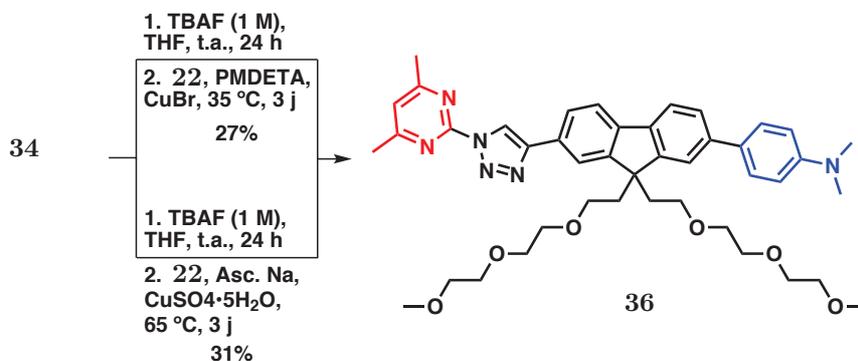


SCHÉMA 3.7 – Synthèse du composé **36** de type I

3.2.3 Synthèse des composés de type II

Les composés de type II sont caractérisés par le groupement électro-donneur lié au fluorène *via* un lien acétylénique et le groupement électro-attracteur relié au fluorène soit par un lien acétylénique, soit par un triazole (SCHÉMA 3.8).

174. Hua, C.; Peng, S.-M.; Dong, C.-M. *Macromolecules* **2008**, *41*, 6686–6695.

175. Parrish, B.; Breitenkamp, R. B.; Emrick, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7404–7410.

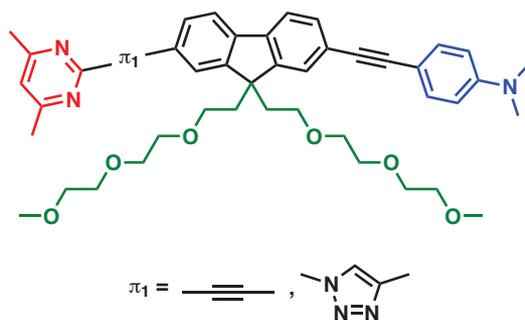


SCHÉMA 3.8 – Composés hydrosolubles de type II

Le premier composé hydrosoluble synthétisé, comporte deux liens acétyléniques de part et d'autre du fluorène. Il est obtenu après une première réaction de Sonogashira entre **32** et la 4-éthynyl-*N,N*-diméthylaniline, suivi d'une seconde réaction de Sonogashira afin d'insérer le deuxième lien acétylénique protégé (intermédiaire **38**). Puis une séquence de déprotection-couplage de Sonogashira permet l'obtention du composé **39** après purification par colonne en phase inverse avec un rendement global de 27%.

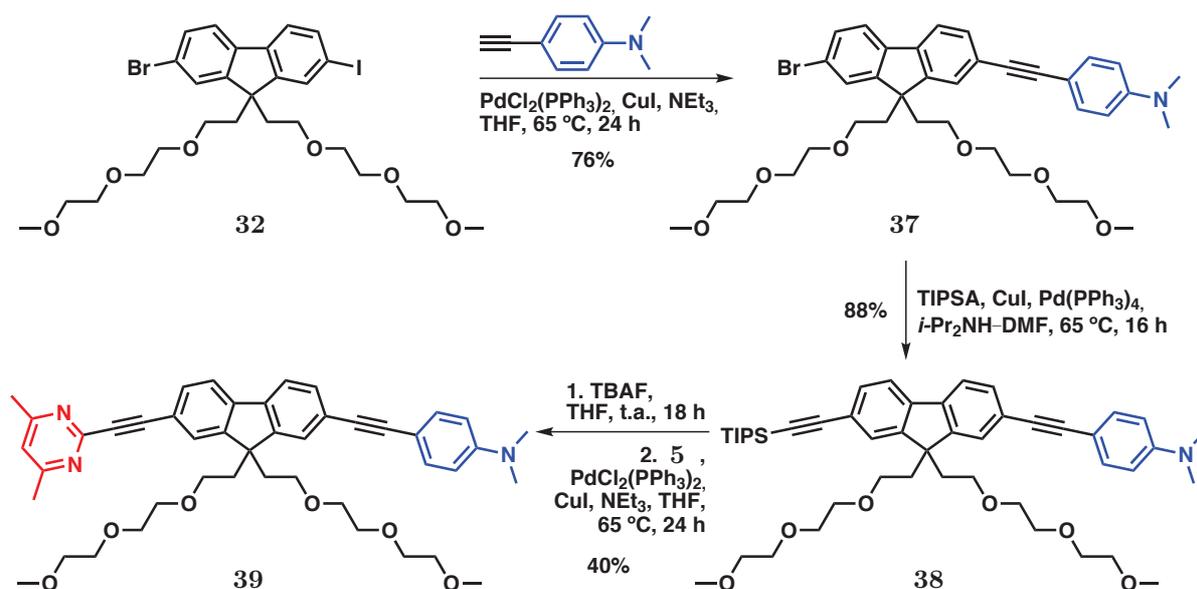


SCHÉMA 3.9 – Synthèse du premier composé hydrosoluble de type II

Le second composé hydrosoluble **40** comportant un lien triazole n'a pu être obtenu malgré les différentes conditions effectuées.

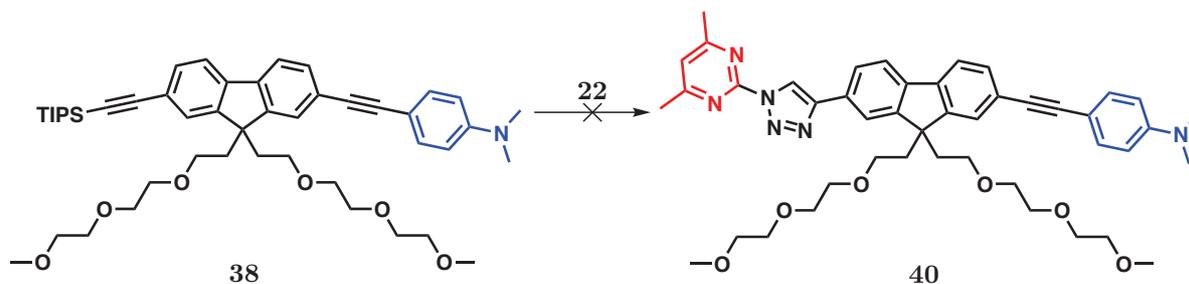


SCHÉMA 3.10 – Synthèse du second composé hydrosoluble de type II

Ces conditions, sous activation thermique ou micro-ondes, sont répertoriées dans le TABLEAU 3.1.^{159,175} Différents essais ont été réalisés en modifiant la nature du solvant (réactions 2 et 3), ajout de TBTA (FIGURE 3.5) pour les réactions 5 et 6. Dans l'ensemble de ces conditions, seuls les réactifs de départ ou des produits issus de la dégradation de l'alcyne ont pu être récupérés.

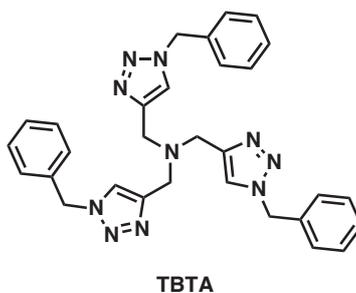


FIGURE 3.5 – Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl]amine

TABLEAU 3.1 – Étude sur la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen

1	Asc. Na. (0.4 éq.)	CuSO ₄ ·H ₂ O (0.2 éq.)	<i>t</i> -BuOH–H ₂ O, 65 ° C, 4 j.
2	Asc. Na. (0.3 éq.)	CuSO ₄ ·H ₂ O (0.15 éq.)	<i>t</i> -BuOH–H ₂ O–THF, 65 ° C, 2 j.
3	Asc. Na. (0.2 éq.)	CuSO ₄ ·H ₂ O (0.1 éq.)	Acétone–H ₂ O, 80 ° C, 4 j.
4	Asc. Na. (0.2 éq.)	CuSO ₄ ·H ₂ O (0.1 éq.)	Acétone–H ₂ O, 22 (5 éq.), 80 ° C, 4 j.
5	Asc. Na. (0.2 éq.)	CuSO ₄ ·H ₂ O (0.1 éq.)	Acétone–H ₂ O, TBTA (0.07 éq.), 80 ° C, 4 j.
6	Asc. Na. (0.6 éq.)	CuSO ₄ ·H ₂ O (0.3 éq.)	Acétone–H ₂ O, TBTA (0.25 éq.), 80 ° C, 5 j.
7	PMDETA (1.1 éq.)	CuBr (1.1 éq.)	DMF, $\mu\omega$, 80 ° C, 1 h.

Dans la série des fluorènes hydrosolubles, un composé quadripolaire **A**– π –**A** a été également synthétisé.

Pour cela, un couplage de Sonogashira en présence de 2 éq. de TMSA a été effectué afin d'introduire les liens acétyléniques de part et d'autre du fluorène. Ensuite une séquence déprotection-couplage de Sonogashira permet l'obtention du composé **42** avec un rendement global de 22%.

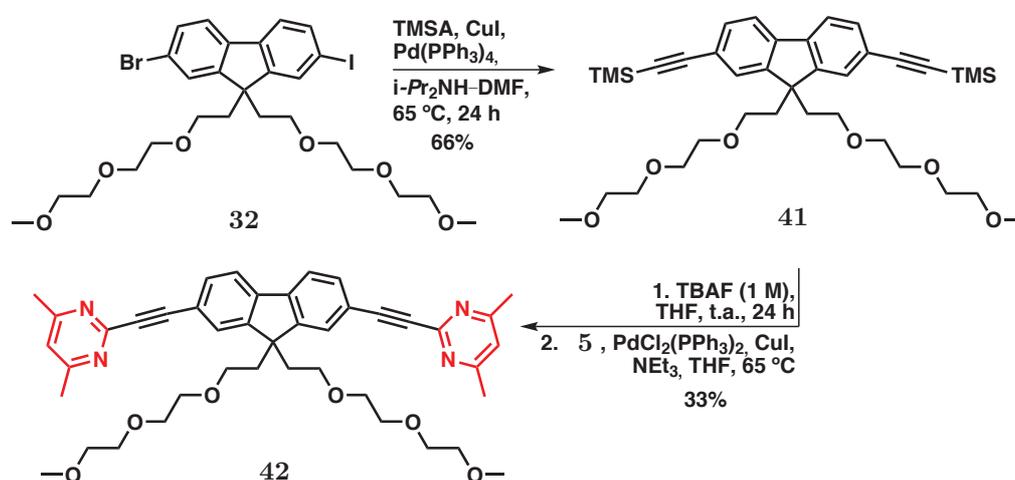


SCHÉMA 3.11 – Synthèse du composé **A- π -A**

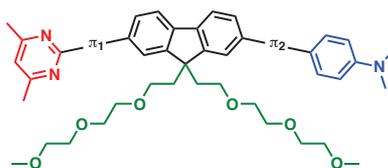
3.3 Propriétés photophysiques

Des mesures d'absorption et de fluorescence des fluorophores synthétisés possédant des chaînes polyéthylènes glycols ont pu être effectuées. Dans un premier temps, les analyses des propriétés de fluorescence d'absorption à un photon et d'émission ont été réalisées au sein du laboratoire COBRA. Dans un deuxième temps, des mesures d'ADP ont été réalisées en collaboration avec P. Baldeck de l'université de Grenoble et l'ENS de Lyon.

3.3.1 Propriétés d'absorption à un photon et de fluorescence

L'ensemble des spectres d'absorption et d'émission ont été réalisés dans l'acétonitrile à 25 °C. Les maxima d'émission et d'absorption, les coefficients d'extinction molaire ϵ ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), les rendements quantiques Φ_F et les déplacements de Stokes $\Delta\lambda$ pour chaque produit final sont présentés dans le TABLEAU 3.2.

TABLEAU 3.2 – Propriétés photophysiques à un photon



Type	N°	π_1	π_2	λ_{abs} en nm	λ_{em} en nm	$\Delta\lambda$ en nm	ϵ en $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$	Φ_{F}
I	35	—≡—		367	594	227	40746	0.06 ^[a]
	36			351	389	38	19361	0.06 ^[b]
II	39	—≡—	—≡—	375	434	59	18870	0.04 ^[b]
A-π-A	42	—≡—	—≡—	347	389	42	16163	0.06 ^[c]

[a] $\pm 10\%$, référence utilisée : harmane dans H_2SO_4 0.1 M ($\Phi_{\text{F}} = 0.58$) excitation à 360 nm

[b] $\pm 10\%$, référence utilisée : harmane dans H_2SO_4 0.1 M ($\Phi_{\text{F}} = 0.58$) excitation à 300 nm

[c] $\pm 10\%$, référence utilisée : harmaline dans H_2SO_4 0.005 M ($\Phi_{\text{F}} = 0.36$) excitation à 320 nm

Tous les composés étudiés absorbent dans la région de l’ultraviolet (347–375 nm) et émettent dans la région du violet au jaune.

On constate que les composés **35** et **36** possèdent des rendements quantiques identiques (0.06) mais la présence du triazole (**36**) entraîne un faible déplacement de Stokes (38 nm) et un faible ϵ ($< 20000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Le lien acétylénique engendre, quant à lui, un grand déplacement des longueurs d’onde d’émission vers le jaune (594 nm) ainsi qu’une forte augmentation du coefficient d’extinction molaire ($40746 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

Les composés **A- π -D** et **A- π -A** de type II possédant deux liens acétyléniques, révèlent des propriétés photophysiques similaires au composé **36** c’est-à-dire un faible déplacement de Stokes et un coefficient d’extinction molaire $< 20000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

3.3.2 Propriétés d’absorption à deux photons

Les mesures des sections efficaces d’absorption à deux photons (δ_{ADP}) ont été réalisées en utilisant la méthode de fluorescence par excitation à deux photons. Pour la zone d’excitation entre 690 et 940 nm, nous avons utilisé un laser Ti:saphir à impulsion femtoseconde.

L'intensité du faisceau incident a été réglée de façon à avoir une dépendance quadratique de l'intensité de fluorescence dans la zone mesurée. Les longueurs d'onde maximales d'absorption à deux photons et les sections efficaces des composés **35**, **36**, **39** et **42** sont présentées dans le TABLEAU 3.3.

TABLEAU 3.3 – Propriétés photophysiques à deux photons

N°	Type I		Type II	A- π -A
	35	36	39	42
$\lambda_{\text{ADP}}^{[a]}$ (en nm)	750	740	750	700
$\delta_{\text{ADP}}^{[b]}$ (en GM)	467	51	134	504

[a] longueur d'onde du maximum de la section efficace

[b] section efficace (1 GM = 10^{-50} cm⁴.s.photon⁻¹)

Tous les composés hydrosolubles absorbent dans le rouge et le proche infrarouge. Les meilleures sections efficaces obtenues correspondent aux composés **35** et **39** avec une valeur de 467 et 134 GM à 750 nm.

On remarque que la présence du triazole sur les composés de type I entraîne une chute importante de la valeur de la section efficace (467 GM pour **35** à 51 GM pour **36**) alors que la longueur d'onde varie de 10 nm. De même, la présence du lien acétylénique entre le groupement électro-donneur et le fluorène, entraîne une diminution la valeur de la section efficace (467 GM pour **35** à 134 GM pour **39**).

Par ailleurs, pour le composé de type A- π -A, bien que la valeur de la section efficace soit très importante, nous ne pouvons conclure correctement sur les résultats obtenus. En effet, à la vue du diagramme des sections efficaces en fonction des longueurs d'onde, la courbe correspondant au composé **42** ne semble pas complète (FIGURE 3.6).

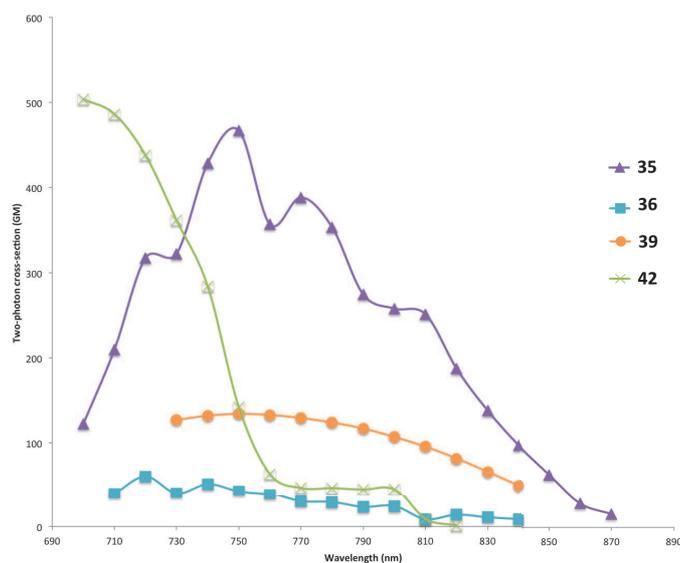


FIGURE 3.6 – Sections efficaces des composés hydrosolubles

3.3.3 Test bi-photonique

À la suite des résultats obtenus, le composé **35** a été testé en imagerie bi-photonique par C. Perrio au laboratoire Cyceron de Caen.

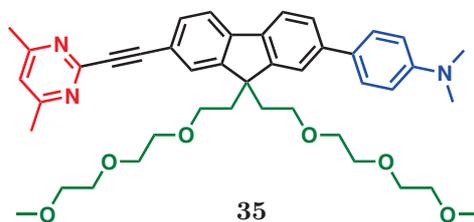


SCHÉMA 3.12 – Test bi-photonique

Plusieurs essais ont été réalisés dans différentes solutions : DMSO, sérum physiologique et eau. Ces premiers essais ont montré la forte présence d'agrégats provoquant la formation de point de fluorescence. Dans ces conditions, l'injection chez l'animal n'est alors pas envisageable.

3.4 Conclusion

Dans cette seconde partie, une nouvelle série de dérivés diaziniques **A- π -D** comportant la pyrimidine comme groupement électro-attracteur, le fluorène comme lien π -conjugué et

le 4-(diméthylamino)phényle comme groupement électro-donneur a été synthétisée avec succès.

Une étude des propriétés photophysiques a été réalisée sur l'ensemble des chromophores de type $A-\pi-D$ et $A-\pi-A$. La plupart des chromophores possèdent des propriétés photophysiques similaires : un déplacement de Stokes compris entre 40 et 60 nm, un coefficient d'extinction molaire allant jusqu'à $40000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ et un rendement quantique de fluorescence de l'ordre de 4-6%. Cependant, le chromophore **35** se démarque par un important déplacement de Stokes (227 nm) et un grand ϵ ($40746 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Par ailleurs, des premiers essais d'imagerie bi-photonique sur le composé **35** ont montré la présence d'agrégats. De nouveaux essais en imagerie bi-photonique sont alors à prévoir afin de rendre notre sonde injectable chez l'animal.

Chapitre 4

Insertion du fluor

La dernière partie de ce travail a consisté à étudier l'insertion du fluor-19 dans nos structures. Celui-ci pourra être échangé par du fluor-18 radiomarqué selon les travaux développés par Li sur des molécules de type BODIPY (SCHÉMA 4.1).¹⁷⁶

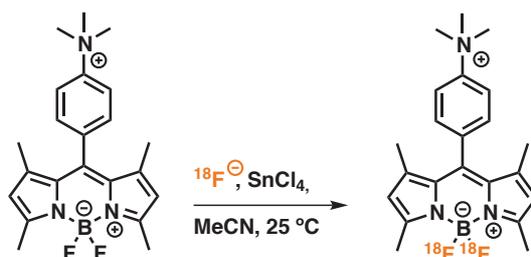


SCHÉMA 4.1 – Projet d'échange ¹⁹F-¹⁸F

Pour cela, nous avons envisagé de complexer le groupement -BF₂ entre un azote d'une diazine et un hétéroélément (O ou N).

4.1 Via une diazine

Matsui a développé en 2013 des « mimes de BODIPY » faisant intervenir des diazines (pyrazine et pyrimidine) pour former des complexes borés -BR₂. Quelques exemples sont représentés dans la figure ci-dessous avec leurs propriétés photophysiques (FIGURE 4.1).^{177,178}

176. Liu, S. ; Lin, T.-P. ; Li, D. *et al.* *Theranostics* **2013**, *3*, 181–189.

177. Kubota, Y. ; Hara, H. ; Tanaka, S. ; Funabiki, K. ; Matsui, M. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6544–6547.

178. Kubota, Y. ; Ozaki, Y. ; Funabiki, K. ; Matsui, M. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 7058–7067.

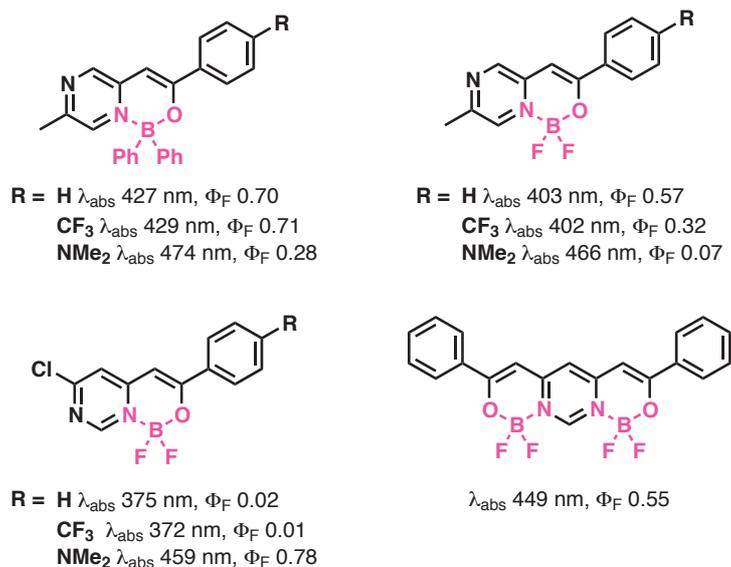


FIGURE 4.1 – Mimes de BODIPY dérivés des diazines

Notre projet a consisté en la synthèse d'un composé **A**- π -**D** hydrosoluble avec le groupement électro-attracteur diazinique relié au fluorène par un lien π -conjugué (acétylène ou triazole). L'insertion du fluor pourra être réalisé *via* la complexation du $-\text{BF}_2$ entre un azote de la diazine et un hétéroatome ($\text{X} = \text{O}$ ou N) (SCHÉMA 4.2).

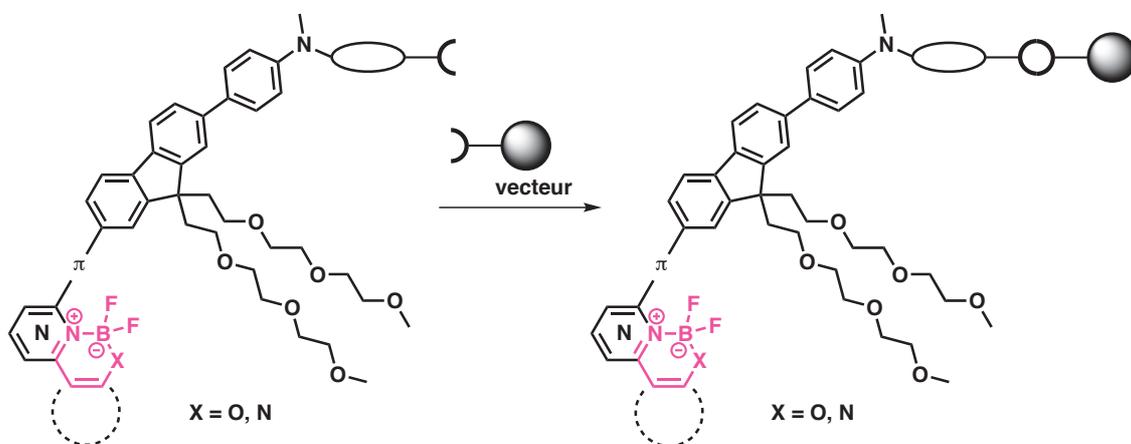


SCHÉMA 4.2 – Projet d'insertion du fluor

Dans un premiers temps, nous avons choisi de synthétiser des « mimes de BODIPY » incorporant l'oxygène comme autre hétéroatome. Le nouveau composé **43** comportant la pyrimidine et la fonction phénol a été synthétisé suivant les travaux des groupes de Anderson et Handy concernant la régiosélectivité du couplage de Suzuki sur la pyrimidine.¹⁷⁹

179. Anderson, S.; Handy, S. *Synthesis* **2010**, 2010, 2721–2724.

Le composé **43** est obtenu avec un rendement de 94% après 2 h de réaction à 55 °C (SCHÉMA 4.3).

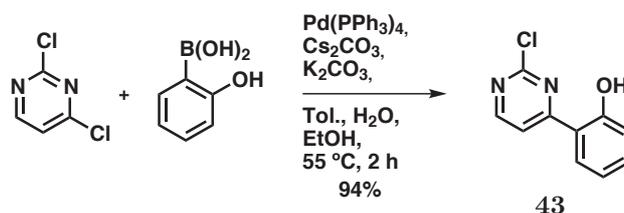


SCHÉMA 4.3 – Synthèse du 2-(2-chloropyrimidin-4-yl)phénol

Le second couplage de Suzuki a été effectué sur le composé **43** et le composé désiré **44** est isolé avec un rendement de 74% après purification par colonne de chromatographie sur gel de silice (SCHÉMA 4.4).

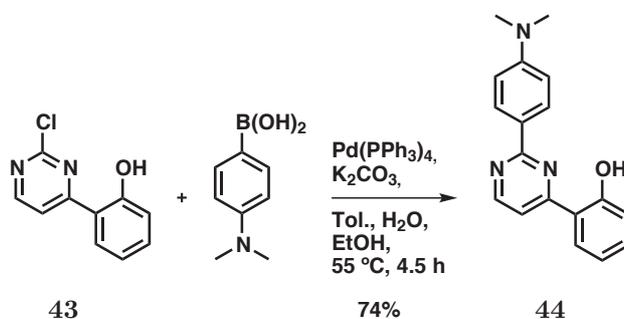


SCHÉMA 4.4 – Synthèse du 2-(2-(4-(diméthylamino)phényl)pyrimidin-4-yl)phénol

Un premier essai d'insertion du groupement $-\text{BF}_2$ a été réalisé sur le composé **43** afin d'obtenir le « mime de BODIPY » **45**. Dans ses conditions, seul le produit de départ est obtenu après 14 h de réaction (SCHÉMA 4.5).



SCHÉMA 4.5 – Test d'insertion du groupement $-\text{BF}_2$ sur le 2-(2-chloropyrimidin-4-yl)phénol

Plusieurs essais ont ensuite été effectués sur le composé **44** (SCHÉMA 4.6).

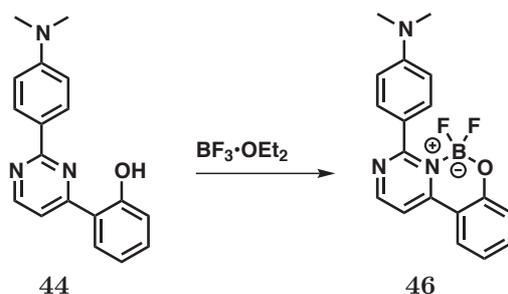


SCHÉMA 4.6 – Test d’insertion du groupement $-\text{BF}_2$ sur le 2-(2-(4-(diméthylamino)phényl)pyrimidin-4-yl)phénol

Les différentes conditions utilisées, telles que la quantité molaire de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, la base, le solvant, la température et la durée de réaction, sont regroupées dans le tableau suivant (TABLEAU 4.1). L’ensemble des essais a été effectué en tube scellé et l’ajout de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ a été réalisé à -78°C .

TABLEAU 4.1 – Conditions d’insertion du groupement $-\text{BF}_2$

N°	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	Base	Solvant	Conditions
1	40 éq.	NEt_3 30 éq.	–	80°C , 24 h
2	40 éq.	NEt_3 30 éq.	CH_2Cl_2	80°C , 5 j
3	40 éq.	DIPA 30 éq.	CH_2Cl_2	80°C , 20 h
4	40 éq.	DIPA 30 éq.	Toluène	80°C , 17 h
5	3 éq.	NaOH 1 éq.	DMF	80°C , 20 h

Comme décrit le plus souvent dans la littérature, nous avons introduit $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en excès, et nous avons fait varier la nature de la base utilisée (NEt_3 , DIPA, NaOH). Différents solvants ont été utilisés afin d’homogénéiser le milieu réactionnel. Dans aucun des cas, le composé **46** a pu être obtenu, seul le produit de départ est récupéré et aucun signal n’a pu être révélé en RMN du bore et du fluor.

Afin de contrôler la réactivité du lot de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en notre possession, nous l’avons testé sur une molécule publiée par le groupe de Piers et Heyne (SCHÉMA 4.7).^{64,180}

180. Clavier, S.; Rist, Ø.; Hansen, S. *et al. Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4248–4253.

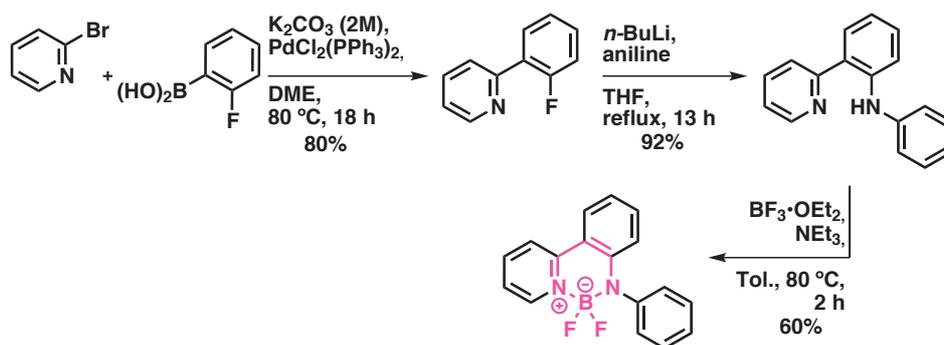


SCHÉMA 4.7 – Test du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$

De la même façon que l'équipe de Piers et Heyne, nous avons obtenu le produit boré ce qui a confirmé la qualité du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ utilisé.

4.2 Via un triazole

En parallèle, une étude a consisté en la synthèse de « mimes de BODIPY » avec la complexation du groupement $-\text{BF}_2$ effectuée entre un hétéroatome ($\text{X} = \text{O}$ ou N) et l'azote en position 3 du triazole (SCHÉMA 4.8).

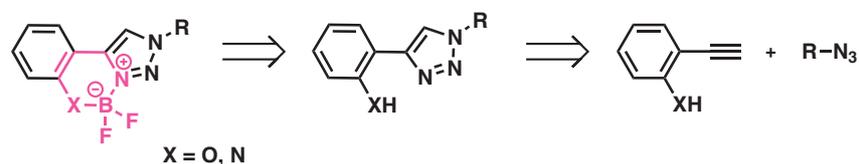


SCHÉMA 4.8 – Projet de synthèse de nouveaux mimes de BODIPY

En effet, à notre connaissance, aucune publication ne traite de la chélation entre un triazole et le groupement $-\text{BF}_2$. De plus, avec la possibilité d'introduire un azoture sur le fluorène^{166,181,182} nous pourrions facilement avoir accès au produit de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur nos chromophores hydrosolubles (SCHÉMA 4.9).

181. Coady, D. J. ; Khramov, D. M. ; Norris, B. C. ; Tennyson, A. G. ; Bielawski, C. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5187–5190.

182. Karim, M. A. ; Song, M. ; Park, J. S. *et al. Dyes and Pigments* **2010**, *86*, 259–265.

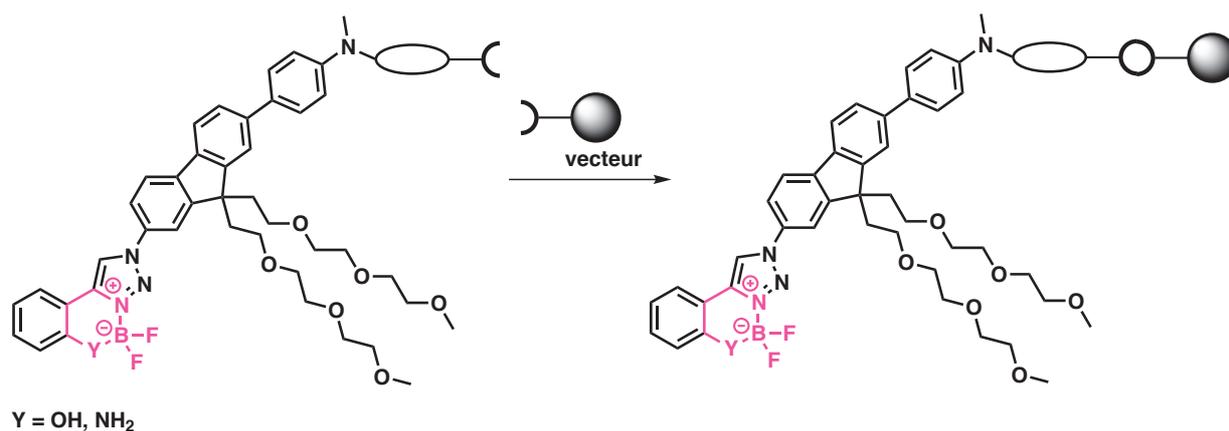


SCHÉMA 4.9 – Projet de synthèse de nouvelles sondes de type BODIPY

4.2.1 Version phénol

L'étude a été réalisée sur une petite molécule, le 2-éthynylphénol suivant le schéma rétrosynthétique précédent (SCHÉMA 4.8). Nous nous sommes basés sur les travaux de Tron¹⁸³ pour la synthèse du 2-éthynylphénol **48** et des réactions CuAAC.

Le précurseur acétylénique **48** est obtenu avec un rendement de 86% après purification par colonne de chromatographie sur gel de silice, à partir du 2-iodophénol commercial *via* un couplage classique de Sonogashira suivi d'une déprotection au TBAF de la fonction silyle (SCHÉMA 4.10).

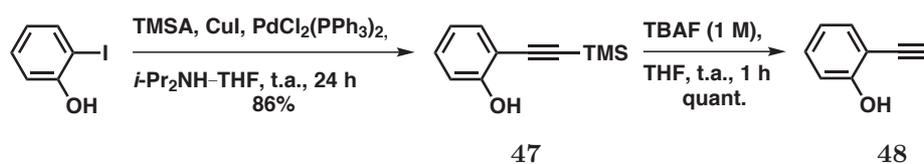


SCHÉMA 4.10 – Synthèse du 2-éthynylphénol **48**

Le premier essai de cycloaddition de Huisgen sur l'azoture pyrimidique **22** a été réalisé en présence de CuSO₄·5H₂O/Asc. Na. Sous ces conditions opératoires, le cycloadduit **49** souhaité n'est pas obtenu. Nous récupérons à la place du benzofurane et le 2-éthynylphénol de départ en proportion 65:35 (SCHÉMA 4.11).

183. Pirali, T.; Gatti, S.; Di Brisco, R. *et al. ChemMedChem* **2007**, *2*, 437–440.

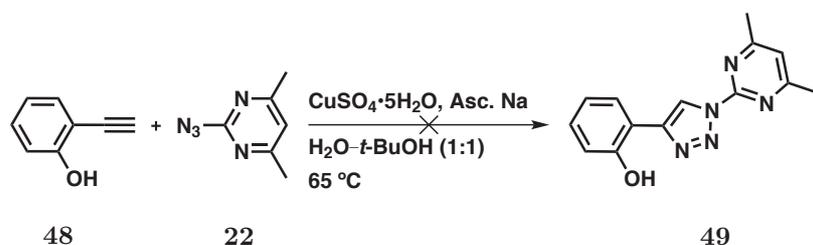


SCHÉMA 4.11 – Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynylphénol

Des résultats similaires ont déjà été constatés au sein de notre laboratoire à partir d'une étude sur l'hydratation des alcynes vrais.^{147,184}

4.2.2 Version *o*-silylée

Afin d'éviter la formation de benzofurane, nous avons décidé de protéger l'alcool en groupement *o*-silylé en utilisant le TBDMSCl. Pour cela nous avons dû synthétiser le réactif de départ nécessaire à la cycloaddition en utilisant la méthode de Farinola et de Tron.^{183,185} Le composé doublement protégé **51** est obtenu avec un rendement global de 97% (SCHÉMA 4.12).

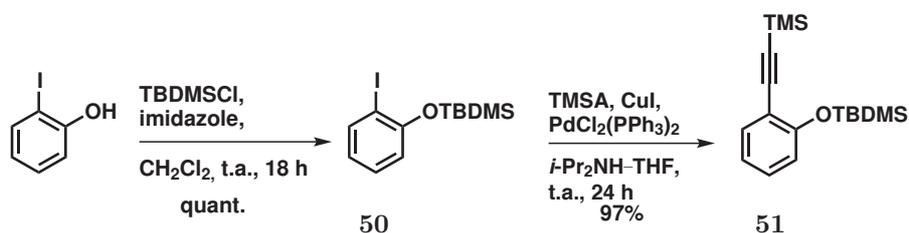


SCHÉMA 4.12 – Synthèse du composé protégé **51**

Nous avons ensuite voulu déprotéger sélectivement le groupement triméthylsilyle afin d'être en mesure de réaliser la réaction de CuAAC. Pour cela différentes conditions ont été utilisées mais aucune nous a permis d'obtenir le composé **52**. En effet, malgré les conditions douces employées, nous récupérons principalement le composé **48** complètement déprotégé ou le produit de départ (TABLEAU 4.2). Seul l'utilisation de KOH (0.5 M) dans le méthanol permet l'obtention du composé monodéprotégé **52** avec un rendement de 14%. Ce rendement peut s'expliquer du fait que ces composés sont volatils et qu'il est

184. Hedouin, J. Étude de réactions de dérivés acétyléniques catalysées par le cuivre sous activation micro-ondes., mém.de mast., Université de Rouen, **2014**.

185. Babudri, F. ; Cardone, A. ; De Cola, L. *et al.* *Synthesis* **2008**, 2008, 1580–1588.

particulièrement difficile de récupérer la totalité du produit après purification sur colonne de chromatographie.

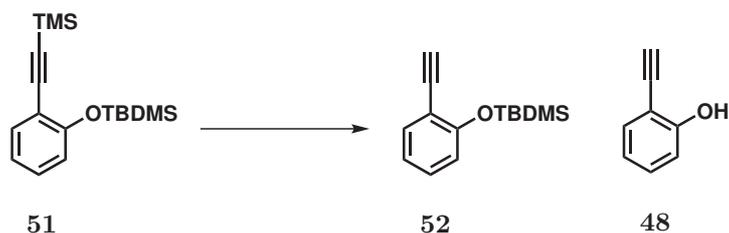


TABLEAU 4.2 – Étude de déprotection sélective du TMS

N°	Conditions	Temps	Produits
1	MeOH	24 h	51
2	K ₂ CO ₃ (0.5 M) / MeOH	24 h	52 + 48
3	KOH (0.2 M) / MeOH	24 h	51 maj + 52 et 48
4	KOH (0.5 M) / MeOH	1 h	52 (14%)
5	NaOH (0.5 M) / MeOH	1 h	48

4.2.3 Version méthoxy

Dans un second temps, des essais ont été effectués avec le groupement méthoxy à partir du 2-éthynylanisole commercial.

Nous avons ensuite réalisé différents essais de cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen en faisant varier le groupement **R** en position 1 du triazole (SCHÉMA 4.13).

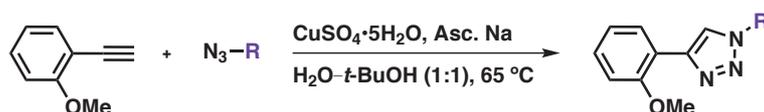
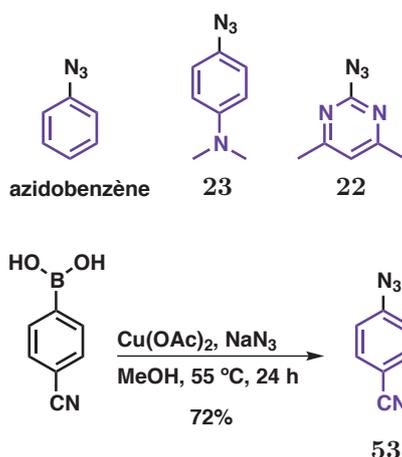


SCHÉMA 4.13 – Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynylanisole

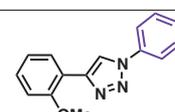
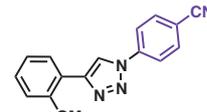
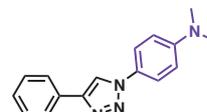
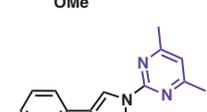
Les azotures utilisés sont l'azidobenzène commercial, le 4-azido-*N,N*-diméthylaniline **23**, le 2-azido-4,6-diméthylpyrimidine **22** et le 4-azidobenzonitrile **53** dont la synthèse¹⁶⁹ est présentée dans le schéma suivant.



SCHEMA 4.14 – Azotures utilisés

Les différentes conditions utilisées, telles que la nature de l'azoture et la durée de réaction, sont regroupées dans le tableau suivant (TABLEAU 4.3). Le taux de conversion indiqué entre parenthèses est déterminé à partir des spectres RMN du brut réactionnel obtenu après traitement ; les rendements sont quant à eux, obtenus après purification par chromatographie sur gel de silice.

TABLEAU 4.3 – Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynylanisole

N°	Azoture	Temps	Rendement (Conversion)	Produit
1	azidobenzène	24 h	86% (100%)	 54
2	53	15 h	85% (89%)	 55
3	23	18 h	81% (83%)	 56
4	22	3 j	56% (57%)	 57

Pour l'ensemble de ces essais, la cycloaddition est réalisée en présence de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /Asc. Na et les produits désirés sont obtenus avec de bons rendements (56–89%). Cependant, la durée de réaction en présence de l'azoture pyrimidique **22** est

plus importante par comparaison avec les autres azotures testés. Cela peut s'expliquer par la présence de l'équilibre entre les formes azoture **22a** et tétrazole **22b** qui est fortement déplacé vers la forme tétrazole **22b** (SCHÉMA 2.16).

Afin de réaliser l'insertion du groupement $-BF_2$, nous avons cherché à déprotéger le groupement méthoxy du composé **54**. Différents essais ont été réalisés : le premier suivant la méthode de G. A. Cain¹⁸⁶ en présence de TMSCl et de NaI *via* la formation *in situ* de TMSI, le second en utilisant directement du TMSI d'après les travaux de M. E. Jung¹⁸⁷ et le dernier essai provenant des travaux de F. Buron¹⁸⁸ qui utilise un sel de pyridinium à très haute température. Aucune de ces conditions nous ont permis de récupérer le produit déprotégé **58**. Seul le réactif de départ **54** est récupéré intégralement.

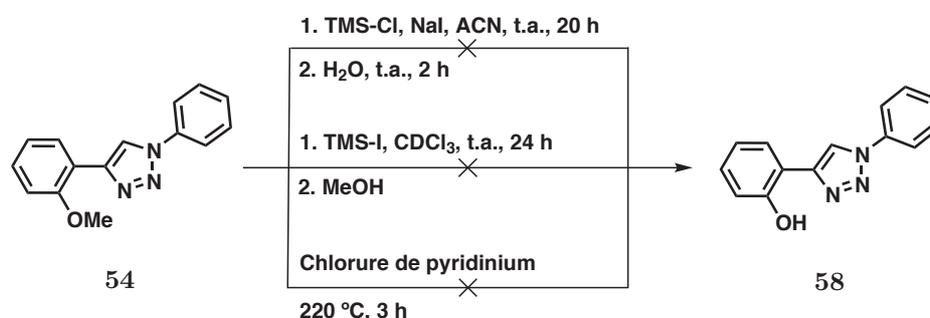


SCHÉMA 4.15 – Essais de déprotection du groupement méthoxy

Par contre les conditions décrites par Anh ont permis de déprotéger le groupement méthoxy en présence de 1-dodécane-thiol et de NaOH dans la NMP.¹⁸⁹ Nous avons alors obtenu le composé **58** avec un rendement de 61% après purification (SCHÉMA 4.16).

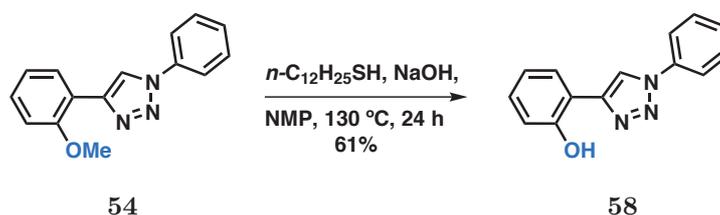


SCHÉMA 4.16 – Déprotection du groupement méthoxy

186. Cain, G. A.; Holler, E. R. *Chem. Commun.* **2001**, 1168–1169.

187. Jung, M. E.; Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3761–3764.

188. Buron, F.; Plé, N.; Turck, A.; Quéguiner, G. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2616–2621.

189. Santra, M.; Moon, H.; Park, M.-H. *et al. Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 9886–9893.

4.2.4 Insertion du $-\text{BF}_2$ en version phénol

Un essai d'insertion du groupement $-\text{BF}_2$ a pu être réalisé sur le composé **58** en présence d'un large excès de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ et de NEt_3 (SCHÉMA 4.17). Cependant, le produit désiré n'a pas été obtenu, seul le produit de départ a été récupéré.

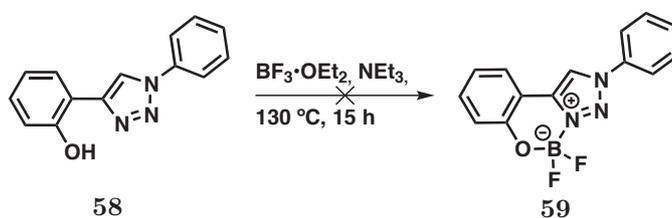


SCHÉMA 4.17 – Insertion du groupement $-\text{BF}_2$ sur **58**

4.2.5 Version amine

En parallèle, nous avons étudié la possibilité de chélater le bore avec un triazole et une amine. Nous proposons donc le schéma rétrosynthétique suivant à partir de la 2-éthynyl-*N*-phénylaniline (SCHÉMA 4.18).

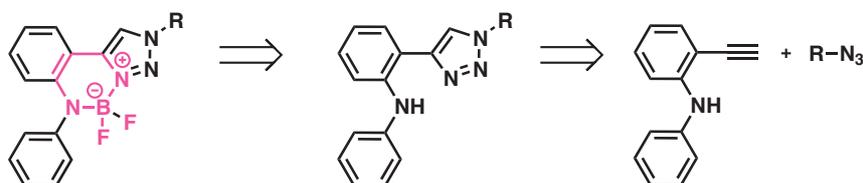


SCHÉMA 4.18 – Projet d'insertion du fluor sur les dérivés de la phénylaniline

Nous avons dans un premier temps réalisé la synthèse du composé **61** en partant de la 2-iodoaniline commerciale. La première étape consiste en une *N*-arylation d'amine avec un triflate *o*-silylarylé en présence de CsF suivant les travaux de R. C. Larock.^{190,191} Nous obtenons alors la 2-iodo-*N*-phénylaniline **60** avec un rendement de 84%. La seconde étape consiste en un couplage de Sonogashira suivi d'une déprotection au TBAF.¹⁹² La 2-éthynyl-*N*-phénylaniline **61** est ainsi obtenue avec un rendement de 92% après purification par colonne de chromatographie sur gel de silice (SCHÉMA 4.19).

190. Liu, Z.; Larock, R. C. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4673–4675.

191. Liu, Z.; Larock, R. C. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3198–3209.

192. Yoo, E. J.; Chang, S. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1163–1166.

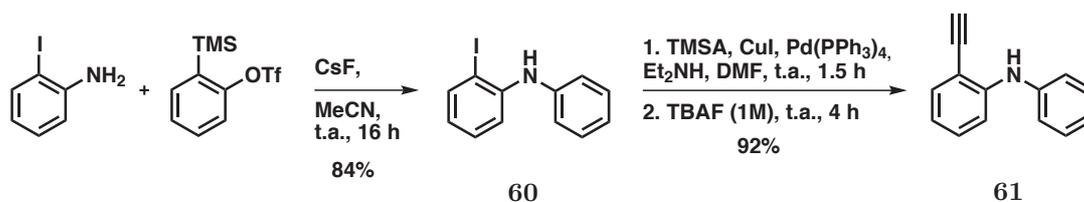


SCHÉMA 4.19 – Synthèse de la 2-éthynyl-*N*-phénylaniline **61**

Une fois le composé **61** préparé, nous avons pu réaliser les cycloadditions 1,3-dipolaires de Huisgen en utilisant les azotures **azidobenzène**, **53**, **23** et **22** précédemment cités (SCHÉMA 4.14).

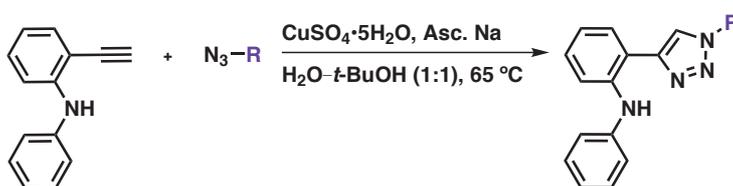
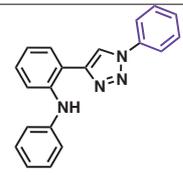
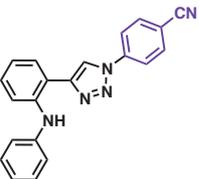
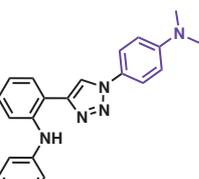
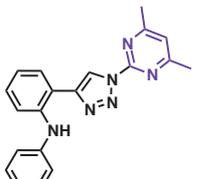


SCHÉMA 4.20 – Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynyl-*N*-phénylaniline **61**

Les différentes conditions utilisées, telles que la nature de l'azoture et la durée de réaction, sont regroupées dans le tableau suivant (TABLEAU 4.4). Le taux de conversion indiqué entre parenthèses est déterminé à partir des spectres RMN du brut réactionnel obtenu après traitement ; les rendements sont quant à eux obtenus après purification par chromatographie sur gel de silice.

TABLEAU 4.4 – Cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen sur le 2-éthynyl-*N*-phénylaniline **61**

N°	Azoture	Temps	Rendement (Conversion)	Produit
1	azidobenzène	36 h	68% (100%)	 62
2	53	24 h	62% (100%)	 63
3	23	20 h	87% (100%)	 64
4	22	3 j	34% (40%)	 65

Pour l'ensemble de ces essais, la cycloaddition est réalisée en présence de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}/\text{Asc. Na}$ et les produits désirés sont obtenus avec des rendements corrects à bons (34–87%). Dans ce cas, la réaction de CuAAC est relativement longue ce qui peut s'expliquer par la nature de l'azoture **22** (azoture pyrimidique) comme précédemment observé en présence du 2-éthynylphénol.

4.2.6 Insertion du $-\text{BF}_2$ en version amine

Une fois les cycloadduits préparés, nous avons testé la synthèse de « mimes de BODIPY ». Pour cela, nous sommes partis de plusieurs conditions connues.^{64,193,194}

193. Kim, S.-H.; Gwon, S.-Y.; Burkinshaw, S. M.; Son, Y.-A. *Dyes and Pigments* **2010**, *87*, 268–271.

194. Ren, Y.; Liu, X.; Gao, W. *et al. Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *2007*, 1808–1814.

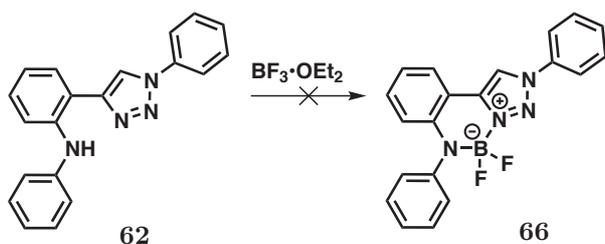


SCHÉMA 4.21 – Insertion du $-BF_2$

Nous avons fait varier divers paramètres, telles que la quantité molaire de $BF_3 \cdot OEt_2$, la base, le solvant, la température et la durée de réaction. L'ensemble des différents essais a été regroupé dans le tableau suivant (TABLEAU 4.5). Toutes ces réactions ont été effectuées en tube scellé.

TABLEAU 4.5 – Conditions d'insertion du groupement $-BF_2$

N°	$BF_3 \cdot OEt_2$	Base	Solvant	Conditions
1	16 éq.	NEt_3	CH_2Cl_2	25 ° C, 24 h
2	5 éq.	NEt_3 3 éq.	Toluène	80 ° C, 4 h
3	16 éq.	NEt_3	CH_2Cl_2	60 ° C, 24 h
4 ^[a]	5 éq.	NEt_3 3 éq.	Toluène	80 ° C, 16 h
5 ^[a]	40 éq.	NEt_3 30 éq.	–	80 ° C, 16 h
6 ^[a]	2.5 éq.	<i>N</i> -BuLi 1 éq.	Toluène	80 ° C, 17 h

[a] ajout de $BF_3 \cdot OEt_2$ à -78 ° C

Aucune de ces conditions nous a permis d'obtenir le « mime de BODIPY » désiré, malgré les changements de solvant (CH_2Cl_2 , toluène, ou sans solvant) et de température. Seul le composé de départ a été récupéré.

Nous avons tenté l'insertion du groupement $-BF_2$ *via* une transmétallation lithium–bore (essai 6), mais le produit désiré n'a pu être obtenu. De plus, aucun signal n'est visible en RMN du bore et du fluor.

4.3 Conclusion

Dans cette dernière partie, la synthèse de nouvelles séries de « mimes de BODIPY » a été envisagée pour effectuer des tests d'insertion du fluor. Pour cela, nous avons réalisé deux études sur des molécules comportant soit un motif pyrimidique, soit un motif triazole. Une fonction phénol ou amine a également été introduite sur ces molécules.

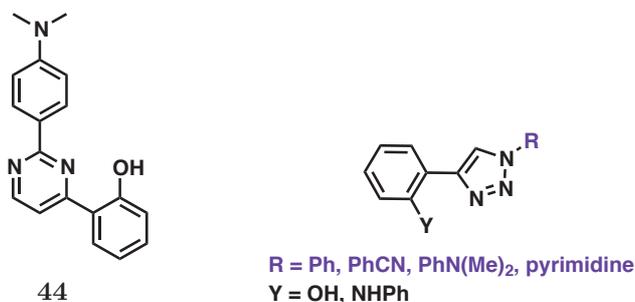


SCHÉMA 4.22 – Structures des molécules obtenues

Des tests d'insertion du groupement $-BF_2$ sur ces deux types de structures ont été effectués. Dans les différentes conditions employées, la formation du produit complexé n'a pu être obtenu.

Troisième partie

Conclusion générale et perspectives

Chapitre 5

Conclusion générale et perspectives

5.1 Conclusion

L'objectif de cette thèse consistait en la synthèse d'une sonde bimodale ADP-TEP. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés, à la partie ADP *via* la synthèse du fluorophore de type **A**- π -**D**.

Ces chromophores sont composés d'un groupement électro-attracteur diazinique (pyrimidine ou pyridazine), d'un groupement électro-donneur 4-(diméthylamino)phényle et d'un lien π -conjugué.

Afin d'étendre l'élongation de la conjugaison, des liens acétyléniques et/ou triazoles ont été insérés de part et d'autre du fluorène. Ces fluorophores ont été synthétisés en seulement 3 ou 4 étapes à partir du fluorène bromé-iodé **3** et isolés avec des rendements compris entre 10 et 38%.

On obtient ainsi quatre familles de composés **A**- π -**D**. Les fluorophores obtenus au cours de cette thèse sont représentées ci-dessous.

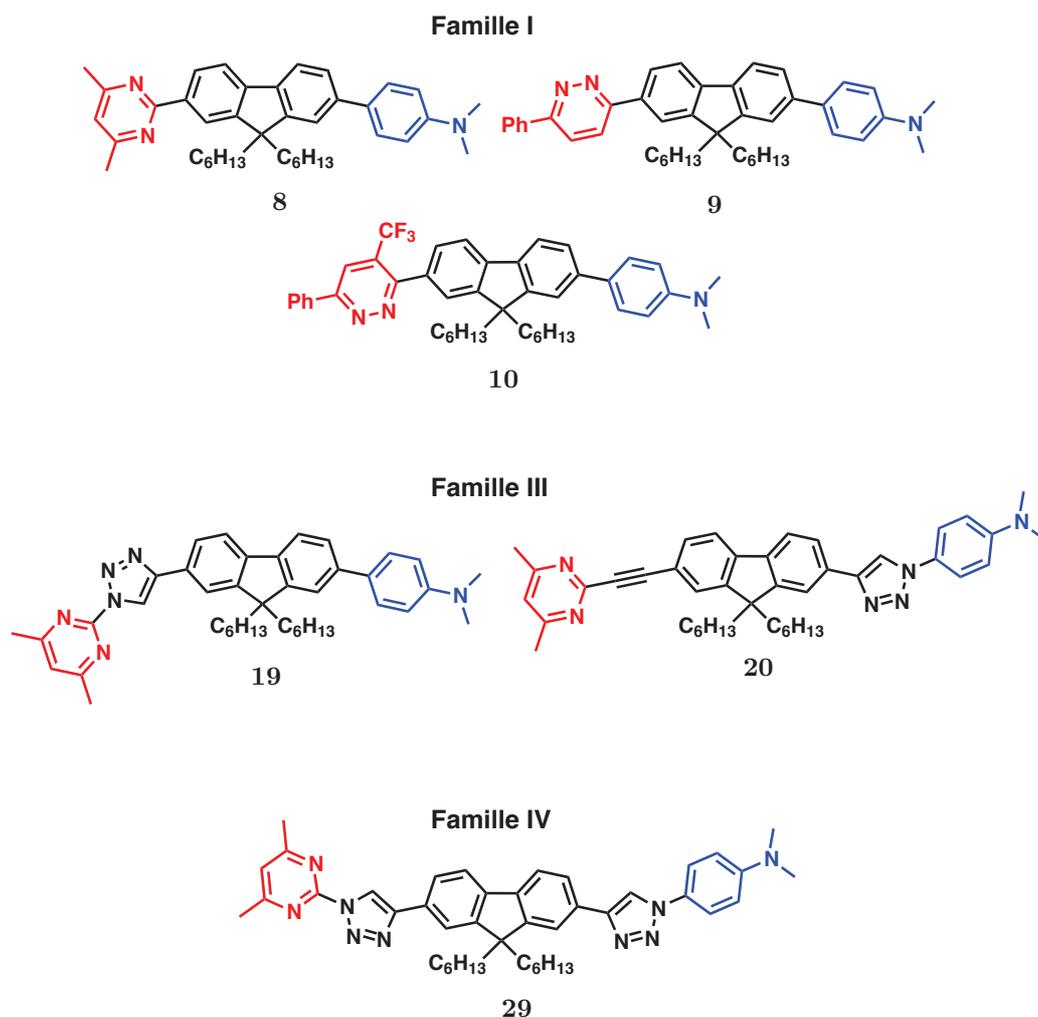


SCHÉMA 5.1 – Chromophores **A**- π -**D** des familles I, III, IV

Une étude relation structure-propriétés photophysiques a été réalisée sur l'ensemble des fluorophores **A**- π -**D** et **A**- π -**A**. Ces structures possèdent des rendements quantiques allant jusqu'à 71%, de bons coefficients d'extinction molaire (ϵ) et des déplacements de Stokes compris entre 42 et 162 nm.

Les chromophores incorporant la pyrimidine comme groupement électro-attracteur possèdent de meilleures propriétés d'UV et de fluorescence en comparaison avec leur analogue pyridazinique.

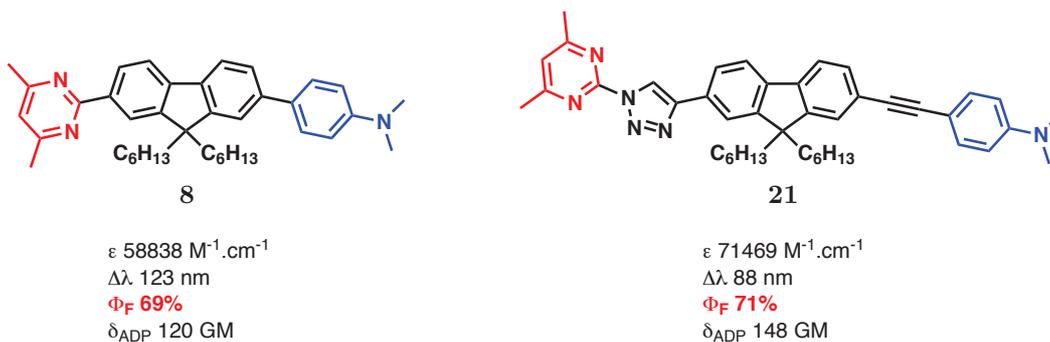


SCHÉMA 5.2 – Meilleurs fluorophores A- π -D

Les composés possédant la pyridazine comme groupement électro-attracteur présentent des rendements quantiques plus faibles que les fluorophores pyrimidiques mais permettent l'obtention de meilleures sections efficaces (263 et 367 GM à 700 et 740 nm).

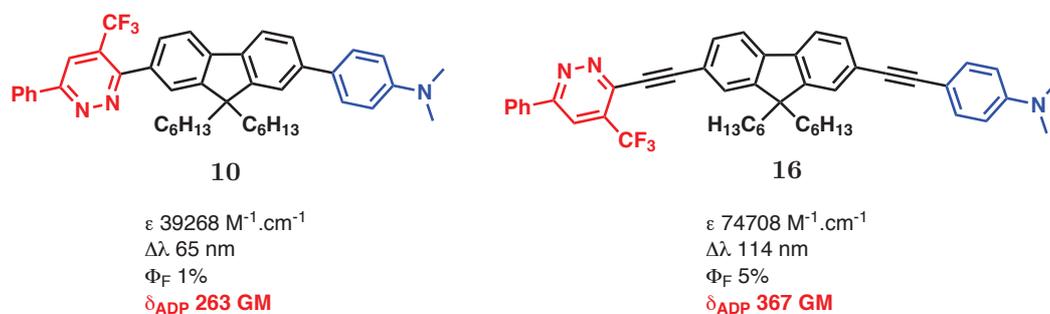


SCHÉMA 5.3 – Meilleurs chromophores A- π -D à deux photons

Dans un second temps, afin de rendre ces fluorophores hydrosolubles, nous avons inséré des chaînes polyéthylène glycols en position 9 du fluorène. D'après les résultats de fluorescence précédemment obtenus, des chromophores de type A- π -D incorporant la pyrimidine comme groupement électro-attracteur ont été synthétisés. La nature des liens π -conjugués de part et d'autre du fluorène a été modulée, permettant ainsi l'obtention des trois chromophores suivant.

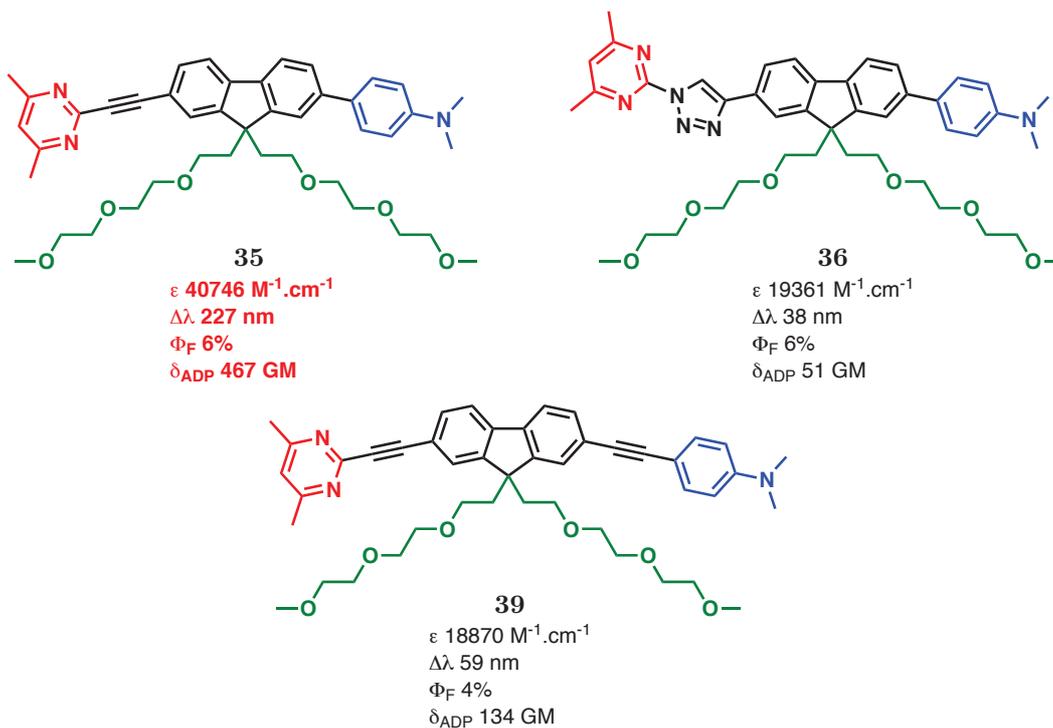


SCHÉMA 5.4 – Chromophores hydrosolubles A- π -D

Une étude des propriétés photophysiques à un et deux photons a été effectuée. Les composés possèdent des déplacements de Stokes allant jusqu'à 227 nm et des coefficients d'extinction molaire compris entre 18870 et 40746 L.mol⁻¹.cm⁻¹. Le composé **35** offre des résultats importants en termes de déplacement de Stokes (227 nm), de coefficient d'extinction molaire (40746 L.mol⁻¹.cm⁻¹) et de rendement quantique de fluorescence (6%). De plus, il possède la plus grande section efficace obtenue (467 GM).

Ce chromophore a été testé en imagerie bi-photonique, où la présence d'agrégats s'est révélée importante. De nouveaux essais seront par la suite reconduits.

Dans un dernier temps, une étude sur l'insertion du -BF₂ a été effectuée dans le but d'introduire le fluor-18 pour une application en tomographie par émission de positons.

Nous nous sommes intéressés à la synthèse de « mimes de BODIPY », qui est un site potentiel pour l'introduction du fluor radiomarqué. Pour cela, diverses combinaisons ont été synthétisées (motif pyrimidique ou triazole).

Une première étude s'est portée sur le composé possédant une pyrimidine. Différentes conditions ont été effectuées afin d'introduire le groupement -BF₂. Cependant, le complexe boré n'a pu être obtenu.

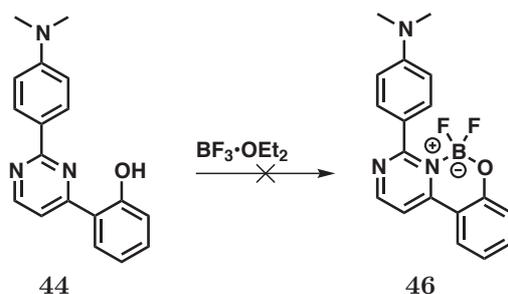


SCHÉMA 5.5 – Essai d'insertion du groupement $-BF_2$ sur le dérivé de la pyrimidine

En parallèle, une nouvelle famille de « mimes BODIPY » faisant intervenir un triazole a été envisagée. Pour cela, deux séries de composés provenant de la cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée au cuivre I ont été obtenues en version phénol et amine (SCHÉMA 5.6).

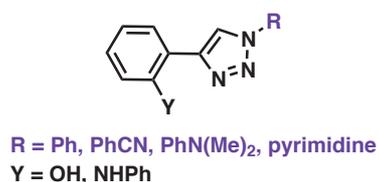


SCHÉMA 5.6 – « Mimes de BODIPY » synthétisés

Après de nombreux essais, le groupement $-BF_2$ n'a pu être introduit sur les différents cycloadduits.



SCHÉMA 5.7 – Essai d'insertion du groupement $-BF_2$

L'accès à ces nouveaux « mimes de BODIPY » semble très intéressant et feront l'objet de prochaines études.

5.2 Perspectives

Afin de palier les problèmes d'agrégation observés lors des premiers test en imagerie bi-photonique, de nouveaux groupements pourraient être introduits en position 9 du fluorène. Plusieurs voies sont envisageables : variation de la longueur des chaînes PEG^{97,159,172,195–198}, insertion de chaînes comportant des groupements anioniques (carboxylates, sulfonates) ou cationiques (ammonium).^{199,200}

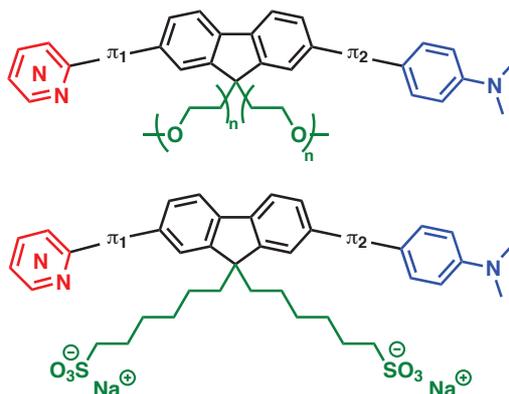


SCHÉMA 5.8 – Exemple de chromophores hydrosolubles A-π-D envisagés

Dans l'objectif d'élaborer rapidement une sonde ADP-TEP, nous envisageons de synthétiser une sonde bimodale dont les structures sont représentées ci-dessous (SCHÉMA 5.9).

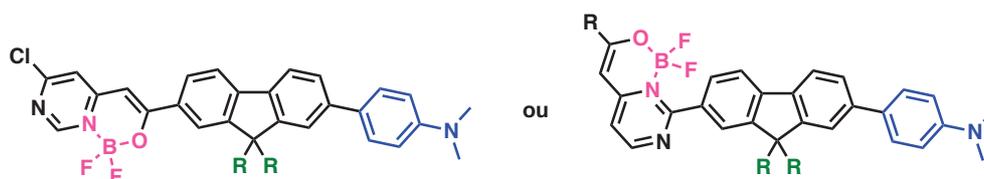


SCHÉMA 5.9 – Insertion du fluor sur la sonde bimodale

Cette stratégie repose sur les résultats précédemment obtenus pour l'insertion du -BF₂ et sur les travaux de Matsui.¹⁷⁸

195. Pei, Q.; Yang, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7416–7417.

196. Puntoriero, F.; Nastasi, F.; Campagna, S.; Bura, T.; Ziessel, R. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 8832–8845.

197. Das, S. K.; Lim, C. S.; Yang, S. Y.; Han, J. H.; Cho, B. R. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8395–8397.

198. Sax, S.; Rugen-Penkalla, N.; Neuhold, A. *et al. Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2087–2091.

199. Huang, Y.-Q.; Fan, Q.-L.; Lu, X.-M. *et al. J. Polym. Sci., Part A : Polym. Chem.* **2006**, *44*, 5778–5794.

200. Huang, F.; Wang, X.; Wang, D.; Yang, W.; Cao, Y. *Polymer* **2005**, *46*, 12010–12015.

Quatrième partie

Experimental part

Chapter 6

General remarks

All chemicals were purchased from commercial sources and used without further purification unless otherwise specified. Tetrahydrofuran (THF) was distilled from benzophenone sodium and used immediately. Toluene, dichloromethane (DCM), dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide (DMSO), diisopropylamine (DIPA) and triethylamine (NEt₃) were distilled on CaH₂.

Analytical thin layer chromatography were performed on silica gel plates (Merck[®] TLC Silica gel 60 F254) and compounds were detected by irradiation with UV light (254 and 365 nm).

Chromatographic purification of compounds was achieved with silica gel (mesh size 60-80 μm).

HRMS spectra (ESI+) were recorded on a LC Waters AC_quity coupled to a Waters LCT Premier XE instrument.

Elemental analyses were performed on a Carlo Erba 1106 apparatus. Measurement accuracy is around ± 0.4% on carbon.

Melting points (° C) were measured on a Kofler hot-stage with a precision of 2 degrees (± 2° C).

The ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker Advance spectrometer spectrometer operating at 300 MHz and 75 MHz, respectively. The chemical shifts δ are reported in parts per million (ppm) relative to the residual solvent peak (7.26 and 77.16 respectively for CDCl_3 , 0.00 for CFCl_3). Data appear in the following order: chemical shifts in ppm, number of protons, multiplicity (s, singlet; d, doublet; dd, doublet of doublet; t, triplet; m, multiplet), coupling constant J in Hz. In the ^{13}C NMR spectra, the nature of the carbons (C, CH, CH_2 or CH_3) was determined by recording the DEPT experiment and the HMQC experiment.

UV-Visible spectra were obtained on a Varian Can 50 scan spectrophotometer. Fluorescence spectroscopic studies were performed with a Varian Cary Eclipse spectrophotometer. Compounds were excited at their absorption maxima for recording the emission spectra; however different wavelengths were used to determine fluorescence quantum yields in cases where compounds and standards absorbed significantly. All solutions were measured with optical densities below 0.1.

The TPA cross-sections in the range 790–950 nm were obtained by up-conversion fluorescence using a mode locked Ti:sapphire femtosecond laser (Tsunami Spectra-Physics) with pulse duration 100 fs and at a repetition rate of 82 MHz. The measurements were done at room temperature in DCM and at concentration of ca. $5 \cdot 10^{-6} \text{ M} - 10^{-5} \text{ M}$. The excitation beam (5 mm diameter) is focused with a lens (focal length 10 cm) at the middle of the fluorescence cell (10 mm). The fluorescence, collected at 90° to the excitation beam, was focused into an optical fiber (diameter 600 μm) connected to an Ocean Optics S2000 spectrometer. The incident beam intensity was adjusted to 50 mW in order to ensure an intensity-squared dependence of the fluorescence over the whole range. The detector integration time was fixed to 1 s. Comparison of the spectra was performed with the published Fluorescein and Rhodamine B two-photon absorption spectra.

Chapter 7

Compounds with alkyl chains

2-Bromo-9*H*-fluorene **1**

Fluorene (5.00 g, 30.0 mmol, 1.0 eq.) was placed into a two neck round-bottom-flask and flushed with nitrogen. Propylene carbonate (40 mL) was added and the solution was heated to 60 ° C. *N*-Bromosuccinimide (5.35 g, 30.0 mmol, 1.0 eq.) was then added quickly in one portion during a slight nitrogen overpressure. The oil bath was turned off and the reaction mixture was stirred as it cooled slowly to r.t. over the course of 2 h. The cooled reaction was precipitated into water (\simeq 300 mL) which gave us a white solid. The solution was stirred overnight. The solid was filtered, dissolved in toluene (80 mL) and extracted with water (3×60 mL). The organic layer is then dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude as a pale yellow solid. Purification by recrystallization from a minimum amount of refluxing EtOH-water (6:1) gave the 2-bromo-9*H*-fluorene **1** (5.8 g, 79%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.77-7.74 (m, 1H), 7.68-7.67 (m, 1H), 7.64 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.52-7.48 (m, 1H), 7.39-7.36 (m, 1H), 7.35 (dd, $J = 1, 7$ Hz, 1H), 3.89 (t, $J = 8$ Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 145.4, 143.0, 140.8, 130.0, 128.4, 127.3, 127.1, 125.2, 121.3, 120.6, 120.1, 36.9.

2-Bromo-7-iodo-9*H*-fluorene **2**

2-Bromo-9*H*-fluorene **1** (5.80 g, 23.7 mmol, 1.0 eq.) was placed into a round-bottom-flask with iodine (2.50 g, 10.0 mmol, 0.42 eq.) and potassium iodate (1.20 g, 5.70 mmol, 0.24 eq.). Water (5 mL), glacial acetic acid (100 mL) and concentrated sulfuric acid (2.5 mL) were added and the flask was heated in a 90 ° C oil bath under Ar for 2 h. The

reaction was then cooled to r.t. at which point a pale orange precipitate formed. After the filtration, the precipitate was washed with acetic acid and water. The solid was dissolved in CH₂Cl₂ and the product precipitated in MeOH gave **2** (6.5 g, 74%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.87-7.86 (m, 1H), 7.71-7.67 (m, 1H), 7.66-7.64 (m, 1H), 7.59 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.51-7.47 (m, 1H), 7.47 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 3.86 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 145.1, 144.7, 140.4, 139.9, 136.1, 134.3, 130.3, 128.4, 121.7, 121.4, 121.2, 92.4, 36.6.

2-Bromo-9,9-dihexyl-7-iodo-9*H*-fluorene **3**

Method 1:

2-Bromo-7-iodo-9*H*-fluorene **2** (3.27 g, 8.80 mmol, 1.0 eq.) in DMSO (31 mL) and 0.4 g of tetra-butylammonium were introduced into a round-bottom-flask under Ar. 60% NaOH_{aq} (3.5 mL) was added dropwise to give a bright red solution. The solution was stirred vigorously as *n*-bromohexane (3.10 mL, 22.0 mmol, 2.5 eq.). After 24 h of stirring at r.t., the reaction was extracted with EtOAc (3 × 30 mL), and organic layers were washed with HCl_{aq} (50 mL). The organic layer was dried over MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give a viscous orange oil. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether (100%) as eluent gave 2-bromo-9,9-dihexyl-7-iodo-9*H*-fluorene **3** (5.98 g, 63%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.66 (dd, *J* = 1, 6 Hz, 1H), 7.65 (br s, 1H), 7.52 (dd, *J* = 2, 6 Hz, 1H), 7.45 (dd, *J* = 1, 6 Hz, 1H), 7.44 (br s, 1H), 7.42 (dd, *J* = 2, 6 Hz, 1H), 1.93-1.88 (m, 4H), 1.16-1.03 (m, 12H), 0.78 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H), 0.63-0.57 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 152.8, 152.6, 139.8, 139.2, 136.2, 132.2, 130.3, 126.3, 121.7, 121.6, 121.3, 93.1, 55.7, 40.3, 31.6, 29.7, 23.8, 22.7, 14.1 ppm.

Method 2:

NaH (440 mg, 18.0 mmol, 2.7 eq.) was introduced to a solution of **2** (2.50 g, 6.70 mmol, 1.0 eq.) in THF (25 mL) under Ar. The resulting mixture was stirred at r.t. for 30 min. *n*-Bromohexane (2.40 mL, 17.0 mmol, 2.5 eq.) was introduced dropwise and the mixture was stirred at r.t. overnight. Distilled water (15 mL) was added dropwise, and the organic products were extracted with CH₂Cl₂ (3 × 25 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give a brown

oil. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether (100%) as eluent gave compound **3** (3.4 g, 93%). Spectroscopic data consistent with those reported previously.

4-(7-Bromo-9,9-dihexyl-9H-fluoren-2-yl)-*N,N*-dimethylaniline 4

2-Bromo-9,9-dihexyl-7-iodo-9H-fluorene **3** (250 mg, 0.464 mmol, 1.0 eq.), 4-(dimethylamino)phenylboronic acid (77 mg, 0.464 mmol, 1.0 eq.), and [Pd(PPh₃)₄] (53 mg, 0.046 mmol, 0.1 eq.) were dissolved in a 2:1 (v/v) solution of toluene (8 mL) and aqueous Cs₂CO₃ (2 M solution, 4 mL). After degassing, the reaction mixture was heated to 90 ° C for 24 h and then cooled to r.t.. Distilled water (10 mL) was added, and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give a black solid residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–toluene (5:5) as eluent gave compound **4** (152 mg, 64%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.68 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.60-7.52 (m, 4H), 7.49-7.43 (m, 3H), 6.86 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.02 (s, 6H), 2.02-1.91 (m, 4H), 1.16-1.04 (m, 12H), 0.77 (t, *J* = 7 Hz, 6H), 0.69-0.63 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 153.3, 151.1, 140.7, 140.2, 130.0, 127.9, 126.1, 125.3, 121.0, 120.7, 120.0, 113.0, 55.5, 40.8, 40.5, 31.6, 29.8, 23.8, 22.7, 14.1 ppm. HRMS [TOF MS 2223 APCI+ (atmospheric pressure)]: calcd. for C₃₃H₄₃NBr [M + H]⁺ 532.2579; found 532.2586.

2-Iodo-4,6-dimethylpyrimidine 5

In a round bottom flask, hydrogen iodide (5.0 mL, 66.5 mmol, 4.7 eq.) was added dropwise to 2-chloro-4,6-dimethylpyrimidine (2.0 g, 14.0 mmol, 1.0 eq.). The resulting mixture was stirred at r.t. overnight. Then, neutralization was carried out with a saturated solution of K₂CO₃, then Na₂S₂O₃ was added to give after filtration the colorless product **5** (2.2 g, 67%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.0 (s, 1H), 2.43 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 164.0, 129.5, 119.8, 23.7 ppm.

3-Iodo-6-phenylpyridazine **6**

In a round bottom flask, hydrogen iodide (5.0 mL, 66.5 mmol, 4.7 eq.) was added dropwise to 3-chloro-6-phenylpyridazine (1.0 g, 5.30 mmol, 1.0 eq.). The resulting mixture was stirred at 150 °C for 1 h and then cooled to r.t.. Ice water (50 mL) was added, and the solution was neutralized by 20% HCl_{aq}. The organic products were extracted with CH₂Cl₂ (3 × 25 mL) and the combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give compound **6** (1.45 g, 98%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.06-8.03 (m, 2H), 7.92-7.89 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7.55-7.52 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.6, 137.6, 135.3, 130.7, 129.3, 127.1, 125.1, 123.7 ppm.

4-[7-(4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl]-*N,N*-dimethylaniline **8**

n-BuLi (2.5 M in cyclohexane, 0.14 mL, 1.3 eq.) was added to a solution of compound **4** (140 mg, 0.26 mmol, 1.0 eq.) in THF (3.5 mL) at -78 °C. The resulting solution was stirred at -78 °C for 1 h. Then, triisopropylborate (0.18 mL, 0.78 mmol, 3.0 eq.) was added, and the solution was warmed to r.t. overnight. HCl (0.1 N solution, 5 mL) was added, and the layers were separated. The aqueous layer was then extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give the crude product. A mixture of crude compound **7** (65.0 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.), 2-iodo-4,6-dimethylpyrimidine (30 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.), and [Pd(PPh₃)₄] (10 mg, 0.01 mmol, 0.07 eq.) was dissolved into a 2:1 (v/v) solution of toluene (3.0 mL) and aqueous Na₂CO₃ (2 M solution 1.5 mL). After degassing, the mixture was heated to 90 °C overnight and then cooled to r.t.. Distilled water (10 mL) was added, and the organic products were extracted with CH₂Cl₂ (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica gel with petroleum ether-CH₂Cl₂ (from 90:10 to 50:50) as eluent gave compound **8** (12 mg, 16%); m.p. 100–102 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.47 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1 H), 8.42 (s, 1 H), 7.77 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 2H), 7.61-7.54 (m, 4H), 6.92 (s, 1 H), 6.85 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 3.02 (s, 6H), 2.57 (s, 6H), 2.12-2.04 (m, 4H), 1.13-1.04 (m, 12H), 0.76 0.72 (m, 10H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 166.8, 164.8,

152.3, 151.3, 150.1, 143.5, 140.6, 139.0, 136.8, 129.9, 127.9, 127.5, 125.2, 122.6, 120.8, 120.4, 119.6, 117.7, 113.0, 55.4, 40.8, 40.6, 31.7, 29.9, 24.4, 23.9, 22.7, 14.2 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₃₉H₄₉N₃ [M + H]⁺ 560.4005; found 560.3984.

4-(9,9-dihexyl-7-(6-phenylpyridazin-3-yl)-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline 9

n-BuLi (2.5 M in cyclohexane, 0.52 mL, 2.5 eq.) was added to a solution of compound **4** (276 mg, 0.52 mmol, 1.0 eq.) in THF at -78 °C. The resulting solution was stirred at -78 °C for 1 h. Then, triisopropylborate (0.40 mL, 1.71 mmol, 3.3 eq.) was added, and the solution was warmed to r.t. overnight. HCl (0.1 N solution, 0.3 mL) was added, and the layers were separated. The aqueous layer was then extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give the crude product. A mixture of the crude 7-[4-(dimethylamino)phenyl]-9,9-dihexyl-9H-fluoren-2-ylboronic acid (260 mg, 0.52 mmol, 1.0 eq.), 3-iodo-6-phenylpyridazine **6** (190 mg, 0.67 mmol, 1.0 eq.), Cs₂CO₃ (167 mg, 0.52 mmol, 1.0 eq.), K₂CO₃ (2 M solution, 0.26 mL, 1.0 eq.), and [PdCl₂dppf] (43 mg, 0.05 mmol, 0.1 eq.) was dissolved in a solution of toluene (15 mL) and EtOH (1 mL). After degassing, the mixture was agitated at reflux for 20 h. Distilled water (20 mL) was added at r.t., and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica gel with petroleum ether-CH₂Cl₂ (6:4) as eluent gave compound **9** (62 mg, 20%); m.p. 113–117 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.34 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 8.05-7.92 (m, 3H), 7.83 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.63-7.51 (m, 7H), 6.86 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.02 (s, 6H), 2.12-2.05 (m, 4H), 1.12-1.05 (m, 12 H), 0.76-0.72 (m, 10H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 158.1, 157.4, 152.2, 152.1, 150.2, 143.4, 141.0, 138.5, 136.4, 134.3, 129.7, 129.3, 129.2, 127.9, 127.3, 125.8, 125.3, 127.2, 121.5, 120.8, 120.5, 120.0, 113.0, 55.6, 40.8, 40.6, 31.6, 29.9, 23.0, 22.7, 14.1 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₄₃H₅₀N₃ [M + H]⁺ 608.4005; found 608.4020.

4-9,9-Dihexyl-7-[6-phenyl-4-(trifluoromethyl)pyridazin-3-yl]-9*H*-fluoren-2-yl-*N,N*-dimethylaniline 10

n-BuLi (2.5 M in cyclohexane, 0.14 mL, 1.3 eq.) was added to a solution of compound **4** (140 mg, 0.26 mmol, 1.0 eq.) in THF at -78°C . The resulting solution was stirred at -78°C for 1 h. Then, triisopropylborate (0.18 mL, 0.78 mmol, 3.0 eq.) was added, and the solution was warmed to r.t. overnight. HCl (0.1 N solution, 5 mL) was added, and the layers were separated. The aqueous layer was then extracted with EtOAc (3×15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO_4 , filtered, and then evaporated under reduced pressure to give the crude product. A mixture of the crude 7-[4-(dimethylamino)phenyl]-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-ylboronic acid (65 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.), 3-chloro-6-phenyl-4-(trifluoro-methyl)pyridazine (34 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.), Cs_2CO_3 (42 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.), K_2CO_3 (2 M solution, 0.1 mL, 1.0 eq.), and $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ (15 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq.) was dissolved in a solution of toluene (10 mL) and EtOH (0.1 mL). After degassing, the mixture was agitated at r.t. for 24 h. Distilled water (20 mL) was added at r.t., and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3×20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO_4 , filtered, and then concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica gel with petroleum ether–EtOAc (95:5) as eluent gave compound **10** (39 mg, 44%); m.p. $106\text{--}108^{\circ}\text{C}$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.24\text{--}8.21$ (m, 2H), 8.17 (s, 1H), 7.85 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.68–7.56 (m, 10H), 6.86 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 3.02 (s, 6H), 2.07–2.02 (m, 4H), 1.15–1.06 (m, 12H), 0.78–0.72 (m, 10H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 158.2, 157.7, 152.0, 150.9, 150.2, 143.0, 141.0, 138.5, 135.1, 133.8, 131.0, 129.7, 129.5, 128.7, 128.4, 128.3, 128.0, 127.5, 127.3, 125.3, 123.9, 120.8, 120.7, 120.6, 119.5, 113.0, 55.5, 40.8, 40.7, 31.6, 29.8, 23.8, 22.7, 14.1$ ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for $\text{C}_{44}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{F}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 676.3879; found 676.3859.

2,2'-(9,9-Dihexyl-9*H*-fluorene-2,7-diyl)bis(4,6-dimethylpyrimidine) 12

n-BuLi (2.5 M in cyclohexane, 1.7 mL, 5 eq.) was added to a solution of 2,7-diiodofluorene (500 mg, 0.85 mmol, 1.0 eq.) in THF at -78°C . The resulting solution was stirred at -78°C for 1 h. Then, triisopropylborate (1.3 mL, 0.82 mmol, 6.6 eq.) was added, and the solution was warmed to r.t. overnight. HCl (0.1 N solution, 1 mL) was added, and the layers were separated. The aqueous layer was then extracted with

EtOAc (3 × 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give the crude product **11**. A mixture of the crude (9,9-dihexyl-9*H*-fluorene-2,7-diyl)diboronic acid (357 mg, 0.85 mmol, 1.0 eq.), 2-iodo-4,6-dimethylpyrimidine (440 mg, 1.9 mmol, 2.2 eq.), Cs₂CO₃ (2 M solution, 5 mL), and [Pd(PPh₃)₄] (197 mg, 0.18 mmol, 0.2 eq.) was dissolved in a solution of toluene (10 mL). After degassing, the mixture was agitated at r.t. for 48 h. Distilled water (20 mL) was added at r.t., and the aqueous layer was extracted with EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica gel with petroleum ether–EtOAc–toluene (8:1:1) as eluent gave compound **12** (160 mg, 34%); m.p. 164–170 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.49 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 8.44 (s, 2H), 7.82 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 6.92 (s, 1H), 2.57 (s, 12H), 2.16–2.11 (m, 4H), 1.10–0.94 (m, 12 H), 0.73–0.70 (m, 10H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 166.7, 164.4, 151.8, 143.0, 137.4, 127.5, 122.7, 120.1, 117.7, 55.5, 53.5, 40.6, 31.6, 29.8, 24.2, 23.8, 22.6, 14.0 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₃₇H₄₇N₄ [M + H]⁺ 547.3801; found 547.3803.

((9,9-Dihexyl-9*H*-fluorene-2,7-diyl)bis(ethyne-2,1-diyl))bis(trimethylsilane)
17

9,9-Dihexyl-2,7-diiodo-9*H*-fluorene (500 mg, 0.85 mmol, 1.0 eq.), trimethylsilylacetylene (300 μL, 2.13 mmol, 2.5 eq.), copper(I) iodide (10 mg, 0.05 mmol, 0.05 eq.) and [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (36 mg, 0.05 mmol, 0.05 eq.) was dissolved in a solution of NEt₃ (2.5 mL) and THF (20 mL). The resulting solution was stirred at 65 °C for 24 h. Distilled water (10 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave **17** (280 mg, 62%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.60 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.47–7.43 (m, 4H), 1.97–1.91 (m, 4H), 1.14–1.07 (m, 12H), 0.89–0.85 (m, 7H), 0.58–0.47 (m, 3H), 0.31 (m, 18H).

2,2'-((9,9-dihexyl-9*H*-fluorene-2,7-diyl)bis(ethyne-2,1-diyl))bis(4,6-dimethylpyrimidine) 18

Compound **17** (280 mg, 0.53 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M, 3.0 eq.) was added to THF (10 mL). The resulting mixture was stirred at r.t. for 30 min and the solvent was evaporated to give the crude product. A mixture of 2,7-diethynyl-9,9-dihexyl-9*H*-fluorene crude (0.53 mmol, 1.0 eq.), **5** (274 mg, 1.17 mmol, 2.2 eq.), copper(I) iodide (6 mg, 0.03 mmol, 0.06 eq.) and [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (22 mg, 0.03 mmol, 0.06 eq.) was added to a solution of NEt₃ (5 mL) and THF (10 mL). The resulting solution was stirred to 65 °C for 19 h. Distilled water (10 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (9:1) as eluent gave **18** (112 mg, 35%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.68-7.66 (m, 6H), 6.9 (s, 2H), 2.5 (s, 12H), 1.96-1.91 (m, 4H), 1.3-1.0 (m, 12H), 0.91-0.90 (m, 6H), 0.88-0.79 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 167.2, 152.6, 151.1, 141.5, 131.6, 127.4, 120.4, 120.3, 119.0, 88.6, 88.0, 55.3, 40.3, 31.5, 29.6, 23.7, 22.6, 14.0 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₄₁H₄₇N₄ [M + H]⁺ 595.3801; found 595.3803.

2-Azido-4,6-dimethylpyrimidine 22a and 5,7-Dimethyltetrazolo-[1,5-a]pyrimidine 22b

CuCl₂ (79 mg, 0.59 mmol, 0.1 eq.) was dissolved in EtOH (18 mL) to give a green solution, and then sodium ascorbate (104 mg, 0.59 mmol, 0.1 eq.) was added. The resulting solution was stirred until the solution turned colorless. Then, pentane-2,4-dione (0.6 mL, 5.88 mmol, 1.0 eq.) and 5-aminotetrazole (500 mg, 5.88 mmol, 1.0 eq.) were added. The resulting mixture was stirred at r.t. for 12 h under argon. The solution was quenched with a saturated solution of NH₄Cl (20 mL), and the organic product was extracted with EtOAc (5 × 40 mL). The organic layer was dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give a mixture of compounds **22a** and **22b** (719 mg, 81%) as a white solid that was kept at -20 °C. Data for **22a**: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.42 (s, 6H), 6.76 (s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 23.9, 116.2, 161.7, 169.3 ppm. Data for **22b**: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.77 (s, 3H), 2.96 (s,

3H), 6.92 (s, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 17.0, 25.5, 112.8, 144.7, 155.1, 169.3$ ppm.

4-Azido-*N,N*-dimethylaniline **23**

N,N-Dimethyl-4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)aniline (200 mg, 0.81 mmol, 1.0 eq.) and $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (15 mg, 0.08 mmol, 0.1 eq.) were introduced into MeOH (5 mL). NaN_3 (79 mg, 1.21 mmol, 1.5 eq.) was then added. The resulting mixture was stirred at 55 °C for 24 h. When the solution was back to r.t., the precipitate was filtered over celite and washed with EtOAc. Combined organic layers were dried (MgSO_4) and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (9:1) as eluent gave 4-azido-*N,N*-dimethylaniline (88 mg, 67%); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.91$ (d, $J = 9$ Hz, 2H), 6.71 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 2.92 (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 148.4, 128.3, 119.8, 113.8, 40.9$ ppm.

((7-Bromo-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)trimethylsilane **24**

Compound **3** (500 mg, 0.93 mmol, 1.0 eq.) and copper(I) iodide (5 mg, 0.03 mmol, 0.03 eq.) were introduced into THF (20 mL) and triethylamine (2.5 mL). After degassing with Ar., $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2]$ (20 mg, 0.03 mmol, 0.03 eq.) and trimethylsilylacetylene (130 μL , 0.93 mmol, 1.0 eq.) were added and the resulting mixture was stirred for 24 h at 65 °C. Distilled water was added (10 mL) and organic products were extracted into EtOAc (3 \times 15 mL). Combined organic layers were dried (MgSO_4) and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether (100%) as eluent gave ((7-bromo-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)trimethylsilane **24** (396 mg, 84%); m.p. 118–120 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.61$ (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 7.42–7.46 (m, 5H), 6.68 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 3.01 (s, 6H), 1.90–1.97 (m, 4H), 1.15–1.03 (m, 12H), 0.77 (t, $J = 7$ Hz, 6H), 0.62–0.58 (m, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 207.0, 153.3, 150.4, 150.2, 139.7, 139.5, 132.8, 130.5, 130.1, 126.2, 125.6, 123.0, 121.3, 119.7, 111.9, 110.0, 91.1, 88.3, 55.5, 40.4, 40.3, 31.6, 29.7, 23.8, 22.7, 14.1$ ppm. HRMS (TOF MS APCI+): calcd. for $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{NBr}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 556.2579; found 556.2587.

4-(9,9-Dihexyl-7-((trimethylsilyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline 25

Compound **24** (198 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.), 4-(dimethylamino)phenylboronic acid (71 mg, 0.43 mmol, 1.0 eq.) and K_3CO_3 (108 mg, 0.78 mmol, 2 eq.) in 0.4 mL of H_2O were introduced into toluene (10 mL). After degassing with argon, $[PdCl_2dppf]$ (32 mg, 0.04 mmol, 0.10 eq.) was added and the resulting mixture was stirred for 17 h at reflux. Distilled water was added (5 mL) and organic products were extracted into EtOAc (3×15 mL). Combined organic layers were dried ($MgSO_4$) and concentrated under reduced pressure to give a brown residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether- CH_2Cl_2 (7:3) as eluent gave 4-(9,9-dihexyl-7-((trimethylsilyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline (74 mg, 35%); 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.54$ (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.51-7.45 (m, 7H), 6.85 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 3.02 (s, 6H), 2.01-1.95 (m, 4H), 1.16-1.03 (m, 12H), 0.77 (t, $J = 7$ Hz, 6H), 0.69-0.61 (m, 4H), 0.3 (s, 9H).

4-(7-(1-(4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-9,9-dihexyl-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline 19

Compound **25** (74 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M in THF, 0.22 mL, 0.22 mmol, 1.7 eq.) were introduced into THF (10 mL) under nitrogen. After 3 h of stirring at r.t., the solvent was evaporated under reduced pressure to give the desired crude product. 4-(7-Ethynyl-9,9-dihexyl-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline (0.14 mmol, 1.0 eq.), 2-azido-4,6-dimethylpyrimidine (22 mg, 0.15 mmol, 1.0 eq.), was added to 1:1 (v/v) solution of *t*-BuOH- H_2O (0.5 mL). Sodium ascorbate (8.0 mg, 0.04 mmol, 0.3 eq.) and $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (5.0 mg, 0.02 mmol, 0.15 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 2 days. Then, NH_4OH was added (5 mL) and the organic products were extracted into EtOAc (3×15 mL). Combined organic layers were dried ($MgSO_4$) and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether-EtOAc (6:4) as eluent give (44 mg, 52%); mp 133 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.87$ (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.74 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 7.61-7.53 (m, 4), 7.10 (s, 1H), 6.85 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 3.01 (s, 6H), 2.64 (s, 6H), 2.09-2.03 (m, 4H), 1.14-1.01 (m, 12H), 0.76-0.72 (m, 10H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 169.8, 154.2, 151.8, 151.7, 150.1, 148.7, 141.7, 140.5, 138.9, 129.8, 128.5, 127.9, 125.9, 125.1, 120.8, 120.5, 120.1, 120.0, 119.8, 118.4, 113.0, 55.5, 40.8, 40.6, 32.0, 31.6, 29.9, 29.8, 29.5, 24.2,$

23.9, 22.8, 22.7, 14.1 ppm. HRMS (TOF MS ES+) m/z calcd for C₄₁H₅₁N₆ [M + H]⁺ 627.4175 found 627.4169 (-1.0 ppm error).

((9,9-Dihexyl-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)trimethylsilane 26

Compound **24** (268 mg, 0.52 mmol, 1.0 eq.) and copper(I) iodide (5 mg, 0.03 mmol, 0.05 eq.) were introduced into THF (10 mL) and triethylamine (1.5 mL). After degassing with Ar., [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (18 mg, 0.03 mmol, 0.05 eq.) and (triisopropylsilyl)acetylene (177 μ L, 0.79 mmol, 1.5 eq.) were added and the resulting mixture was stirred for 12 h at 65 °C. Distilled water was added (10 mL) and organic products were extracted into EtOAc (3 \times 15 mL). Combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether as eluent gave((9,9-dihexyl-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)trimethylsilane **26** (238 mg, 74%); m.p. 144–146 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.59-7.62 (m, 2H), 7.42-7.49 (m, 4H), 1.94-1.99 (m, 4H), 1.19 (s, 18H), 1.04-1.15 (m, 15H), 0.79 (t, J = 7 Hz, 6H), 0.56-0.63 (m, 4H), 0.30 (m, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 151.1, 151.0, 141.0, 140.8, 131.6, 131.4, 126.4, 126.2, 122.5, 121.9, 119.9, 108.2, 106.3, 94.3, 90.7, 55.4, 40.4, 31.7, 29.8, 23.7, 22.8, 18.9, 14.2, 11.6, 0.2 ppm. HRMS (TOF MS APCI+): calcd. for C₄₁H₆₃Si₂ [M + H]⁺ 611.4468; found 611.4468.

2-((9,9-Dihexyl-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)-4,6-dimethylpyrimidine 27

Compound **26** (217 mg, 0.35 mmol, 1.0 eq.) and K₂CO₃ (246 mg, 1.78 mmol, 5.0 eq.) were introduced into MeOH–THF (1:1 v/v 12 mL) under nitrogen. After 20 h of stirring at r.t., the resulting solution was filtered and washed with CH₂Cl₂. Then solvents were evaporated under reduced pressure to give the desired crude product. ((7-Ethynyl-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)triisopropylsilane (0.18 mmol, 1.0 eq.), 2-iodo-4,6-dimethylpyrimidine (46 mg, 0.19 mmol, 1.0 eq.), [PdCl₂(PPh₃)₂] (13 mg, 0.02 mmol, 0.1 eq.) and copper(I) iodide (4 mg, 0.02 mmol, 0.10 eq.) was added to THF (3 mL) and triethylamine (3 mL). The resulting mixture was stirred at 65 °C for 20 h. Distilled water

(3 mL) was added and organic products were extracted into EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure to give a brown residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (from 9:1 to 7:3) as eluent gave 2-((9,9-dihexyl-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)-4,6-dimethylpyrimidine **27** (81 mg, 71% over 2 steps); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.67-7.59 (m, 4H), 7.46 (d, *J* = 8 Hz), 7.40 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 2.53 (s, 6H), 1.97-1.91 (m, 4H), 1.16-1.04 (m, 33), 0.76 (t, *J* = 7 Hz, 6H), 0.60-0.54 (m, 4H).

4-(4-(9,9-Dihexyl-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N,N*-dimethylaniline **28**

Compound **26** (217 mg, 0.35 mmol, 1.0 eq.) and K₂CO₃ (247 mg, 1.80 mmol, 5.0 eq.) were introduced into a 1:1 (v/v) solution of MeOH-THF (12 mL) under nitrogen. After 20 h of stirring at r.t., the precipitate was filtered and wash with CH₂Cl₂ and concentrated under reduced pressure to give the desired crude product. ((7-Ethynyl-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)triisopropylsilane (0.18 mmol, 1.0 eq.), 4-azido-*N,N*-dimethylaniline **23** (32 mg, 0.20 mmol, 1.0 eq.), was added to 1:1 (v/v) solution of *t*-BuOH–H₂O (1.0 mL). Sodium ascorbate (11 mg, 0.05 mmol, 0.3 eq.) and CuSO₄·5H₂O (7 mg, 0.03 mmol, 0.15 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 20 h. Then, NH₄OH was added (3 mL) and the organic products were extracted into EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (9:1) as eluent give **28** (84 mg, 68%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.13 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.47 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 6.80 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.04 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 152.0, 151.0, 150.7, 148.4, 141.2, 140.7, 131.5, 129.8, 126.9, 126.2, 124.8, 122.1, 122.0, 120.5, 120.2, 119.6, 118.0, 112.4, 108.3, 90.5, 55.5, 40.6, 40.5, 31.6, 29.8, 23.8, 22.7, 18.9, 14.1, 11.6 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₄₆H₆₅N₄Si [M + H]⁺ 701.4979; found 701.4968.

4-(4-(7-((4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)ethynyl)-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N,N*-dimethylaniline **20**

Method 1

Compound **27** (81 mg, 0.13 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M in THF, 0.21 mL, 0.21 mmol, 1.66 eq.) were introduced into THF (5 mL) under nitrogen. After 18 h of stirring at r.t., the solvent was evaporated under reduced pressure to give the desired crude product. 2-((7-Ethynyl-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)-4,6-dimethylpyrimidine (0.13 mmol, 1.0 eq.), 4-azido-*N,N*-dimethylaniline **23** (22 mg, 0.14 mmol, 1.0 eq.), was added to 1:1 (v/v) solution of *t*-BuOH–H₂O (0.8 mL). Sodium ascorbate (7.0 mg, 0.04 mmol, 0.3 eq.) and CuSO₄·5H₂O (5.0 mg, 0.02 mmol, 0.15 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 2 d. Then, NH₄OH was added (3 mL) and the organic products were extracted into EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (6:4) as eluent give **20** (40 mg, 50%).

Method 2

Compound **28** (84 mg, 0.12 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M in THF, 0.20 mL, 0.20 mmol, 1.66 eq.) were introduced into THF (5 mL) under nitrogen. After 18 h of stirring at r.t., the solvent was evaporated under reduced pressure to give the desired crude product. 4-(4-(7-Ethynyl-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N,N*-dimethylaniline crude (0.12 mmol, 1.0 eq.), 2-iodo-4,6-dimethylpyrimidine **5** (32 mg, 0.14 mmol, 1.1 eq.) and copper(I) iodide (2 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq.) were introduced into a 1:1 (v/v) solution of NEt₃ and THF (6 mL). After degassing under Ar., [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (9 mg, 0.01 mmol, 0.1 eq.) was added the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 2 d. Distilled water (3 mL) was added and the organic products were extracted into EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (6:4) as eluent gave **20** (44 mg, 56%); m.p. 189 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.14 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.69-7.67 (m, 3H), 7.60 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.77 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.01 (s, 6H), 2.52 (s, 6H), 2.03-2.0 (m,

4H), 1.14-1.02 (m, 12H), 0.86 (t, $J = 6$ Hz, 10H), 0.76-0.74 (m, 4H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 167.3, 152.8, 152.2, 151.0, 150.7, 148.3, 142.3, 104.4, 131.7, 130.2, 127.5, 126.8, 124.8, 122.1, 120.7, 120.2, 119.8, 119.0, 118.0, 112.4, 88.4, 55.5, 40.6, 31.7, 29.8, 24.1, 23.9, 22.7, 14.1$ ppm. HRMS (TOF MS ES+) m/z calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{51}\text{N}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 651.4175 found 651.4164 (-1.7 ppm error).

4-(4-(7-[1-(4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-9,9-dihexyl-9*H*-fluoren-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N,N*-dimethylaniline 29

Compound **28** (129 mg, 0.24 mmol, 1.0 eq.) and 2-azido-4,6-dimethylpyrimidine **22** (45 mg, 0.30 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH– H_2O (1:1 v/v, 1 mL). Sodium ascorbate (14.1 mg, 0.07 mmol, 0.3 eq.) and $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (9.0 mg, 0.04 mmol, 0.15 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 3 d. Then, NH_4OH was added (6 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3×15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO_4 and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (5:5) as eluent gave compound **29** (138 mg, 85%); m.p. 235–237 °C. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.87$ (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.75-7.72 (m, 2H), 7.69 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.08 (s, 1H), 6.77 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 3.00 (s, 6H), 2.61 (s, 6H), 2.12-2.06 (m, 4H), 1.11-0.99 (m, 12H), 0.73-0.66 (m, 10H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.8, 154.1, 151.9, 151.8, 150.6, 148.5, 141.3, 140.8, 129.6, 129.0, 126.8, 125.1, 124.7, 122.0, 120.4, 120.3, 120.2, 119.8, 118.5, 117.9, 112.4, 55.6, 40.6, 40.5, 31.6, 29.8, 24.1, 23.9, 22.7, 14.1$ ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for $\text{C}_{43}\text{H}_{51}\text{N}_9$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 694.4346; found 694.4338.

Chapter 8

Compounds with hydrosoluble chains

2-(2-(2-Methoxyethoxy)ethoxy)ethyl-4-methylbenzenesulfonate **30**

p-Toluenesulfonyl chloride (14.0 g, 73.0 mmol, 1.2 eq.) was added to an oven-dried 250 mL Schlenk flask and dry CH₂Cl₂ (100 mL) was transferred by cannula. Following addition of NEt₃ (10 mL) by syringe, the reaction mixture was stirred and cooled to 0 ° C. 2-[2-(2-Methoxyethoxy)ethoxy]ethanol (10.0 g, 61.00 mmol, 1.0 eq.) was added dropwise by syringe and the reaction vessel was held at 0 ° C for 1 h before it was allowed to warm to r.t.. After 20 h, the solution was washed with a saturated solution of Na₂CO₃, dried over MgSO₄ and, concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–acetone (8:2) as eluent gave 2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl 4-methylbenzenesulfonate (15 g, 79%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.77 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.32 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 4.14 (t, *J* = 5 Hz, 2H), 3.66 (t, *J* = 5 Hz, 2H), 3.60-3.57 (m, 6H), 3.52-3.49 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.43 (s, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 144.6, 132.6, 129.6, 127.6, 71.6, 70.4, 70.2, 69.1, 68.3, 58.7, 53.4, 21.3 ppm.

1-Iodo-2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethane **31**

An oven-dried three-necked round-bottom flask fitted with a reflux condenser, argon inlet and septa under argon flow. Under counterflow, **30** (5.0 g, 16.0 mmol, 1.0 eq.) and NaI (24.0 g, 163 mmol, 10 eq.) were added and the flask was cycled between argon and vacuum. The argon inlet was replaced by a CaSO₄ drying tube and acetone (130 mL) was introduced. The reaction was stirred to reflux for 20 h. The reaction was then allowed to cooled to r.t. and the solvent was removed under reduced pressure. The remaining residue

was taken up in CH₂Cl₂ (75 mL) and H₂O (110 mL) and transferred to a separatory funnel. The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (2 × 35 mL). The combined organic layers were washed with with aqueous NaCl saturated solution (2 × 90 mL), dried (MgSO₄) and solvent was evaporated under reduced pressure to give **31** (4.4 g, 98%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.75 (t, *J* = 7 Hz, 2H), 3.68-3.64 (m, 6H), 3.57-3.54 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.26 (t, *J* = 7 Hz, 2H) ppm.

2-Bromo-7-iodo-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluorene 32

2-Bromo-7-iodo-9*H*-fluorene **2** (756 mg, 2.00 mmol, 1.0 eq.) was diluted in anhydrous DMF (15 mL). NaH 95% (130 mg, 5.50 mmol, 2.7 eq.) was added to the solution at 0 °C. The resulting mixture was stirred at r.t. for 30 min before addition of 1-iodo-2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethane **31** (1.4 g, 5.10 mmol, 2.5 eq.). The reacting mixture was stirred at r.t. for 24 h. Distilled water (10 mL) was added dropwise and, the organic compounds were extracted with CH₂Cl₂ (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–acetone (8:2) as eluent gave 2-bromo-7-iodo-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluorene **32** (976 mg, 72%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.71 (d, *J* = 2 Hz, 1H), 7.64 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.51-7.48 (m, 2H), 7.44 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 3.53-3.44 (m, 8H), 3.38-3.35 (m, 4H), 3.32 (s, 6H), 3.20-3.17 (m, 4H), 2.75 (t, *J* = 7 Hz, 4H), 2.31 (t, *J* = 7 Hz, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 151.1, 150.7, 139.1, 138.5, 136.6, 132.6, 130.7, 126.7, 121.8, 121.6, 121.3, 93.1, 71.9, 70.5, 70.1, 66.8, 59.1, 53.5, 51.8, 39.5 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₂₇H₃₆O₆Na⁷⁹BrI [M + Na]⁺ 685.0638; found 685.0638; calcd. for C₂₇H₃₆O₆Na⁸¹BrI [M + Na]⁺ 687.0617; found 687.0626.

4-(7-Bromo-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluoren-2-yl)-*N,N*-dimethylaniline 33

A mixture of **32** (611 mg, 0.92 mmol, 1.0 eq.), (4-(dimethylamino)phenyl)boronic acid (152 mg, 0.92 mmol, 1.0 eq.) and [Pd(PPh₃)₄] (106 mg, 0.09 mmol, 0.1 eq.) was dissolved into a 2:1 (v/v) solution of toluene (10 mL) and Cs₂CO₃ (2 M, 5 mL). After degassing, the mixture was heated to 90 °C for 24 h and then cooled to r.t.. Distilled water was

added (10 mL) and the organic products were extracted into EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried (MgSO₄), filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–toluene–acetone (6:2:2) as eluent gave compound **33** (264 mg, 44%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.66 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.59-7.52 (m 6H), 7.46 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 3.53-3.44 (m, 8H), 3.40-3.38 (m, 4H), 3.33 (s, 6H), 3.25-3.21 (m, 4H), 2.87-2.80 (m, 4H), 2.44-2.38 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 151.4, 149.3, 139.6, 130.5, 127.8, 126.7, 125.8, 121.0, 120.9, 120.8, 120.3, 113.0, 72.0, 70.6, 70.1, 67.1, 59.1, 51.6, 39.8 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₃₅H₄₇NO₆Br [M + H]⁺ 656.2587; found 656.2593.

4-(9,9-Bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline 34

A mixture of **33** (263 mg, 0.40 mmol, 1.0 eq.) and triisopropylsilylacetylene (135 μL, 0.60 mmol, 1.5 eq.) was added to a solution of *i*-Pr₂NH–DMF (1:1 v/v, 4 mL). After degassing, copper(I) iodide (8 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq.) and [Pd(PPh₃)₄] (46 mg, 0.040 mmol, 0.1 eq.) were introduced to the mixture. The resulting solution was stirred at 65 °C for 18 h. Distilled water (2 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–acetone–toluene (7:2:1) as eluent gave compound **34** (226 mg, 74%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.66 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.59-7.55 (m, 5H), 7.47 (d, *J* = 5 Hz, 2H), 6.82 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.50-3.43 (m, 8H), 3.41-3.38 (m, 4H), 3.32 (s, 6H), 3.23-3.20 (m, 4H), 3.01 (s, 6H), 2.81-2.76 (m, 4H), 2.44-2.39 (m, 4H), 1.17 (s, 21H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 150.1, 149.8, 148.9, 140.9, 140.7, 137.7, 131.7, 128.9, 127.7, 126.5, 125.5, 121.7, 120.6, 120.4, 119.4, 112.8, 107.8, 90.6, 71.8, 70.4, 70.0, 67.0, 59.0, 51.1, 40.6, 39.7, 18.8, 11.4 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₄₆H₆₈NO₆Si [M + H]⁺ 758.4816; found 758.4805.

4-(7-((4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)ethynyl)-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline 35

Compound **34** (165 mg, 0.22 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M in THF, 0.44 mL, 0.44 mmol, 2.0 eq.) were introduced into THF (6 mL) under nitrogen. After 24 h of stirring at r.t., the solvent was evaporated under reduced pressure to give the desired crude product. 4-(7-ethynyl-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)-*N,N*-dimethylaniline (0.22 mmol, 1.0 eq.), 2-iodo-4,6-dimethylpyrimidine **5** (66 mg, 0.283 mmol, 1.3 eq.) and copper(I) iodide (4 mg, 0.03 mmol, 0.1 eq.) were introduced into a 1:1 (v/v) solution of NEt₃ and THF (2 mL). After degassing under Ar., [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (15 mg, 0.02 mmol, 0.1 eq.) was added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 3 d. Distilled water (5 mL) was added and the organic products were extracted into EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by column chromatography on C18 with acetonitrile–water (from 8:2 to 4:6) as eluent gave **35** (22 mg, 14%); m.p. 69–74 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.74 (s, 1H), 7.66–7.65 (m, 3H), 7.58–7.54 (m, 4H), 6.98 (s, 1H), 6.82 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.45–3.42 (m, 8H), 3.39–3.37 (m, 4H), 3.36 (s, 6H), 3.30–3.19 (m, 4H), 3.01 (s, 6H), 2.83–2.75 (m, 4H), 2.52 (s, 6H), 2.42–2.37 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 167.3, 152.8, 150.3, 150.2, 149.2, 142.0, 141.4, 137.6, 132.1, 129.0, 127.8, 127.6, 125.7, 120.9, 120.7, 119.7, 119.6, 119.0, 112.9, 88.6, 88.1, 72.0, 70.5, 70.1, 67.1, 59.1, 51.4, 40.7, 39.9, 29.8, 24.2 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₄₃H₅₄N₃O₆ [M + H]⁺ 708.4013; found 708.4015.

4-(7-(1-(4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)-N,N-dimethylaniline 36

Compound **34** (250 mg, 0.33 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M in THF, 0.66 mL, 0.89 mmol, 2.0 eq.) were introduced into THF (10 mL) under nitrogen. After 24 h of stirring at r.t., the solvent was evaporated under reduced pressure to give the desired crude product.

Method 1:

4-(7-ethynyl-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluoren-2-yl)-*N,N*-dimethylaniline (0.165 mmol, 1.0 eq.), 2-azido-4,6-dimethylpyrimidine **22** (27 mg, 0.18 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of DMF (0.9 mL). PMDETA (38 μ L, 0.18 mmol, 1.0 eq.) and CuBr (26 mg, 0.18 mmol, 1.0 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 35 ° C for 3 d. Then, NH₄OH was added (1 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 \times 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica (toluene-acetone, 7:3) gave compound **36** (34 mg, 27%).

Method 2:

4-(7-ethynyl-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluoren-2-yl)-*N,N*-dimethylaniline (0.16 mmol, 1.0 eq.), 2-azido-4,6-dimethylpyrimidine **22** (25 mg, 0.17 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of acetone (0.7 mL) and H₂O (0.5 mL). Sodium ascorbate (6.5 mg, 0.03 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (4 mg, 0.02 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 80 ° C for 3 d. Then, NH₄OH was added (1 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 \times 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give a yellow residue. Purification by flash column chromatography on silica with toluene-acetone (7:3) as eluent gave compound **36** (38 mg, 31%); m.p. 88–96 ° C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.92 (s, 1H), 8.00-7.98 (m, 2H), 7.73 (dd, J = 8, 11 Hz, 2H), 7.60-7.55 (m, 4H), 7.13 (s, 1H), 6.84 (d, J = 9 Hz, 2H), 3.49-3.37 (m, 12H), 3.28 (s, 6H), 3.22-3.19 (m, 4H), 3.01 (s, 6H), 2.85-2.80 (m, 4H), 2.65 (s, 6H), 2.51-2.48 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 169.8, 154.1, 150.1, 149.8, 148.3, 140.9, 149.8, 138.1, 132.3, 129.3, 128.8, 128.7, 127.8, 125.6, 125.5, 122.7, 120.79, 120.72, 120.3, 120.2, 119.9, 118.6, 113.0, 71.9, 70.51, 70.46, 70.1, 67.1, 59.1, 51.4, 40.8, 39.9, 29.8, 24.2 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₄₃H₅₅N₆O₆ [M + H]⁺ 751.4169; found 751.4183.

4-((7-Bromo-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N,N*-dimethylaniline **37**

A mixture of **32** (1 g, 1.74 mmol, 1.0 eq.) and 4-ethynyl-*N,N*-dimethylaniline (278 mg, 1.91 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of NEt₃ (5 mL) and THF (20 mL). After degassing, copper(I) iodide (17 mg, 0.09 mmol, 0.05 eq.) and [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (61 mg, 0.09 mmol, 0.05 eq.) were introduced to the mixture. The resulting solution was stirred at 65 °C for 24 h. Distilled water (10 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (5:5) as eluent gave **37** (894 mg, 76%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.60-7.42 (m, 8H), 6.69 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.54-3.45 (m, 8H), 3.40-3.37 (m, 4H), 3.32 (s, 6H), 3.22-3.18 (m, 4H), 3.00 (s, 6H), 2.80-2.73 (m, 4H), 2.38-2.33 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 151.5, 150.1, 149.2, 148.6, 139.3, 139.0, 138.7, 132.7, 130.79, 130.72, 130.66, 130.5, 126.6, 125.9, 123.4, 123.1, 121.3, 119.8, 111.8, 109.9, 109.8, 91.6, 87.9, 71.9, 70.4, 70.0, 66.8, 59.0, 51.5, 40.2, 39.6 ppm.

4-(9,9-Bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-7-((triisopropylsilyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)-*N,N*-dimethylaniline **38**

A mixture of **37** (391 mg, 0.58 mmol, 1.0 eq.) and triisopropylsilylacetylene (195 μL, 0.87 mmol, 1.5 eq.) was added to a solution of *i*-Pr₂NH–DMF (1:1 v/v, 2.4 mL). After degassing, copper(I) iodide (11 mg, 0.06 mmol, 0.1 eq.) and [Pd(PPh₃)₄] (67 mg, 0.06 mmol, 0.1 eq.) were introduced to the mixture. The resulting solution was stirred at 65 °C for 16 h. Distilled water (2 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–acetone (8:2) as eluent gave compound **38** (396 mg, 88%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.61-7.54 (m, 3H), 7.49-7.42 (m, 5H), 6.67 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.52-3.46 (m, 8H), 3.41-3.38 (m, 4H), 3.32 (s, 6H), 3.22-3.19 (m, 4H), 3.00 (s, 6H), 2.77-2.72 (m, 4H), 2.41-2.36 (m, 4H), 1.17 (s, 21H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 150.2, 149.3, 149.2, 140.2, 139.2, 135.3, 132.8, 131.8, 130.8, 126.6, 126.0, 123.4, 122.4, 120.1, 119.8, 111.9, 107.7, 91.2, 71.9, 70.6, 70.1, 66.9, 51.3, 40.3, 39.7, 18.9, 11.5 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₄₈H₆₈NO₆Si

[M + H]⁺ 758.4816; found 758.4805.

4-((7-((4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)ethynyl)-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N,N*-dimethylaniline
39

Compound **38** (230 mg, 0.29 mmol, 1.0 eq.) was diluted into THF (5 mL). tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M, 0.50 mmol, 1.7 eq.) was introduced and the resulting solution was stirred at r.t. for 24 h and the solvent was evaporated under reduced pressure. A mixture of 4-((7-ethynyl-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N,N*-dimethylaniline (0.29 mmol, 1.0 eq.) and compound **5** (89 mg, 0.38 mmol, 1.3 eq.) was added to a solution of NEt₃ (1 mL) and THF (3 mL). After degassing, copper(I) iodide (3 mg, 0.015 mmol, 0.05 eq.) and [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (10 mg, 0.015 mmol, 0.05 eq.) were introduced to the mixture. The resulting solution was stirred at 65 °C for 24 h. Distilled water (2 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by preparative HPLC (Hypersil[®] gold 250×4.5; 5 μm; UV detector: 254 nm) MeOH–H₂O (7:3) as eluent gave **39** (85 mg, 40%) as an orange oil; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.74 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.55 (s, 1H), 7.47 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 6.98 (s, 1H), 6.67 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.51-3.44 (m, 8H), 3.40-3.36 (m, 4H), 3.30 (s, 6H), 3.21-3.18 (m, 4H), 2.99 (s, 6H), 2.79-2.74 (m, 4H), 2.39-2.34 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 167.3, 150.2, 149.7, 149.4, 141.5, 138.9, 132.8, 132.1, 130.9, 127.7, 126.2, 123.8, 120.3, 120.2, 120.0, 112.0, 110.1, 91.9, 88.1, 87.9, 71.9, 70.5, 70.1, 66.9, 59.0, 51.4, 40.3, 39.7, 29.8, 24.1 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₄₅H₅₄N₃O₆ [M + H]⁺ 732.4013; found 732.4036.

((9,9-Bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluorene-2,7-diyl)bis(ethyne-2,1-diyl))bis(trimethylsilane) 41

A mixture of **32** (700 mg, 1.06 mmol, 1.0 eq.) and trimethylsilylacetylene (0.21 mL, 1.46 mmol, 1.4 eq.) was added to a solution of *i*-Pr₂NH–DMF (1:1 v/v 4 mL). After degassing, copper(I) iodide (28 mg, 0.14 mmol, 0.15 eq.) and [Pd(PPh₃)₄] (169 mg,

0.15 mmol, 0.15 eq.) were introduced to the mixture. The resulting solution was stirred at 65 °C for 24 h. Distilled water (10 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–acetone (8:2) as eluent gave **37** (452 mg, 66%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.55 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.48 (s, 2H), 7.42 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.5–3.43 (m, 8H), 3.37–3.32 (m, 4H), 3.31 (s, 6H), 3.16–3.13 (m, 4H), 2.69–2.64 (m, 4H), 2.36–2.31 (m, 4H), 0.25 (m, 18H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 149, 140, 131, 126, 122, 120, 105, 95, 72, 70.7, 70.5, 70, 67, 59, 51, 40 ppm.

2,2'-((9,9-Bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluorene-2,7-diyl)bis(ethyne-2,1-diyl))bis(4,6-dimethylpyrimidine) 42

Compound **41** (125 mg, 0.15 mmol, 1.0 eq.) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M in THF, 0.60 mL, 0.60 mmol, 4 eq.) were introduced into THF (1 mL) under nitrogen. After 24 h of stirring at r.t., the solvent was evaporated under reduced pressure to give the desired crude product. A mixture of 2,7-diethynyl-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9*H*-fluorene crude (0.15 mmol, 1.0 eq.), **5** (88 mg, 0.38 mmol, 2.5 eq.), copper(I) iodide (3 mg, 0.02 mmol, 0.1 eq.) and [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (11 mg, 0.02 mmol, 0.1 eq.) was added to a solution of NEt₃ (0.5 mL) and THF (1 mL). The resulting solution was stirred to 65 °C for 24 h. Distilled water (3 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–acetone (8:2) as eluent gave **42** (36 mg, 33%); m.p. 74–80 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.75 (s, 2H), 7.66 (s, 4H), 6.99 (s, 2H), 3.52–3.44 (m, 8H), 3.38–3.33 (m, 4H), 3.31 (s, 6H), 3.20–3.16 (m, 4H), 2.76–2.72 (m, 4H), 2.52 (s, 6H), 2.38–2.33 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 167.3, 152.7, 149.7, 141.0, 132.2, 127.8, 120.9, 120.4, 119.2, 72.0, 70.52, 70.46, 70.1, 66.9, 59.1, 51.6, 39.6, 24.1 ppm. HRMS (TOF MS ESI+): calcd. for C₄₃H₅₁N₄O₆ [M + H]⁺ 719.3809; found 719.3799.

Chapter 9

Compounds from the BODIPY study

2-(2-Chloropyrimidin-4-yl)phenol **43**

2,4-Dichloropyrimidine (500 mg, 3.38 mmol, 1.1 eq.), (2-hydroxyphenyl)boronic acid (430 mg, 3.12 mmol, 1.0 eq.), [Pd(PPh₃)₄] (966 mg, 0.84 mmol, 0.26 eq.) and K₂CO₃ (1.4 g, 10.10 mmol, 3.2 eq.) were dissolved in a solution of toluene (15 mL), EtOH (3 mL) and water (3 mL). After degassing, the reaction mixture was heated to 55 °C for 2 h and then cooled to r.t.. Distilled water (20 mL) was added, and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give a black solid residue. Purification by flash column chromatography on silica (petroleum ether/EtOAc, 9:1) gave compound **43** (656 mg, 94%); m.p. 126–133 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 12.40 (s, 1H), 8.66 (d, *J* = 5 Hz, 1H), 7.77 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 5 Hz, 1H), 7.47-7.41 (m, 1H), 7.06 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 6.99-6.94 (m, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 167.5, 161.0, 159.7, 159.1, 134.7, 127.4, 119.8, 119.5, 116.0, 113.7 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₁₀H₈N₂O³⁵Cl [M + H]⁺ 207.0325; found 207.0324; calcd. for C₁₀H₈N₂O³⁷Cl [M + H]⁺ 209.0296; found 209.0299.

2-(2-(4-(Dimethylamino)phenyl)pyrimidin-4-yl)phenol **44**

2-(2-Chloropyrimidin-4-yl)phenol **43** (200 mg, 0.97 mmol, 1 eq.), (4-(dimethylamino)phenyl)boronic acid (176 mg, 1.07 mmol, 1.1 eq.), [Pd(PPh₃)₄]

(280 mg, 0.24 mmol, 0.25 eq.) and K_2CO_3 (403 mg, 2.91 mmol, 3.0 eq.) were dissolved in a solution of toluene (5 mL), EtOH (1 mL) and water (1 mL). After degassing, the reaction mixture was heated to 55 °C for 4.5 h and then cooled to r.t.. Distilled water (10 mL) was added, and the organic products were extracted with EtOAc (3×10 mL). The combined organic layers were dried with $MgSO_4$, filtered, and then evaporated under reduced pressure to give a black solid residue. Purification by flash column chromatography on silica (petroleum ether/EtOAc, 9:1) gave compound **43** (210 mg, 74%); m.p. 128–133 °C. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.52 (s, 1H), 8.78 (d, J = 5 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 9 Hz, 2H), 7.83 (dd, J = 1, 8 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 5 Hz, 1H), 7.40 (td, J = 1, 7 Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 1, 8 Hz, 1H), 6.95 (td, J = 1, 7 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 9 Hz, 2H), 3.07 (s, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 164.4, 163.0, 161.3, 158.2, 152.6, 133.4, 129.6, 127.0, 123.5, 119.1, 118.8, 117.2, 111.8, 111.20, 40.2 ppm. HRMS [TOF MS ES+]: calcd. for $C_{18}H_{18}N_3O$ [M + H]⁺ 292.1450; found 292.1439.

2-((Trimethylsilyl)ethynyl)phenol **47**

2-Iodophenol (2 g, 9.09 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in THF (20 mL). To the resulting solution [$Pd(PPh_3)_2Cl_2$] (192 mg, 0.27 mmol, 0.03 eq.), copper(I) iodide (173 mg, 0.91 mmol, 0.1 eq.), DIPEA (1.5 mL, 9.09 mmol, 1 eq.) and trimethylsilylacetylene (1.9 mL, 9.09 mmol, 1 eq.) were subsequently added. The reaction was stirred at r.t. for 24 h. Evaporation of the solvent gave a crude product which was purified by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (98:2) as the eluent gave **47** (1.48 g, 86%); 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.36 (dd, J = 1, 7.5 Hz, 1H), 7.29–7.23 (m, 1H), 6.96 (dd, J = 1, 8 Hz, 1H), 6.87 (td, J = 1, 7.5 Hz, 1H), 0.30 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 157.1, 131.7, 130.8, 120.3, 114.6, 109.6, 102.5, 99.0, 0.1 ppm. Spectroscopic data consistent with those reported in the literature.

2-Ethynylphenol **48**

Tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M, 1.45 mL) were added slowly to a solution containing trimethylsilyl(ethynyl)phenol **47** (230 mg, 1.21 mmol, 1.0 eq.) dissolved in dry THF (4 mL) at r.t.. The resulting solution was stirred at r.t. for 1 h. The reaction was quenched by addition of a saturated solution of NH_4Cl and the mixture extracted

with EtOAc (2×5 mL). The organic layer was washed with water (1×5 mL) and brine (1×5 mL). The combined organic layers were dried with NaSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (95:5) as eluent gave **48** (142 mg, quant.); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.37$ (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.26, (t, $J = 7$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 6.86 (t, $J = 7$ Hz, 1H), 6.0 (s, 1H), 3.45 (s, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): $\delta = 171.5, 157.5, 132.2, 131.0, 120.4, 115.0, 108.4, 84.3, 78.4, 60.6, 21.2, 14.3$ ppm. Spectroscopic data consistent with those reported in the literature.

***Tert*-butyl(2-iodophenoxy)dimethylsilane 50**

2-Iodophenol (3.00 g, 13.6 mmol, 1.0 eq.), TBDMSCl (2.50 g, 17.0 mmol, 1.25 eq.) and imidazole (1.10 g, 17.0 mmol, 1.25 eq.) were dissolved in CH₂Cl₂ (20 mL). After stirring vigorously overnight at r.t., the reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (15 mL) and washed with HCl (3 N, 2×20 mL) and H₂O (20 mL). The combined organic layers were dried with NaSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give **50** (4.5 g, quant.). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.77$ (dd, $J = 2, 8$ Hz, 1H), 7.21 (td, $J = 2, 8$ Hz, 1H), 6.84 (dd, $J = 1, 8$ Hz, 1H), 6.69 (td, $J = 1, 8$ Hz), 1.09 (s, 9H), 0.30 (s, 6H) ppm.

***Tert*-butyldimethyl(2-((trimethylsilyl)ethynyl)phenoxy)silane 51**

Compound **50** (4.50 g, 13.5 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in THF (20 mL). To the resulting solution [Pd(PPh₃)₂Cl₂] (284 mg, 0.405 mmol, 0.03 eq.), copper(I) iodide (256 mg, 1.35 mmol, 0.1 eq.), DIPEA (2.3 mL, 13.5 mmol, 1 eq.) and trimethylsilylacetylene (2 mL, 15 mmol, 1.1 eq.) were subsequently added. The reaction was stirred at r.t. for 15 h. Distilled water (10 mL) was added, and the organic compounds were extracted with EtOAc (3×15 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (95:5) as eluent gave **51** (4 g, 97%) as a yellow oil; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.40$ (dd, $J = 2, 7.5$ Hz, 1H), 7.17 (td, $J = 2, 8$ Hz, 1H), 6.87 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 1.04 (s, 9H), 0.23 (s, 15H); ¹³C NMR (75 MHz,

CDCl₃): δ = 156.9, 134.1, 129.7, 121.1, 119.7, 115.7, 102.4, 97.7, 25.9, 18.4, 0.13, -4.14 ppm.

4-Azidobenzonitrile **53**

To the boronic acid (147 mg, 1.00 mmol, 1.0 eq.) in MeOH (5 mL) were added NaN₃ (98 mg, 1.5 mmol, 1.5 eq.) and Cu(OAc)₂ (18 mg, 0.10 mmol, 0.1 eq.). The resulting solution was vigorously stirred at 55 °C under air. The mixture was concentrated onto Celite and purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (9:1) as solvent gave **53** (104 mg, 72%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.65 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* 9 Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 145.0, 133.9, 119.8, 118.5, 108.4 ppm. Spectroscopic data consistent with those reported in the literature.

4-(2-Methoxyphenyl)-1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazole **54**

1-Ethynyl-2-methoxybenzene (194 μ L, 1.5 mmol, 1.0 eq.) and azidobenzene (0.5 M in Me-THF, 3 mL, 1.5 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 0.5 mL). Sodium ascorbate (59 mg, 0.3 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (37 mg, 0.15 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 24 h. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 \times 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **54** (323 mg, 86%); m.p. 73–76 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.46 (s, 1H), 8.43 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.52 (t, *J* = 7 Hz, 2H), 7.45–7.39 (m, 1H), 7.34 (td, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 7.11 (td, *J* = 1, 7 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 3.96 (s, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 155.8, 143.8, 137.3, 129.6, 129.2, 128.5, 127.8, 121.1, 121.0, 120.5, 119.1, 110.8, 55.5 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₁₅H₁₄N₃O [M + H]⁺ 252.1137; found 252.1131.

4-(4-(2-Methoxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)benzonitrile **55**

1-Ethynyl-2-methoxybenzene (74 μ L, 0.57 mmol, 1.0 eq.) and 4-azidobenzonitrile **53** (82 mg, 0.57 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 0.5 mL).

Sodium ascorbate (23 mg, 0.11 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (14 mg, 0.06 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 15 h. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **55** (140 mg, 89%); m.p. 172–184 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.49 (s, 1H), 8.37 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.35 (td, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.09 (t, *J* = 8 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 3.96 (s, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 115.8, 144.5, 140.0, 133.87, 129.7, 127.8, 121.1, 120.4, 120.3, 119.8, 118.3, 118.0, 111.9, 110.9, 60.4, 55.5, 21.1, 14.2 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₁₆H₁₃N₄O [M + H]⁺ 277.1089; found 277.1089.

4-(4-(2-Methoxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N,N*-dimethylaniline **56**

1-Ethynyl-2-methoxybenzene (49 μL, 0.38 mmol, 1.0 eq.) and 4-azido-*N,N*-dimethylaniline **23** (61 mg, 0.38 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 1 mL). Sodium ascorbate (15 mg, 0.08 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (9 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 24 h. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **56** (73 mg, 66%); m.p. 118–122 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.42 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.62 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 6.90 (td, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.11 (t, *J* = 8 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.96 (s, 3H), 3.02 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 155.7, 150.3, 143.3, 128.9, 127.7, 127.1, 121.9, 121.2, 121.0, 119.4, 112.4, 110.8, 55.4, 40.5 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₁₇H₁₉N₄O [M + H]⁺ 295.1559; found 295.1555.

2-(4-(2-Methoxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-4,6-dimethylpyrimidine **57**

1-Ethynyl-2-methoxybenzene (129 μL , 1.00 mmol, 1.0 eq.) and 2-azido-4,6-dimethylpyrimidine **22** (159 mg, 1.00 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 1 mL). Sodium ascorbate (40 mg, 0.2 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (25 mg, 0.10 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 3 d. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 \times 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (6:4 to 0:10) as eluent gave compound **57** (158 mg, 56%); m.p. 124–140 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.99 (s, 1H), 8.45 (dd, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.34 (td, *J* = 2, 8 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.00 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 4.00 (s, 3H), 2.61 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 169.6, 156.0, 143.4, 129.3, 128.3, 121.8, 121.0, 119.6, 119.0, 110.8, 55.6, 24.2 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₁₅H₁₆N₅O [M + H]⁺ 282.1355; found 282.1351.

2-(1-Phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)phenol **58**

Compound **54** (250 mg, 1.00 mmol) in dry NMP (8 mL) was added NaOH (199 mg, 5.50 mmol, 5 eq.) and 1-dodecanethiol (477 μL , 2.0 mmol, 2 eq.). The resulting solution was heated to 130 °C for 24 h. The reaction was stopped and cooled to r.t. and poured onto ice-water. The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (7:3) as eluent gave compound **58** (145 mg, 61%); m.p. 119–122 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 10.74 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.82–7.79 (m, 2H), 7.61–7.48 (m, 4H), 7.30–7.25 (m, 2H), 7.09 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 6.94 (td, *J* = 1, 7 Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 156.0, 148.33, 136.8, 130.1, 130.0, 129.5, 126.1, 120.9, 119.8, 117.9, 117.1, 113.7 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₁₄H₁₂N₃O [M + H]⁺ 238.0980; found 238.0973.

2-Iodo-*N*-phenylaniline **60**

2-Iodoaniline (1 g, 4.5 mmol, 1.0 eq.), CsF (1.2 g, 8.1 mmol, 1.8 eq.) and 2-(trimethylsilyl)phenyl trifluoromethanesulfonate (1.0 mL, 4.5 mmol, 1.0 eq.) were

introduced to a solution of MeCN (40 mL). The resulting mixture was stirred at r.t. for 16 h. Distilled water (10 mL) was added, and the organic compounds were extracted with CH₂Cl₂ (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (9:1) as eluent gave **60** (1.12 g, 84%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.77 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.35–7.29 (m, 2H), 7.22–7.19 (m, 2H), 7.13 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 2H), 7.063–7.01 (m, 1H), 6.65–6.59 (m, 1H), 5.91 (br s, 1H) ppm. Spectroscopic data consistent with those reported in the literature.

2-Ethynyl-*N*-phenylaniline **61**

2-Iodo-*N*-phenylaniline **60** (1 g, 3.39 mmol, 1 eq.), trimethylsilylacetylene (720 μL, 5.09 mmol, 1.5 eq.), copper(I) iodide (6 mg, 0.03 mmol, 0.01 eq.) and [Pd(PPh₃)₄] (20 mg, 0.017 mmol, 0.005eq.) was dissolved in a solution of HNEt₂ (2.5 mL) and DMF (1.5 mL). The resulting solution was stirred at r.t. for 1.5 h. Aqueous HCl (1 N) were added and the organic compounds were extracted with EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product. *N*-phenyl-2-((trimethylsilyl)ethynyl)aniline (3.39 mmol) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (1 M, 1.5 eq.) were dissolved in THF (10 mL). The resulting mixture was stirred at r.t. for 4 h. NH₄Cl (20 mL) was added, and the organic compounds were extracted with CH₂Cl₂ (3 × 20 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product **61**. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (95:5) as eluent gave compound **61** (600 mg, 92%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.45 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.36–7.30 (m, 2H), 7.24–7.21 (m, 4H), 7.07–7.02 (m, 1H), 6.81–6.76 (m, 1H), 6.47 (br, 1H), 3.47 (s, 1H) ppm. Spectroscopic data consistent with those reported in the literature.

N-Phenyl-2-(1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)aniline **62**

2-Ethynyl-*N*-phenylaniline **61** (194 mg, 1.00 mmol, 1.0 eq.) and azidobenzene (0.5 M in Me-THF, 2.0 mL, 1.00 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 0.5 mL). Sodium ascorbate (40 mg, 0.2 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (25 mg,

0.10 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 36 h. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **62** (212 mg, 68%); m.p. 114–121 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 9.17 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 7 Hz, 2H), 7.59–7.43 (m, 5H), 7.35–7.22 (m, 5H), 7.00 (t, *J* = 7 Hz, 1H), 6.92 (t, *J* = 8 Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 148.7, 142.6, 142.1, 137.0, 130.0, 129.4, 129.2, 129.1, 128.5, 121.8, 120.8, 120.1, 119.5, 118.5, 116.6, 116.4 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₂₀H₁₇N₄ [M + H]⁺ 313.1453; found 313.1462.

4-(4-(2-(Phenylamino)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)benzotrile **63**

2-Ethynyl-*N*-phenylaniline **61** (75 mg, 0.38 mmol, 1.0 eq.) and 4-azidobenzotrile **53** (56 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 0.5 mL). Sodium ascorbate (15 mg, 0.08 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (10 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 24 h. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **63** (81 mg, 62%); m.p. 139–145 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.82 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.96 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.33–7.20 (m, 5H), 7.01–6.91 (m, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 142.5, 142.2, 134.1, 129.7, 129.5, 128.6, 122.0, 120.8, 120.0, 119.8, 118.1, 117.1 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₂₁H₁₆N₅ [M + H]⁺ 338.1406; found 338.1395.

N,N-Dimethyl-4-(4-(2-(phenylamino)phenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)aniline **64**

2-Ethynyl-*N*-phenylaniline **61** (200 mg, 1.04 mmol, 1.0 eq.) and 4-azido-*N,N*-dimethylaniline **23** (168 mg, 1.04 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 0.5 mL). Sodium ascorbate (41 mg, 0.21 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (26 mg, 0.10 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred

at 65 °C for 20 h. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **64** (321 mg, 87%); m.p. 134–140 °C. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 9.26 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.60 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 7.55 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.32–7.19 (m, 5H), 6.99–6.87 (m, 2H), 6.81 (d, *J* = 9 Hz, 2H), 3.04 (s, 6H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 150.8, 148.3, 142.7, 142.0, 129.3, 128.9, 128.4, 126.6, 122.1, 121.7, 120.0, 119.3, 118.5, 116.7, 116.4, 112.4, 40.5 ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₂₂H₂₂N₅ [M + H]⁺ 356.1875; found 356.1887.

2-(1-(4,6-Dimethylpyrimidin-2-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-*N*-phenylaniline **65**

2-Ethynyl-*N*-phenylaniline **61** (75 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.) and 2-azido-4,6-dimethylpyrimidine **22** (58 mg, 0.39 mmol, 1.0 eq.) was added to a solution of *t*-BuOH–H₂O (1:1 v/v, 0.5 mL). Sodium ascorbate (15 mg, 0.08 mmol, 0.2 eq.) and CuSO₄·5H₂O (10 mg, 0.04 mmol, 0.1 eq.) were added to the solution. The resulting mixture was stirred at 65 °C for 3 d. Then, NH₄OH was added (5 mL), and the organic products were extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic layers were dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Purification by flash column chromatography on silica with petroleum ether–EtOAc (8:2) as eluent gave compound **65** (45 mg, 34%); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 8.85 (s, 1H), 7.62 (dd, *J* = 1, 8 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.32–7.21 (m, 5H), 7.11 (s, 1H), 6.99–6.88 (m, 2H) ppm. HRMS [TOF MS ES⁺]: calcd. for C₂₀H₁₉N₆ [M + H]⁺ 343.1671; found 343.1679.

Bibliographie

- [1] Valeur, B., *Invitation à la Fluorescence Moléculaire*; De Boeck Supérieur: 2004 (cit. on pp. 18, 20, 29).
- [2] Stokes, G. G. On the Change of Refrangibility of Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **1852**, *142*, 463–562 (cit. on p. 19).
- [3] Lakowicz, J., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*; Springer: 2006 (cit. on pp. 19, 45).
- [4] Paris, J. P.; Brandt, W. W. Charge Transfer Luminescence of a Ruthenium(II) Chelate. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5001–5002 (cit. on p. 22).
- [5] Dhami, S.; Mello, A. J. D.; Rumbles, G.; Bishop, S. M.; Phillips, D.; Beeby, A. Phthalocyanine Fluorescence at High Concentration: Dimers or Reabsorption Effect? *Photochem. Photobiol.* **1995**, *61*, 341–346 (cit. on p. 24).
- [6] Berezin, M. Y.; Achilefu, S. Fluorescence Lifetime Measurements and Biological Imaging. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2641–2684 (cit. on pp. 25, 34).
- [7] Broussard, J. A.; Rappaz, B.; Webb, D. J.; Brown, C. M. Fluorescence Resonance Energy Transfer Microscopy as Demonstrated by Measuring the Activation of the Serine/Threonine Kinase Akt. *Nature Protocols* **2013**, *8*, 265–281 (cit. on p. 28).
- [8] Lippert, E.; Rettig, W.; Bonacic-Koutecky, V.; Heisel, F.; Miehé, J. A. Photophysics of Internal Twisting. *Advances in Chemical Physics* **1987**, *LXVIII*, 1–173 (cit. on p. 31).
- [9] Lavis, L. D.; Raines, R. T. Bright Ideas for Chemical Biology. *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3*, 142–155 (cit. on p. 33).
- [10] Shimomura, O. Discovery of Green Fluorescent Protein (GFP) (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5590–5602 (cit. on p. 34).

- [11] Tsien, R. Y. Constructing and Exploiting the Fluorescent Protein Paintbox (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5612–5626 (cit. on pp. 34, 35).
- [12] Chalfie, M. GFP: Lighting Up Life (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5603–5611 (cit. on pp. 34, 35).
- [13] Cody, C. W.; Prasher, D. C.; Westler, W. M.; Prendergast, F. G.; Ward, W. W. Chemical Structure of the Hexapeptide Chromophore of the *Aequorea* Green-Fluorescent Protein. *Biochemistry* **1993**, *32*, 1212–1218 (cit. on p. 35).
- [14] Ormö, M.; Cubitt, A. B.; Kallio, K.; Gross, L. A.; Tsien, R. Y.; Remington, S. J. Crystal Structure of the *Aequorea victoria* Green Fluorescent Protein. *Science* **1996**, *273*, 1392–1395 (cit. on p. 35).
- [15] Kim, E.; Park, S. B. Chemistry as a Prism: A Review of Light-Emitting Materials Having Tunable Emission Wavelengths. *Chem. Asian J.* **2009**, *4*, 1646–1658 (cit. on p. 36).
- [16] Martin, R. E.; Diederich, F. Lineare Monodisperse π -konjugierte Oligomere: mehr als nur Modellverbindungen für Polymere. *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1440–1469 (cit. on p. 36).
- [17] Burroughes, J. H.; Bradley, D. D. C.; Brown, A. R.; Marks, R. N.; Mackay, K.; Friend, R. H.; Burns, P. L.; Holmes, A. B. Light-emitting Diodes Based on Conjugated Polymers. *Nature* **1990**, *347*, 539–541 (cit. on p. 36).
- [18] Nishizawa, T.; Lim, H. K.; Tajima, K.; Hashimoto, K. Highly Uniaxial Orientation in Oligo(*p*-phenylenevinylene) Films Induced During Wet-Coating Process. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2464–2465 (cit. on p. 37).
- [19] Liang, T.-T.; Naitoh, Y.; Horikawa, M.; Ishida, T.; Mizutani, W. Fabrication of Steady Junctions Consisting of α,ω -Bis(thioacetate) Oligo(*p*-phenylene vinylene)s in Nanogap Electrodes. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13720–13726 (cit. on p. 37).
- [20] Tajima, K.; Li, L.-S.; Stupp, S. I. Nanostructured Oligo(*p*-phenylene Vinylene)/Silicate Hybrid Films: One-Step Fabrication and Energy Transfer Studies. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5488–5495 (cit. on p. 37).

- [21] Albota, M.; Beljonne, D.; Brédas, J.-L.; Ehrlich, J. E.; Fu, J.-Y.; Heikal, A. A.; Hess, S. E.; Kogej, T.; Levin, M. D.; Marder, S. R.; McCord-Maughon, D.; Perry, J. W.; Rumi, M.; Subramaniam, G.; Webb, W. W.; Wu, X.-L.; Xu, C. Design of Organic Molecules with Large Two-Photon Absorption Cross Sections. *Science* **1998**, *281*, 1653–1656 (cit. on pp. 37, 55).
- [22] Jiu, T.; Li, Y.; Liu, H.; Ye, J.; Liu, X.; Jiang, L.; Yuan, M.; Li, J.; Li, C.; Wang, S.; Zhu, D. Brightly Full-Color Emissions of Oligo(*p*-phenylenevinylene)s: Substituent Effects on Photophysical Properties. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3168–3172 (cit. on p. 37).
- [23] Yamaguchi, Y.; Tanaka, T.; Kobayashi, S.; Wakamiya, T.; Matsubara, Y.; Yoshida, Z.-i. Light-Emitting Efficiency Tuning of Rod-Shaped π -Conjugated Systems by Donor and Acceptor Groups. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9332–9333 (cit. on p. 37).
- [24] Yamaguchi, Y.; Ochi, T.; Wakamiya, T.; Matsubara, Y.; Yoshida, Z.-i. New Fluorophores with Rod-Shaped Polycyano π -Conjugated Structures: Synthesis and Photophysical Properties. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 717–720 (cit. on p. 38).
- [25] Hwang, G. T.; Son, H. S.; Ku, J. K.; Kim, B. H. Novel Fluorophores: Efficient Synthesis and Photophysical Study. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2469–2471 (cit. on p. 38).
- [26] Hwang, G. T.; Son, H. S.; Ku, J. K.; Kim, B. H. Synthesis and Photophysical Studies of Bis-enediynes as Tunable Fluorophores. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11241–11248 (cit. on p. 38).
- [27] Montes, V. A.; Pohl, R.; Shinar, J.; Anzenbacher, P. Effective Manipulation of the Electronic Effects and Its Influence on the Emission of 5-Substituted *Tris*(8-quinolinolate) Aluminum(III) Complexes. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 4523–4535 (cit. on p. 39).
- [28] Sajoto, T.; Djurovich, P. I.; Tamayo, A.; Yousufuddin, M.; Bau, R.; Thompson, M. E.; Holmes, R. J.; Forrest, S. R. Blue and Near-UV Phosphorescence from Iridium Complexes with Cyclometalated Pyrazolyl or *N*-Heterocyclic Carbene Ligands. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 7992–8003 (cit. on p. 40).
- [29] Lamansky, S.; Djurovich, P.; Murphy, D.; Abdel-Razzaq, F.; Kwong, R.; Tsyba, I.; Bortz, M.; Mui, B.; Bau, R.; Thompson, M. E. Synthesis and Characterization

- of Phosphorescent Cyclometalated Iridium Complexes. *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 1704–1711 (cit. on p. 40).
- [30] Chen, C. H.; Shi, J. Metal Chelates as Emitting Materials for Organic Electroluminescence. *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *171*, 161–174 (cit. on p. 40).
- [31] Wang, S. Luminescence and Electroluminescence of Al(III), B(III), Be(II) and Zn(II) Complexes with Nitrogen Donors. *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *215*, 79–98 (cit. on p. 40).
- [32] Benson, R. C.; Kues, H. A. Absorption and Fluorescence Properties of Cyanine Dyes. *J. Chem. Eng. Data* **1977**, *22*, 379–383 (cit. on p. 41).
- [33] Fabian, J. Near-Infrared Absorbing Dyes. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1197–1226 (cit. on p. 41).
- [34] Kundu, K.; Knight, S. F.; Willett, N.; Lee, S.; Taylor, W. R.; Murthy, N. Hydrocyanines: A Class of Fluorescent Sensors That Can Image Reactive Oxygen Species in Cell Culture, Tissue, and In Vivo. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 299–303 (cit. on p. 42).
- [35] Lin, Y.; Weissleder, R.; Tung, C.-H. Novel Near-Infrared Cyanine Fluorochromes: Synthesis, Properties, and Bioconjugation. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 605–610 (cit. on p. 42).
- [36] Ando, S.; Nishida, J.-i.; Fujiwara, E.; Tada, H.; Inoue, Y.; Tokito, S.; Yamashita, Y. Novel *p*- and *n*-Type Organic Semiconductors with an Anthracene Unit. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 1261–1264 (cit. on p. 42).
- [37] Lu, Z.; Lord, S. J.; Wang, H.; Moerner, W. E.; Twieg, R. J. Long-Wavelength Analogue of PRODAN: Synthesis and Properties of Anthradan, a Fluorophore with a 2,6-Donor–Acceptor Anthracene Structure. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9651–9657 (cit. on p. 42).
- [38] Nerungsi, C.; Wanitchang, P.; Sahasithiwat, S.; Sadorn, K.; Kerdcharoen, T.; Thongpanchang, T. Organic electroluminescence devices based on anthracene sulfide derivatives. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6392–6395 (cit. on p. 43).
- [39] Tao, S.; Xu, S.; Zhang, X. Efficient blue organic light-emitting devices based on novel anthracene derivatives with pronounced thermal stability and excellent film-forming property. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *429*, 622–627 (cit. on p. 43).

- [40] Takadate, A.; Masuda, T.; Murata, C.; Tanaka, T.; Irikura, M.; Goya, S. Fluorescence Characteristics of Methoxycoumarins as Novel Fluorophores. *Anal. Sci.* **1995**, *11*, 97–101 (cit. on p. 43).
- [41] Takadate, A.; Masuda, T.; Murata, C.; Shibuya, M.; Isobe, A. Structural Features for Fluorescing Present in Methoxycoumatin Derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 256–260 (cit. on p. 43).
- [42] Murata, C.; Masuda, T.; Kamochi, Y.; Todoroki, K.; Yoshida, H.; Nohta, H.; Yamaguchi, M.; Takadate, A. Improvement of Fluorescence Characteristics of Coumarins: Syntheses and Fluorescence Properties of 6-Methoxycoumarin and Benzocoumarin Derivatives as Novel Fluorophores Emitting in the Longer Wavelength Region and Their Application to Analytical Reagents. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 750–758 (cit. on p. 44).
- [43] Roubinet, B.; Renard, P.-Y.; Romieu, A. New Insights into the Water-Solubilization of Thiol-Sensitive Fluorogenic Probes Based on Long-Wavelength 7-Hydroxycoumarin Scaffolds. *Dyes and Pigments* **2014**, in press (cit. on p. 44).
- [44] Fujikawa, Y.; Urano, Y.; Komatsu, T.; Hanaoka, K.; Kojima, H.; Terai, T.; Inoue, H.; Nagano, T. Design and Synthesis of Highly Sensitive Fluorogenic Substrates for Glutathione S-Transferase and Application for Activity Imaging in Living Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14533–14543 (cit. on p. 46).
- [45] Kobayashi, T.; Urano, Y.; Kamiya, M.; Ueno, T.; Kojima, H.; Nagano, T. Highly Activatable and Rapidly Releasable Caged Fluorescein Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6696–6697 (cit. on p. 46).
- [46] Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y. New Strategies for Fluorescent Probe Design in Medical Diagnostic Imaging. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 2620–2640 (cit. on p. 46).
- [47] Yoon, S.; Miller, E. W.; He, Q.; Do, P. H.; Chang, C. J. A Bright and Specific Fluorescent Sensor for Mercury in Water, Cells, and Tissue. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6658–6661 (cit. on p. 46).
- [48] Miura, T.; Urano, Y.; Tanaka, K.; Nagano, T.; Ohkubo, K.; Fukuzumi, S. Rational Design Principle for Modulating Fluorescence Properties of Fluorescein-Based Probes by Photoinduced Electron Transfer. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8666–8671 (cit. on p. 46).

- [49] Ueno, T.; Urano, Y.; Setsukinai, K.-i.; Takakusa, H.; Kojima, H.; Kikuchi, K.; Ohkubo, K.; Fukuzumi, S.; Nagano, T. Rational Principles for Modulating Fluorescence Properties of Fluorescein. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14079–14085 (cit. on p. 46).
- [50] Urano, Y.; Kamiya, M.; Kanda, K.; Ueno, T.; Hirose, K.; Nagano, T. Evolution of Fluorescein as a Platform for Finely Tunable Fluorescence Probes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4888–4894 (cit. on pp. 46, 47).
- [51] Egawa, T.; Koide, Y.; Hanaoka, K.; Komatsu, T.; Terai, T.; Nagano, T. Development of a Fluorescein Analogue, TokyoMagenta, as a Novel Scaffold for Fluorescence Probes in Red Region. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4162–4164 (cit. on p. 47).
- [52] Zhang, X.-F.; Zhang, J.; Liu, L. Fluorescence Properties of Twenty Fluorescein Derivatives: Lifetime, Quantum Yield, Absorption and Emission Spectra. *J. Fluoresc.* **2014**, *24*, 819–826 (cit. on p. 47).
- [53] Treibs, A.; Kreuzer, F.-H. Difluorboryl-Komplexe von Di- und Tripyrrylmethene. *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *718*, 208–223 (cit. on p. 48).
- [54] Schmitt, A.; Hinkeldey, B.; Wild, M.; Jung, G. Synthesis of the Core Compound of the BODIPY Dye Class: 4,4'-Difluoro-4-bora-(3a,4a)-diazas-indacene. *J. Fluoresc.* **2009**, *19*, 755–758 (cit. on p. 48).
- [55] Burghart, A.; Thoresen, L. H.; Chen, J.; Burgess, K.; Bergström, F.; Johansson, L. B. A. Energy Transfer Cassettes Based on BODIPY® Dyes. *Chem. Commun.* **2000**, 2203–2204 (cit. on p. 48).
- [56] Yogo, T.; Urano, Y.; Ishitsuka, Y.; Maniwa, F.; Nagano, T. Highly Efficient and Photostable Photosensitizer Based on BODIPY Chromophore. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12162–12163 (cit. on p. 48).
- [57] Boyer, J. H.; Haag, A. M.; Sathyamoorthi, G.; Soong, M.-L.; Thangaraj, K. Pyrromethene-BF₂ Complexes as Laser Dyes: 2. *Heteroatom Chem.* **1993**, *4*, 39–49 (cit. on p. 48).
- [58] Falk, H.; Hofer, O.; Lehner, H. Beiträge zur Chemie der Pyrrolpigmente, 1. Mitt.: Der Induzierte Circular dichroismus einiger Pyrromethen Derivate in cholesterischer Mesophase. *Monatshefte für Chemie* **1974**, *105*, 169–178 (cit. on p. 48).

- [59] Xiao, S.; Cao, Q.; Dan, F. Solid-Emissive BODIPY Derivatives: Design, Synthesis and Applications. *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 2970–2981 (cit. on p. 49).
- [60] Hong, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Aggregation-induced emission. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5361–5388 (cit. on p. 49).
- [61] Olivier, J.-H.; Widmaier, J.; Ziessel, R. Near-Infrared Fluorescent Nanoparticles Formed by Self-Assembly of Lipidic (Bodipy) Dyes. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 11709–11714 (cit. on p. 49).
- [62] Frath, D.; Massue, J.; Ulrich, G.; Ziessel, R. Luminescent Materials: Locking π -Conjugated and Heterocyclic Ligands with Boron(III). *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2290–2310 (cit. on p. 49).
- [63] Liddle, B. J.; Silva, R. M.; Morin, T. J.; Macedo, F. P.; Shukla, R.; Lindeman, S. V.; Gardinier, J. R. BORAZANs: Tunable Fluorophores Based on 2-(Pyrazolyl)aniline Chelates of Diphenylboron. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5637–5646 (cit. on p. 50).
- [64] Araneda, J. F.; Piers, W. E.; Heyne, B.; Parvez, M.; McDonald, R. High Stokes Shift Anilido-Pyridine Boron Difluoride Dyes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12214–12217 (cit. on pp. 50, 112, 121).
- [65] Anderson, S.; Weaver, M. S.; Hudson, A. J. Materials for Organic Electroluminescence: Aluminium vs. Boron. *Synth. Met.* **2000**, *111-112*, 459–463 (cit. on p. 50).
- [66] Riddle, J. A.; Lathrop, S. P.; Bollinger, J. C.; Lee, D. Schiff Base Route to Stackable Pseudo-Triphenylenes: Stereoelectronic Control of Assembly and Luminescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10986–10987 (cit. on p. 50).
- [67] Ekimov, A. I.; Onushchenko, A. A. Quantum Size Effect in Three-Dimensional Microscopic Semiconductor Crystals. *JETP Lett.* **1981**, *34*, 345–349 (cit. on p. 50).
- [68] Oliver, C.; Jamur, M. C., *Immunocytochemical Methods and Protocols*; Oliver, C., Jamur, M. C., Eds.; Springer: 2009 (cit. on p. 51).
- [69] Liz-Marzán, L. M.; Giersig, M.; Mulvaney, P. Synthesis of Nanosized Gold–Silica Core–Shell Particles. *Langmuir* **1996**, *12*, 4329–4335 (cit. on p. 51).
- [70] Bruchez Jr, M.; Moronne, M.; Gin, P.; Weiss, S.; Alivisatos, A. P. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. *Science* **2014**, *281*, 2013–2016 (cit. on p. 51).

- [71] Chan, W. C. W.; Nie, S. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. *Science* **2013**, *281*, 2016–2018 (cit. on p. 51).
- [72] Définition d’optoélectronique., <http://www.cnrtl.fr/definition/academie9/opto%C3%A9lectronique> (cit. on p. 51).
- [73] Göppert-Mayer, M. Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen. *Annalen der Physik* **1930**, 273–294 (cit. on p. 52).
- [74] Pawlicki, M.; Collins, H. A.; Denning, R. G.; Anderson, H. L. Two-Photon Absorption and the Design of Two-Photon Dyes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3244–3266 (cit. on pp. 52, 57, 58).
- [75] He, G. S.; Tan, L.-S.; Zheng, Q.; Prasad, P. N. Multiphoton Absorbing Materials: Molecular Designs, Characterizations, and Applications. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1245–1330 (cit. on pp. 52, 54, 58).
- [76] Maiman, T. H. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature* **1960**, *187*, 493–494 (cit. on p. 52).
- [77] Kaiser, W.; Garrett, C. Two-Photon Excitation in $\text{CaF}_2: \text{Eu}^{2+}$. *Phys. Rev. Lett.* **1961**, *7*, 229–231 (cit. on p. 52).
- [78] Peticolas, W. L.; Goldsborough, J. P.; Rieckhoff, K. E. Double Photon Excitation in Organic Crystals. *Phys. Rev. Lett.* **1963**, *10*, 43–45 (cit. on p. 55).
- [79] Chung, S.-J.; Zheng, S.; Odani, T.; Beverina, L.; Fu, J.; Padilha, L. A.; Biesso, A.; Hales, J. M.; Zhan, X.; Schmidt, K.; Ye, A.; Zojer, E.; Barlow, S.; Hagan, D. J.; Van Stryland, E. W.; Yi, Y.; Shuai, Z.; Pagani, G. A.; Brédas, J.-L.; Perry, J. W.; Marder, S. R. Extended Squaraine Dyes with Large Two-Photon Absorption Cross-Sections. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14444–14445 (cit. on p. 55).
- [80] Pond, S. J. K.; Rumi, M.; Levin, M. D.; Parker, T. C.; Beljonne, D.; Day, M. W.; Brédas, J.-L.; Marder, S. R.; Perry, J. W. One- and Two-Photon Spectroscopy of Donor–Acceptor–Donor Distyrylbenzene Derivatives: Effect of Cyano Substitution and Distortion from Planarity. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 11470–11480 (cit. on p. 55).

- [81] Beverina, L.; Fu, J.; Leclercq, A.; Zojer, E.; Pacher, P.; Barlow, S.; Van Stryland, E. W.; Hagan, D. J.; Brédas, J.-L.; Marder, S. R. Two-Photon Absorption at Telecommunications Wavelengths in a Dipolar Chromophore with a Pyrrole Auxiliary Donor and Thiazole Auxiliary Acceptor. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7282–7283 (cit. on p. 55).
- [82] Reinhardt, B.; Brott, L. L.; Clarson, S. J.; Dillard, A. G.; Bhatt, J. C.; Kannan, R.; Yuan, L.; He, G. S.; Prasad, P. N. Highly Active Two-Photon Dyes: Design, Synthesis, and Characterization toward Application. *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 1863–1874 (cit. on p. 55).
- [83] Kamman, R.; He, G. S.; Lin, T.-C.; Prasad, P. N.; Vaia, R. A.; Tan, L.-S. Toward Highly Active Two-Photon Absorbing Liquids. Synthesis and Characterization of 1,3,5-Triazine-Based Octupolar Molecules. *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 185–194 (cit. on p. 55).
- [84] Chung, S.-J.; Kim, K.-S.; Lin, T.-C.; He, G. S.; Swiatkiewicz, J.; Prasad, P. N. Cooperative Enhancement of Two-Photon Absorption in Multi-branched Structures. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10741–10745 (cit. on p. 55).
- [85] Katan, C.; Tretiak, S.; Werts, M. H. V.; Bain, A. J.; Marsh, R. J.; Leonczek, N.; Nicolaou, N.; Badaeva, E.; Mongin, O.; Blanchard-Desce, M. Two-Photon Transitions in Quadrupolar and Branched Chromophores: Experiment and Theory. *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 9468–9483 (cit. on p. 55).
- [86] Mongin, O.; Porrès, L.; Charlot, M.; Katan, C.; Blanchard-Desce, M. Synthesis, Fluorescence, and Two-Photon Absorption of a Series of Elongated Rodlike and Banana-Shaped Quadrupolar Fluorophores: A Comprehensive Study of Structure–Property Relationships. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 1481–1498 (cit. on p. 55).
- [87] Varnavski, O.; Yan, X.; Mongin, O.; Blanchard-Desce, M.; Goodson, T. Strongly Interacting Organic Conjugated Dendrimers with Enhanced Two-Photon Absorption. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 149–162 (cit. on p. 55).
- [88] Le Droumaguet, C.; Mongin, O.; Werts, M. H. V.; Blanchard-Desce, M. Towards “Smart” Multiphoton Fluorophores: Strongly Solvatochromic Probes for Two-Photon Sensing of Micropolarity. *Chem. Commun.* **2005**, 2802 (cit. on p. 55).

- [89] Porrès, L.; Mongin, O.; Katan, C.; Charlot, M.; Pons, T.; Mertz, J.; Blanchard-Desce, M. Enhanced Two-Photon Absorption with Novel Octupolar Propeller-Shaped Fluorophores Derived from Triphenylamine. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 47–50 (cit. on p. 55).
- [90] Ventelon, L.; Charier, S.; Moreaux, L.; Mertz, J.; Blanchard-Desce, M. Nanoscale Push-Pull Dihydrophenanthrene Derivatives as Novel Fluorophores for Two-Photon-Excited Fluorescence. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2098–12101 (cit. on p. 55).
- [91] Makarov, N. S.; Drobizhev, M.; Rebane, A. Two-Photon Absorption Standards in the 550–1600 nm Excitation Wavelength Range. *Opt. Express* **2008**, *16*, 4029–4047 (cit. on p. 56).
- [92] Senge, M. O.; Fazekas, M.; Notaras, E. G. A.; Blau, W. J.; Zawadzka, M.; Locos, O. B.; Ni Mhuirheartaigh, E. M. Nonlinear Optical Properties of Porphyrins. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 2737–2774 (cit. on p. 56).
- [93] Kurotobi, K.; Kim, K. S.; Noh, S. B.; Kim, D.; Osuka, A. A Quadruply Azulene-Fused Porphyrin with Intense Near-IR Absorption and a Large Two-Photon Absorption Cross Section. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3944–3947 (cit. on p. 56).
- [94] Tanaka, Y.; Saito, S.; Mori, S.; Aratani, N.; Shinokubo, H.; Shibata, N.; Higuchi, Y.; Yoon, Z. S.; Kim, K. S.; Noh, S. B.; Park, J. K.; Kim, D.; Osuka, A. Metalation of Expanded Porphyrins: A Chemical Trigger Used To Produce Molecular Twisting and Möbius Aromaticity. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 681–684 (cit. on p. 57).
- [95] Lim, J. M.; Yoon, Z. S.; Shin, J.-Y.; Kim, K. S.; Yoon, M.-C.; Kim, D. The Photophysical Properties of Expanded Porphyrins: Relationships Between Aromaticity, Molecular Geometry and Non-Linear Optical Properties. *Chem. Commun.* **2009**, 261 (cit. on p. 57).
- [96] Bhaskar, A.; Guda, R.; Haley, M. M.; Goodson Building Symmetric Two-Dimensional Two-Photon Materials. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13972–13973 (cit. on p. 57).
- [97] Wang, X.; Nguyen, D. M.; Yanez, C. O.; Rodriguez, L.; Ahn, H.-Y.; Bondar, M. V.; Belfield, K. D. High-Fidelity Hydrophilic Probe for Two-Photon Fluorescence Lysosomal Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12237–12239 (cit. on pp. 59, 97, 130).

- [98] Pond, S. J. K.; Tsutsumi, O.; Rumi, M.; Kwon, O.; Zojer, E.; Brédas, J.-L.; Marder, S. R.; Perry, J. W. Metal-Ion Sensing Fluorophores with Large Two-Photon Absorption Cross Sections: Aza-Crown Ether Substituted Donor–Acceptor–Donor Distyrylbenzenes. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9291–9306 (cit. on p. 59).
- [99] Kim, H. M.; Jeong, M.-Y.; Ahn, H. C.; Jeon, S.-J.; Cho, B. R. Two-Photon Sensor for Metal Ions Derived from Azacrown Ether. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5749–5751 (cit. on p. 59).
- [100] Ahn, H. C.; Yang, S. K.; Kim, H. M.; Li, S.; Jeon, S.-J.; Cho, B. R. Molecular two-photon sensor for metal ions derived from bis(2-pyridyl)amine. *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *410*, 312–315 (cit. on p. 59).
- [101] Sumalekshmy, S.; Henary, M. M.; Siegel, N.; Lawson, P. V.; Wu; Schmidt, K.; Brédas, J.-L.; Perry, J. W.; Fahrni, C. J. Design of Emission Ratiometric Metal-Ion Sensors with Enhanced Two-Photon Cross Section and Brightness. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11888–11889 (cit. on p. 59).
- [102] Kim, H. M.; Seo, M. S.; An, M. J.; Hong, J. H.; Tian, Y. S.; Choi, J. H.; Kwon, O.; Lee, K. J.; Cho, B. R. Two-Photon Fluorescent Probes for Intracellular Free Zinc Ions in Living Tissue. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5167–5170 (cit. on p. 59).
- [103] Huang, C.; Fan, J.; Peng, X.; Lin, Z.; Guo, B.; Ren, A.; Cui, J.; Sun, S. Highly Selective and Sensitive Twin-Cyano-Stilbene-Based Two-Photon Fluorescent Probe for Mercury (II) in Aqueous Solution with Large Two-Photon Absorption Cross-Section. *J. Photochem. Photobiol. A* **2008**, *199*, 144–149 (cit. on p. 59).
- [104] Ha Thi, M. H.; Penhoat, M.; Drouin, D.; Blanchard-Desce, M.; Michelet, V.; Leray, I. Synthesis, Fluorescence, and Two-Photon Absorption of Bidentate Phosphane Oxide Derivatives: Complexation with Pb²⁺ and Cd²⁺ Cations. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 5941–5950 (cit. on p. 59).
- [105] Liu, Z.-q.; Shi, M.; Li, F.-Y.; Fang, Q.; Chen, Z.-H.; Yi, T.; Huang, C.-H. Highly Selective Two-Photon Chemosensors for Fluoride Derived from Organic Boranes. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5481–5484 (cit. on p. 59).
- [106] Furuta, T.; Wang, S. S. H.; Dantzker, J. L.; Dore, T. M.; Bybee, W. J.; Callaway, E. M.; Denk, W.; Tsien, R. Y. Brominated 7-Hydroxycoumarin-4-Ylmethyls: Photolabile Protecting Groups with Biologically Useful Cross-Sections

- for Two Photon Photolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 1193–1200 (cit. on p. 60).
- [107] Matsuzaki, M.; Ellis-Davies, G. C. R.; Nemoto, T.; Miyashita, Y.; Iino, M.; Kasai, H. Dendritic Spine Geometry is Critical for AMPA Receptor Expression in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *Nat. Neurosci.* **2001**, *4*, 1086–1092 (cit. on p. 60).
- [108] Gug, S.; Charon, S.; Specht, A.; Alarcon, K.; Ogden, D.; Zietz, B.; Léonard, J.; Haacke, S.; Bolze, F.; Nicoud, J.-F.; Goeldner, M. Photolabile Glutamate Protecting Group with High One- and Two-Photon Uncaging Efficiencies. *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1303–1307 (cit. on p. 60).
- [109] Momotake, A.; Lindegger, N.; Niggli, E.; Barsotti, R. J.; Ellis-Davies, G. C. R. The Nitrodibenzofuran Chromophore: a New Caging Group for Ultra-Efficient Photolysis in Living Cells. *Nat. Methods* **2006**, *3*, 35–40 (cit. on p. 60).
- [110] Goodwin, A. P.; Mynar, J. L.; Ma, Y.; Fleming, G. R.; Fréchet, J. M. J. Synthetic Micelle Sensitive to IR Light via a Two-Photon Process. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9952–9953 (cit. on p. 60).
- [111] Brown, S. B.; Brown, E. A.; Walker, I. The Present and Future Role of Photodynamic Therapy in Cancer Treatment. *Lancet Oncol.* **2004**, *5*, 497–508 (cit. on p. 61).
- [112] Oar, M. A.; Dichtel, W. R.; Serin, J. M.; Fréchet, J. M. J.; Rogers, J. E.; Slagle, J. E.; Fleitz, P. A.; Tan, L.-S.; Ohulchanskyy, T. Y.; Prasad, P. N. Light-Harvesting Chromophores with Metalated Porphyrin Cores for Tuned Photosensitization of Singlet Oxygen via Two-Photon Excited FRET. *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 3682–3692 (cit. on p. 61).
- [113] Starkey, J. R.; Rebane, A. K.; Drobizhev, M. A.; Meng, F.; Gong, A.; Elliott, A.; McInnerney, K.; Spangler, C. W. New Two-Photon Activated Photodynamic Therapy Sensitizers Induce Xenograft Tumor Regressions after Near-IR Laser Treatment through the Body of the Host Mouse. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 6564–6573 (cit. on p. 61).
- [114] Kim, S.; Ohulchanskyy, T. Y.; Pudavar, H. E.; Pandey, R. K.; Prasad, P. N. Organically Modified Silica Nanoparticles Co-encapsulating Photosensitizing Drug and Aggregation-Enhanced Two-Photon Absorbing Fluorescent Dye Aggregates

- for Two-Photon Photodynamic Therapy. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2669–2675 (cit. on p. 61).
- [115] Arnbjerg, J.; Jiménez-Banzo, A.; Paterson, M. J.; Nonell, S.; Borrell, J. I.; Christiansen, O.; Ogilby, P. R. Two-Photon Absorption in Tetraphenylporphycenes: Are Porphycenes Better Candidates than Porphyrins for Providing Optimal Optical Properties for Two-Photon Photodynamic Therapy? *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5188–5199 (cit. on p. 61).
- [116] Beverina, L.; Crippa, M.; Landenna, M.; Ruffo, R.; Salice, P.; Silvestri, F.; Versari, S.; Villa, A.; Ciaffoni, L.; Collini, E.; Ferrante, C.; Bradamante, S.; Mari, C. M.; Bozio, R.; Pagani, G. A. Assessment of Water-Soluble π -Extended Squaraines as One- and Two-Photon Singlet Oxygen Photosensitizers: Design, Synthesis, and Characterization. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1894–1902 (cit. on p. 61).
- [117] Collins, H. A.; Khurana, M.; Moriyama, E. H.; Mariampillai, A.; Dahlstedt, E.; Balaz, M.; Kuimova, M. K.; Drobizhev, M.; Yang, V. X. D.; Phillips, D.; Rebane, A.; Wilson, B. C.; Anderson, H. L. Blood-Vessel Closure Using Photosensitizers Engineered for Two-Photon Excitation. *Nat. Photonics* **2008**, *2*, 420–424 (cit. on p. 61).
- [118] Kawata, S.; Sun, H.-B.; Tanaka, T.; Takada, K. Finer Features for Functional Microdevices. *Nature* **2001**, *412*, 697–698 (cit. on p. 62).
- [119] Ovsianikov, A.; Ostendorf, A.; Chichkov, B. N. Three-dimensional photofabrication with femtosecond lasers for applications in photonics and biomedicine. *Appl. Surf. Sci.* **2007**, *253*, 6599–6602 (cit. on p. 62).
- [120] Marder, S. R.; Brédas, J.-L.; Perry, J. W. Materials for Multiphoton 3D Microfabrication. *MRS Bull.* **2007**, *32*, 561–565 (cit. on p. 62).
- [121] Li, Y.-C.; Cheng, L.-C.; Chang, C.-Y.; Lien, C.-H.; Campagnola, P. J.; Chen, S.-J. Fast Multiphoton Microfabrication of Freeform Polymer Microstructures by Spatiotemporal Focusing And Patterned Excitation. *Opt. Express* **2012**, *20*, 19030–19038 (cit. on p. 62).
- [122] Harper, J. C.; Brozik, S. M.; Brinker, C. J.; Kaehr, B. Biocompatible Microfabrication of 3D Isolation Chambers for Targeted Confinement of Individual Cells and Their Progeny. *Anal. Chem.* **2012**, 8985–8989 (cit. on p. 62).

- [123] Walker, E.; Rentzepis, P. M. Two-Photon Technology : A New Dimension. *Nat. Photonics* **2008**, *2*, 406–408 (cit. on p. 63).
- [124] Belfield, K. D. FRET-Based Two Photon Three Dimensional Optical Data Storage. Patent, US 7,964,333 B1, 2011 (cit. on p. 63).
- [125] Takizawa, H.; Akiba, M.; Tani, T.; Kawamata, J.; Kobayashi, K.; Kawahara, K. Non-Resonant two-Photon Absorbing Material, Non-Resonant Two-Photon Emitting Material, Method for Inducing Absorption of Non-Resonant Two-Photons And Method for Generating Emission of Non-Resonant Two Photons. Patent, US 2004/0131969 A1, 2004 (cit. on p. 63).
- [126] Akiba, M.; Goto-Takahashi, E.; Takizawa, H.; Sasaki, T.; Mochizuki, H.; Mikami, T.; Kitahara, T. Two-photon Sensitized Recording Materials for Multi-layer Optical Disk. *Fujifilm Research Development* **2011**, *56*, 21–24 (cit. on p. 63).
- [127] Sasaki, T.; Mochizuki, H.; Mikami, T.; Kitahara, T.; Tsuyama, H.; Inoue, K. A Feasibility Study of 25 GB/Layer Dynamic Recording Using Two-Photon Material and Heat-Mode Bump Formation Method. *Jpn. J. Appl. Phys.* **2013**, *52*, 09LB01 (cit. on p. 63).
- [128] De Dreuille, O.; Maszelin, P.; Foehrenbac, H.; Bonardel, G.; Gaillard, J. F. Principe et Technique de la Tomographie par Émission de Positons (TEP). *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* **2002**, *35-310-A-10*, 1–22 (cit. on p. 64).
- [129] Semah, F.; Tamas, C.; Syrota, A. La Tomographie par Émission de Positons et ses Applications Cliniques. *STV* **2004**, *16*, 471–495 (cit. on p. 65).
- [130] Joyard, Y. Synthèse de nouveaux radiomarqueurs potentiels de l’hypoxie tumorale – Développement d’une nouvelle méthodologie de fluoration nucléophile et son application vers la synthèse du 2-[¹⁸F]Fluoro-2-désoxy-D-glucose., Ph.D. Thesis, **2013**, INSA de Rouen (cit. on p. 66).
- [131] Vogel, A.; Venugopalan, V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 577–644 (cit. on p. 68).
- [132] Cai, W.; Chen, K.; Li, Z. B.; Gambhir, S. S.; Chen, X. Dual-Function Probe for PET and Near-Infrared Fluorescence Imaging of Tumor Vasculature. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1862–1870 (cit. on pp. 68, 69).

- [133] Paudyal Dual Functional Molecular Imaging Probe Targeting CD20 with PET and Optical Imaging. *Oncology Reports* **2009**, *22*, 115–119 (cit. on p. 68).
- [134] Ranyuk, E.; Lebel, R.; Bérubé-Lauzière, Y.; Klarskov, K.; Lecomte, R.; van Lier, J. E.; Guérin, B. ^{68}Ga /DOTA- and ^{64}Cu /NOTA-Phthalocyanine Conjugates as Fluorescent/PET Bimodal Imaging Probes. *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 1624–1633 (cit. on p. 68).
- [135] Viehweger, K.; Barbaro, L.; García, K. P.; Joshi, T.; Geipel, G.; Steinbach, J.; Stephan, H.; Spiccia, L.; Graham, B. EGF Receptor-Targeting Peptide Conjugate Incorporating a Near-IR Fluorescent Dye and a Novel 1,4,7-Triazacyclononane-Based ^{64}Cu (II) Chelator Assembled via Click Chemistry. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 1011–1022 (cit. on p. 68).
- [136] Brand, C.; Abdel-Atti, D.; Zhang, Y.; Carlin, S.; Clardy, S. M.; Keliher, E. J.; Weber, W. A.; Lewis, J. S.; Reiner, T. In Vivo Imaging of GLP-1R with a Targeted Bimodal PET/Fluorescence Imaging Agent. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *in press* (cit. on p. 68).
- [137] Ducongé, F.; Pons, T.; Pestourie, C.; Hérin, L.; Thézé, B.; Gombert, K.; Mahler, B.; Hinnen, F.; Kühnast, B.; Dollé, F.; Dubertret, B.; Tavitian, B. Fluorine-18-Labeled Phospholipid Quantum Dot Micelles for in Vivo Multimodal Imaging from Whole Body to Cellular Scales. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 1921–1926 (cit. on p. 69).
- [138] Ting, R.; Aguilera, T. A.; Crisp, J. L.; Hall, D. J.; Eckelman, W. C.; Vera, D. R.; Tsien, R. Y. Fast ^{18}F Labeling of a Near-Infrared Fluorophore Enables Positron Emission Tomography and Optical Imaging of Sentinel Lymph Nodes. *Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 1811–1819 (cit. on p. 70).
- [139] Ramenda, T.; Kniess, T.; Bergmann, R.; Steinbach, J.; Wuest, F. Radiolabelling of Proteins with Fluorine-18 via Click Chemistry. *Chem. Commun.* **2009**, 7521 (cit. on p. 71).
- [140] Marchand, P.; Becerril-Ortega, J.; Mony, L.; Bouteiller, C.; Paoletti, P.; Nicole, O.; Barré, L.; Buisson, A.; Perrio, C. Confocal Microscopy Imaging of NR2B-Containing NMDA Receptors Based on Fluorescent Ifenprodil-Like Conjugates. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 21–26 (cit. on p. 71).

- [141] Denneval, C.; Achelle, S.; Baudequin, C.; Guen, F. R.-l. Prediction of photophysical properties of pyrimidine chromophores using Taguchi method. *Dyes and Pigments* **2014**, *110*, 49–55 (cit. on p. 72).
- [142] Martin, F.-A.; Baudequin, C.; Fiol-Petit, C.; Darabantu, M.; Ramondenc, Y.; Plé, N. Synthesis and Optical Properties of Multibranched and C3 Symmetrical Oligomers with Benzene or Triphenylamine Core and Diazines as Peripheral Groups. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 2546–2555 (cit. on p. 72).
- [143] Hadad, C.; Achelle, S.; López-Solera, I.; García-Martinez, J. C.; Rodríguez-López, J. Metal Cation complexation Studies of 4-Arylviny-2,6-di(pyridin-2-yl) Pyrimidines: Effect on the Optical Properties. *Dyes and Pigments* **2013**, *97*, 230–237 (cit. on p. 72).
- [144] Achelle, S.; Plé, N. Pyrimidine Ring as Building Block for the Synthesis of Functionalized π -Conjugated Materials. *Curr. Org. Synth.* **2012**, *9*, 163–187 (cit. on p. 72).
- [145] Achelle, S.; Plé, N.; Turck, A. Incorporation of Pyridazine Rings in the Structure of Functionalized π -Conjugated Materials. *RSC Adv.* **2011**, *1*, 364–388 (cit. on p. 72).
- [146] Achelle, S. Synthèse de nouveaux oligomères possédant un ou plusieurs motifs diaziniques : applications en tant que cristaux liquides et matériaux fluorescents., Ph.D. Thesis, **2007**, INSA de Rouen (cit. on pp. 72, 80).
- [147] Cornec, A.-S. Synthèse et relation structure-propriétés photophysiques de nouveaux fluorophores diaziniques obtenus par réactions de couplage croisé et “Click Chemistry”., Ph.D. Thesis, **2012**, Université de Rouen (cit. on pp. 73, 85, 115).
- [148] Cornec, A.-S.; Baudequin, C.; Fiol-Petit, C.; Plé, N.; Dupas, G.; Ramondenc, Y. One “Click” to Access Push-Triazole-Pull Fluorophores Incorporating a Pyrimidine Moiety: Structure-Photophysical Properties Relationships. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 1908–1915 (cit. on pp. 73, 85).
- [149] Katan, C.; Terenziani, F.; Mongin, O.; Werts, M. H. V.; Porrès, L.; Pons, T.; Mertz, J.; Tretiak, S.; Blanchard-Desce, M. Effects of (Multi)branching of Dipolar Chromophores on Photophysical Properties and Two-Photon Absorption. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 3024–3037 (cit. on p. 76).

- [150] Bhaskar, A.; Ramakrishna, G.; Lu, Z.; Twieg, R.; Hales, J. M.; Hagan, D. J.; Van Stryland, E.; Goodson, T. Investigation of Two-Photon Absorption Properties in Branched Alkene and Alkyne Chromophores. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11840–11849 (cit. on p. 76).
- [151] Qin, A.; Jim, C. K. W.; Lu, W.; Lam, J. W. Y.; Häussler, M.; Dong, Y.; Sung, H. H. Y.; Williams, I. D.; Wong, G. K. L.; Tang, B. Z. Click Polymerization: Facile Synthesis of Functional Poly(aryltriazole)s by Metal-Free, Regioselective 1,3-Dipolar Polycycloaddition. *Macromolecules* **2007**, *40*, 2308–2317 (cit. on p. 76).
- [152] Kim, K. S.; Noh, S. B.; Katsuda, T.; Ito, S.; Osuka, A.; Kim, D. Charge transfer induced enhancement of near-IR two-photon absorption of 5,15-bis(azulenylethynyl) zinc(ii) porphyrins. *Chem. Commun.* **2007**, 2479–2481 (cit. on p. 76).
- [153] Fakis, M.; Ftilis, I.; Stefanatos, S.; Vellis, P.; Mikroyannidis, J.; Giannetas, V.; Persephonis, P. The photophysics and two-photon absorption of a series of quadrupolar and tribranched molecules: The role of the edge substituent. *Dyes and Pigments* **2009**, *81*, 63–68 (cit. on p. 76).
- [154] Cheng, J.-Z.; Lin, C.-C.; Chou, P.-T.; Chaskar, A.; Wong, K.-T. Fluorene as the π -spacer for new two-photon absorption chromophores. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 734–739 (cit. on pp. 76, 78).
- [155] Ali Khan, M.; Mahon, M. F.; Lowe, J. P.; Stewart, A. J. W.; Lewis, S. E. Valuable New Cyclohexadiene Building Blocks from Cationic η 5-Iron-Carbonyl Complexes Derived from a Microbial Arene Oxidation Product. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 13480–13493 (cit. on p. 76).
- [156] Belfield, K. D.; Yao, S.; Bondar, M. V. Two-photon Absorbing Photonic Materials: From Fundamentals to Applications. *Adv. Polym. Sci.* **2008**, *213*, 97–156 (cit. on p. 77).
- [157] Peterson, J. J.; Simon, Y. C.; Coughlin, E. B.; Carter, K. R. Polyfluorene with *p*-Carborane in the Backbone. *Chem. Commun.* **2009**, 4950–4952 (cit. on p. 78).
- [158] Fisher, A. L.; Linton, K. E.; Kamtekar, K. T.; Pearson, C.; Bryce, M. R.; Petty, M. C. Efficient Deep-Blue Electroluminescence from an Ambipolar Fluorescent Emitter in a Single-Active-Layer Device. *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 1640–1642 (cit. on p. 78).

- [159] Traina, C. A.; Bakus II, R. C.; Bazan, G. C. Design and Synthesis of Monofunctionalized, Water-Soluble Conjugated Polymers for Biosensing and Imaging Applications. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12600–12607 (cit. on pp. 79, 99, 103, 130).
- [160] Vlád, G.; Horváth, I. T. Improved Synthesis of 2,2'-**Bipyrimidine**. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6550–6552 (cit. on p. 81).
- [161] Coad, P.; Coad, R. A.; Clough, S.; Hyepock, J.; Salisbury, R.; Wilkins, C. Nucleophilic Substitution at the Pyridazine Ring Carbons. I. Synthesis of Iodopyridazines. *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 218–221 (cit. on p. 81).
- [162] Achelle, S.; Plé, N.; Turck, A.; Bouillon, J.-P.; Portella, C. Synthesis of Aryltrifluoromethylpyridazines Application to the Synthesis of Rod-like Molecules as Liquid Crystals Diazines part 46. *J. Heterocyclic Chem.* **2006**, *43*, 1243–1249 (cit. on p. 81).
- [163] Novakova, V.; Miletin, M.; Kopecky, K.; Zimcik, P. Red-Emitting Dyes with Photophysical and Photochemical Properties Controlled by pH. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14273–14282 (cit. on p. 82).
- [164] Moldovan, S. O. Ingénierie de systèmes conjugués A- π -D diaziniques et évaluation de leurs propriétés optoélectroniques. Mélamines spirodendritiques à partir des amino-1,3-dioxanes sérinologiques énantiopures. Design, synthèse et analyse structurale., Ph.D. Thesis, **2012**, Université de Rouen, Faculté de Chimie et Génie Chimique de Cluj Napoca (cit. on pp. 82, 83).
- [165] Parent, M.; Mongin, O.; Kamada, K.; Katan, C.; Blanchard-Desce, M. New Chromophores from Click Chemistry for Two-Photon Absorption and Tuneable Photoluminescence. *Chem. Commun.* **2005**, 2029–2031 (cit. on p. 84).
- [166] Van Steenis, D. J. V. C.; David, O. R. P.; van Strijdonck, G. P. F.; van Maarseveen, J. H.; Reek, J. N. H. Click-Chemistry as an Efficient Synthetic Tool for the Preparation of Novel Conjugated Polymers. *Chem. Commun.* **2005**, 4333–4335 (cit. on pp. 85, 113).
- [167] Nilsson, L. I.; Ertan, A.; Weigelt, D.; Nolsöe, J. M. J. Copper-Catalyzed Alkyne Cycloaddition on Electron Deficient Azides via Tetrazolo[1,5-a]pyrimidines. *J. Heterocycl. Chem.* **2010**, *47*, 887–892 (cit. on p. 85).

- [168] Tao, C.-Z.; Cui, X.; Li, J.; Liu, A.-X.; Liu, L.; Guo, Q.-X. Copper-Catalyzed Synthesis of Aryl Azides and 1-Aryl-1,2,3-triazoles from Boronic Acids. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3525–3529 (cit. on p. 86).
- [169] Grimes, K.; Gupte, A.; Aldrich, C. Copper(II)-Catalyzed Conversion of Aryl/Heteroaryl Boronic Acids, Boronates, and Trifluoroborates into the Corresponding Azides: Substrate Scope and Limitations. *Synthesis* **2010**, *2010*, 1441–1448 (cit. on pp. 86, 116).
- [170] Denneval, C.; Moldovan, O.; Baudequin, C.; Achelle, S.; Baldeck, P.; Plé, N.; Darabantu, M.; Ramondenc, Y. Synthesis and Photophysical Properties of Push-Pull Structures Incorporating Diazines as Attracting Part with a Fluorene Core. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 5591–5602 (cit. on p. 89).
- [171] Belfield, K. D.; Bondar, M. V.; Frazer, A.; Morales, A. R.; Kachkovsky, O. D.; Mikhailov, I. A.; Masunov, A. E.; Przhonska, O. V. Fluorene-Based Metal-Ion Sensing Probe with High Sensitivity to Zn²⁺ and Efficient Two-Photon Absorption. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 9313–9321 (cit. on p. 97).
- [172] Nguyen, D. M.; Wang, X.; Ahn, H.-Y.; Rodriguez, L.; Bondar, M. V.; Belfield, K. D. Novel Hydrophilic Bis(1,2,3-triazolyl)fluorenyl Probe for In vitro Zinc Ion Sensing. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2*, 2978–2981 (cit. on pp. 97, 130).
- [173] Belfield, K. D.; Bondar, M. V.; Morales, A. R.; Yue, X.; Luchita, G.; Przhonska, O. V. Transient Excited-State Absorption and Gain Spectroscopy of a Two-Photon Absorbing Probe with Efficient Superfluorescent Properties. *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 11261–11271 (cit. on p. 98).
- [174] Hua, C.; Peng, S.-M.; Dong, C.-M. Synthesis and Characterization of Linear-Dendron-like Poly(ϵ -caprolactone)-*b*-poly(ethylene oxide) Copolymers via the Combination of Ring-Opening Polymerization and Click Chemistry. *Macromolecules* **2008**, *41*, 6686–6695 (cit. on p. 101).
- [175] Parrish, B.; Breitenkamp, R. B.; Emrick, T. PEG- and Peptide-Grafted Aliphatic Polyesters by Click Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7404–7410 (cit. on pp. 101, 103).
- [176] Liu, S.; Lin, T.-P.; Li, D.; Leamer, L.; Shan, H.; Li, Z.; Gabbai, F. P.; Conti, P. S. Lewis Acid-Assisted Isotopic ¹⁸F-¹⁹F Exchange in BODIPY Dyes: Facile Generation

- of Positron Emission Tomography/Fluorescence Dual Modality Agents for Tumor Imaging. *Theranostics* **2013**, *3*, 181–189 (cit. on p. 109).
- [177] Kubota, Y.; Hara, H.; Tanaka, S.; Funabiki, K.; Matsui, M. Synthesis and Fluorescence Properties of Novel Pyrazine–Boron Complexes Bearing a β -Iminoketone Ligand. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6544–6547 (cit. on p. 109).
- [178] Kubota, Y.; Ozaki, Y.; Funabiki, K.; Matsui, M. Synthesis and Fluorescence Properties of Pyrimidine Mono- and Bisboron Complexes. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 7058–7067 (cit. on pp. 109, 130).
- [179] Anderson, S.; Handy, S. One-Pot Double Suzuki Couplings of Dichloropyrimidines. *Synthesis* **2010**, *2010*, 2721–2724 (cit. on p. 110).
- [180] Clavier, S.; Rist, Ø.; Hansen, S.; Gerlach, L.-O.; Högberg, T.; Bergman, J. Preparation and Evaluation of Sulfur-Containing Metal Chelators. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4248–4253 (cit. on p. 112).
- [181] Coady, D. J.; Khramov, D. M.; Norris, B. C.; Tennyson, A. G.; Bielawski, C. W. Adapting *N*-Heterocyclic Carbene/Azide Coupling Chemistry for Polymer Synthesis: Enabling Access to Aromatic Polytriazenes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 5187–5190 (cit. on p. 113).
- [182] Karim, M. A.; Song, M.; Park, J. S.; Kim, Y. H.; Lee, M. J.; Lee, J. W.; Lee, C. W.; Cho, Y.-R.; Gal, Y.-S.; Lee, J. H.; Jin, S.-H. Development of Liquid Crystal Embedded in Polymer Electrolytes Composed of Click Polymers for Dye-Sensitized Solar Cell Applications. *Dyes and Pigments* **2010**, *86*, 259–265 (cit. on p. 113).
- [183] Pirali, T.; Gatti, S.; Di Brisco, R.; Tacchi, S.; Zaninetti, R.; Brunelli, E.; Massarotti, A.; Sorba, G.; Canonico, P. L.; Moro, L.; Genazzani, A. A.; Tron, G. C.; Billington, R. A. Estrogenic Analogues Synthesized by Click Chemistry. *ChemMedChem* **2007**, *2*, 437–440 (cit. on pp. 114, 115).
- [184] Hedouin, J. Étude de réactions de dérivés acétyléniques catalysées par le cuivre sous activation micro-ondes., MA thesis, Université de Rouen, **2014** (cit. on p. 115).
- [185] Babudri, F.; Cardone, A.; De Cola, L.; Farinola, G.; Kottas, G.; Martinelli, C.; Naso, F. Synthesis of Oligoarylenevinylenes with Fluorinated Double Bonds. *Synthesis* **2008**, *2008*, 1580–1588 (cit. on p. 115).

- [186] Cain, G. A.; Holler, E. R. Extended scope of in situ iodotrimethylsilane mediated selective reduction of benzylic alcohols. *Chem. Commun.* **2001**, 1168–1169 (cit. on p. 118).
- [187] Jung, M. E.; Lyster, M. A. Quantitative Dealkylation of Alkyl Ethers via Treatment with Trimethylsilyl Iodide. A New Method for Ether Hydrolysis. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3761–3764 (cit. on p. 118).
- [188] Buron, F.; Plé, N.; Turck, A.; Quéguiner, G. Synthesis of Pyrazine Alcaloids from Botryllusleachi. Diazines 43. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2616–2621 (cit. on p. 118).
- [189] Santra, M.; Moon, H.; Park, M.-H.; Lee, T.-W.; Kim, Y. K.; Ahn, K. H. Dramatic Substituent Effects on the Photoluminescence of Boron Complexes of 2-(Benzothiazol-2-yl)phenols. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 9886–9893 (cit. on p. 118).
- [190] Liu, Z.; Larock, R. C. Facile *N*-Arylation of Amines and Sulfonamides. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4673–4675 (cit. on p. 119).
- [191] Liu, Z.; Larock, R. C. Facile *N*-Arylation of Amines and Sulfonamides and *O*-Arylation of Phenols and Arenecarboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3198–3209 (cit. on p. 119).
- [192] Yoo, E. J.; Chang, S. A New Route to Indolines by the Cu-Catalyzed Cyclization Reaction of 2-Ethynylanilines with Sulfonyl Azides. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1163–1166 (cit. on p. 119).
- [193] Kim, S.-H.; Gwon, S.-Y.; Burkinshaw, S. M.; Son, Y.-A. The Synthesis and Proton-Induced Spectral Switching of a Novel Azine Dye and its Boron Complex. *Dyes and Pigments* **2010**, *87*, 268–271 (cit. on p. 121).
- [194] Ren, Y.; Liu, X.; Gao, W.; Xia, H.; Ye, L.; Mu, Y. Boron Complexes with Chelating Anilido-Imine Ligands: Synthesis, Structures and Luminescent Properties. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, *2007*, 1808–1814 (cit. on p. 121).
- [195] Pei, Q.; Yang, Y. Efficient Photoluminescence and Electroluminescence from a Soluble Polyfluorene. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7416–7417 (cit. on p. 130).
- [196] Puntoriero, F.; Nastasi, F.; Campagna, S.; Bura, T.; Ziessel, R. Vectorial Photoinduced Energy Transfer Between Boron-Dipyrrromethene (Bodipy) Chromophores Across a Fluorene Bridge. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 8832–8845 (cit. on p. 130).

- [197] Das, S. K.; Lim, C. S.; Yang, S. Y.; Han, J. H.; Cho, B. R. A Small Molecule Two-Photon Probe for Hydrogen Sulfide in Live Tissues. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8395–8397 (cit. on p. 130).
- [198] Sax, S.; Rugen-Penkalla, N.; Neuhold, A.; Schuh, S.; Zojer, E.; List, E. J. W.; Müllen, K. Efficient Blue-Light-Emitting Polymer Heterostructure Devices: The Fabrication of Multilayer Structures from Orthogonal Solvents. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2087–2091 (cit. on p. 130).
- [199] Huang, Y.-Q.; Fan, Q.-L.; Lu, X.-M.; Fang, C.; Liu, S.-J.; Yu-Wen, L.-H.; Wang, L.-H.; Huang, W. Cationic, Water-Soluble, Fluorene-Containing Poly(arylene ethynylene)s: Effects of Water Solubility on Aggregation, Photoluminescence Efficiency, and Amplified Fluorescence Quenching in Aqueous Solutions. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 5778–5794 (cit. on p. 130).
- [200] Huang, F.; Wang, X.; Wang, D.; Yang, W.; Cao, Y. Synthesis and Properties of a Novel Water-Soluble Anionic Polyfluorenes for Highly Sensitive Biosensors. *Polymer* **2005**, *46*, 12010–12015 (cit. on p. 130).

Résumé

L'objectif de ce travail a porté sur l'élaboration d'une sonde bimodale ADP-TEP (absorption à deux photons-tomographie par émission de positons) pour des applications en imagerie médicale.

Dans un premier temps, le projet a consisté en le design, la synthèse et l'évaluation des propriétés photophysiques d'une nouvelle série de chromophores diaziniques **A- π -D** (A : groupement électro-attracteur, π : lien conjugué, D : groupement électro-donneur). Des études de relation structure-propriétés photophysiques impliquant des modulations sur chacune des sous-structures (groupements A et D, lien π -conjugué) ont été réalisées puis étudiées en UV et en fluorescence. Suite à l'obtention de ces premiers résultats, des mesures d'absorption à deux photons ont été effectuées sur ces fluorophores.

Dans un second temps, les fluorophores ont été modifiés afin de greffer des parties hydrophiles. Des propriétés photophysiques encourageantes ont été obtenues et des premiers tests en imagerie bi-photonique ont été réalisés.

L'insertion du fluor radiomarqué est envisagée *via* l'insertion d'un groupement $-BF_2$. Pour cela des structures chélatantes, « mimes de BODIPY », incorporant une pyrimidine ou un triazole ont été élaborées. Des premiers essais ont été conduits mais n'ont pas permis l'obtention des composés borés correspondants.

Abstract

The purpose of this subject has been the synthesis of a bimodal probe using TPA-PET techniques for a potential application in biological imaging.

In this context, we have synthesized a new range of **A- π -D** fluorophores incorporating diazine (π -deficient heterocycle) as electron-withdrawing moiety, *N,N*-dimethylaniline as electron-donating part and fluorene as π -conjugated linker. In order to increase the conjugation along the scaffold, ethynyl and/or triazole bridges have been introduced on both sides of the fluorene. The UV/Vis and photoluminescence properties have been measured. Further to those results two-photon absorption cross-section of our fluorophores (δ_{TPA}) has been obtained.

Following these promising results, hydrophilic compounds using PEG groups have been prepared and photoluminescence properties have been carried out.

In order to use the boron center as a site for radiofluorination, the synthesis of "BODIPY-like" probes has been considered. A new series of pyrimidine and triazole ligand have been synthesized but the corresponding boron complexes haven't been obtained.