



HAL
open science

Synthèse et étude de récepteurs moléculaires fluorescents pour la détection de molécules neutres

Charlotte Remy

► **To cite this version:**

Charlotte Remy. Synthèse et étude de récepteurs moléculaires fluorescents pour la détection de molécules neutres. Chimie organique. Université Paris Saclay (COmUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLN070 . tel-01492941

HAL Id: tel-01492941

<https://theses.hal.science/tel-01492941>

Submitted on 20 Mar 2017

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.

NNT : 2016SACLN070

THESE DE DOCTORAT
DE
L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY
PREPAREE A
L'ECOLE NORMALE SUPERIEURE PARIS-SACLAY

ECOLE DOCTORALE N° 571
Sciences chimiques : molécules, matériaux, instrumentation et biosystèmes

Spécialité de doctorat : Chimie

Par

Mme Charlotte Rémy

Synthèse et étude de récepteurs moléculaires fluorescents pour la détection de
molécules neutres

Thèse présentée et soutenue à Cachan le 6 décembre 2016 :

Composition du Jury :

"

M, Mahy, Jean-Pierre	Professeur, Univ. Paris-Sud	Président
Mme, Gosse, Isabelle	Professeur, Univ. Bordeaux	Rapporteur
M, Mongin, Olivier	Maître de conférences, Univ. Rennes	Rapporteur
Mme, Renaud, Olivia	Professeur, Univ. Paris Descartes	Examinatrice
Mme, Leray, Isabelle	Directrice de recherche, ENS Paris-Saclay	Directrice de thèse
Mme, Allain, Clémence	Chargée de recherche, ENS Paris-Saclay	Co-encadrante de thèse



A mes grands-parents...

*« La sagesse, c'est d'avoir des rêves suffisamment grands pour ne pas les perdre de vue
lorsqu'on les poursuit »*

Oscar Wilde

Remerciements

Ces trois années de thèse se sont déroulées au laboratoire Photophysique et Photochimie Supramoléculaires et Macromoléculaires (PPSM) à l'ENS Paris-Saclay. Tout d'abord, j'adresse mes profonds remerciements au Professeur Keitaro Nakatani et à son successeur le Professeur Fabien Miomandre pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma plus sincère gratitude au Dr. Isabelle Leray, Directrice de Recherche au CNRS et au Dr. Clémence Allain, chargée de recherche au CNRS pour avoir encadré et guidé ce travail de thèse. Vos précieux conseils, votre disponibilité et votre écoute m'ont permis de mener à bien ce projet. J'ai beaucoup appris à vos côtés et j'ai été touchée par votre soutien et vos encouragements qui m'ont aidé à surmonter les aléas de la recherche. Merci encore pour votre gentillesse.

Je tiens ensuite à remercier vivement et chaleureusement les collaborateurs de l'Université Paris Descartes qui ont fortement contribué à ce projet : le Dr. Jean-Noël Rebilly, le Dr. Benoît Colasson et le Professeur Olivia Reinaud. J'ai d'abord eu la chance de vous rencontrer au cours de mes études. Vous m'avez confortée dans l'idée de faire de la recherche et ce fut un réel plaisir de travailler par la suite avec vous.

Je souhaite remercier l'ensemble des membres du jury pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture de ce manuscrit ainsi que pour la discussion passionnante que l'on a pu avoir pendant la soutenance : Isabelle Gosse, Professeur à l'Université de Bordeaux, Olivier Mongin, Maître de conférences à l'Université de Rennes 1, Olivia Reinaud, Professeur à l'Université Paris Descartes et Jean-Pierre Mahy, Professeur à l'Université Paris-Sud qui a accepté de présider ce jury.

Je remercie tous les membres de l'équipe SMALL ainsi que tous les membres du PPSM qui m'ont permis de m'épanouir professionnellement pendant la thèse dans la bonne humeur et la convivialité.

Un grand merci au Dr. Gilles Clavier pour son écoute, son expertise et pour les moments que l'on a partagés lors des «apéros terrasse».

Je souhaite remercier le Dr. Galina Dubacheva, Arnaud Brosseau et Jean-Frédéric Audibert pour l'aide que vous m'avez apportée au cours de ce projet ainsi que les stagiaires Emilie Lai, Lucile Marin, Ondine Picot et Timothé Maujean que j'ai eu le plaisir d'encadrer.

Merci aussi à tous les doctorants et autres post-doctorants que j'ai pu croiser pendant ces trois années de thèse et pour ne citer qu'eux : Cassandre Quinton, Laura Nodin, Julien Buendia, Jean-Pierre Placial, Alexis Depauw, Paul Rouschmeyer, Georges Mouchaham, Eva Jullien-Macchi, Naresh Kumar, Roopa, Jia Su, Yuan Li, Na Chen, Yang Si, Qui Pham-Xuan, Marine Louis et Etienne Barrez.

J'ai eu la chance par ailleurs d'effectuer une mission complémentaire d'enseignement aux départements de Chimie et de Physique de l'ENS Paris-Saclay. Merci au Professeur Juan Xie, au Dr. Cécile Dumas-Verdes, au Dr. Nicolas Bogliotti et au Dr. Jonathan Piard pour la confiance qu'ils m'ont accordée. Les diverses activités d'enseignement, d'animation et de vulgarisation scientifiques auxquelles j'ai pu participer ont été très réjouissantes et enrichissantes.

Je remercie vivement le Dr. Stéphane Maisonneuve, toujours disponible pour aider l'autre et l'écouter. Je n'oublierai pas tes nombreuses anecdotes dont toi seul as le secret.

Merci également à Jacky Fromont pour sa gentillesse, pour tout le temps consacré à résoudre mes problèmes informatiques et pour l'accueil qu'il m'a réservé au PPSM.

Je voudrais remercier chaleureusement et amicalement les membres des « 4C » : Claire, Clarisse et Corentin. J'ai été très heureuse de partager le même bureau avec vous. Je n'oublierai jamais tout le temps que l'on a passé ensemble au laboratoire mais aussi lors de nos diverses sorties.

Je profite de ces quelques lignes pour remercier tous mes ami(e)s qui m'accompagnent et notamment Caroline Chevalier pour son aide précieuse quant à la mise en forme du manuscrit.

Enfin, un grand merci à mes parents, à ma sœur et à toute ma famille pour leur bienveillance et leur soutien depuis toujours.

Table des matières

Liste des sigles et des abréviations.....	V
Introduction générale.....	IX
CHAPITRE 1 : DETECTION DE MOLECULES NEUTRES PAR FLUORESCENCE	5
I) ABSORPTION DE LUMIERE ET FLUORESCENCE. SONDAS FLUORESCENTES.	5
1.1) <i>Absorption UV-visible</i>	5
1.1.1) Niveaux d'énergie d'une molécule.....	5
1.1.2) Absorption de la lumière	6
1.2) <i>Emission de fluorescence</i>	7
1.2.1) Processus de désexcitation.....	7
1.2.2) Grandeurs caractéristiques.....	9
1.2.3) Solvatochromisme	12
1.3) <i>Utilisation de la fluorescence pour sonder des molécules</i>	13
1.3.1) Entités de reconnaissance	14
1.3.2) Effets photophysiques.....	22
1.4) <i>Fluorescence à l'état solide. AIE(E)</i>	40
II) ANALYTES CIBLES ET METHODES DE DETECTION EXISTANTES	41
2.1) <i>L'atrazine : un pesticide très efficace mais dangereux pour l'Homme et l'environnement</i>	41
2.1.1) Propriétés herbicides.....	41
2.1.2) Biodégradation de l'atrazine et contamination de l'environnement	42
2.1.3) Effets sur la santé	43
2.1.4) Méthodes actuelles de détection.....	44
2.2) <i>Utilisation de la mélamine dans l'industrie chimique et agroalimentaire</i>	49
2.2.1) Utilisation de la mélamine dans l'industrie chimique.....	49
2.2.2) Synthèse de dérivés alkylés de la mélamine	50
2.2.3) Scandale alimentaire et effets sur la santé	50
2.2.4) Méthodes actuelles de détection.....	51
2.3) <i>Détection des amines aliphatiques</i>	55
2.3.1) Importance des amines dans les milieux biologiques	55
2.3.2) Méthodes actuelles de détection.....	56
III) RECEPTEURS FLUORESCENTS ENVISAGES.....	62
3.1) « <i>Fluorophores à liaisons hydrogène</i> ».....	62
3.2) <i>Utilisation de calix[6]arène et de calix[4]arène</i>	67
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72

CHAPITRE 2 : CONCEPTION ET SYNTHESE DE SONDES FLUORESCENTES POUR LA DETECTION DE L'ATRAZINE ET DES DERIVES DE LA MELAMINE.....	79
I) CONCEPTION, SYNTHESE DES SONDES FLUORESCENTES ET MODELISATION MOLECULAIRE	79
1.1) <i>Conception et synthèses des sondes</i>	79
1.1.1) Conception et synthèse du dérivé MaleOMe	79
1.1.2) Conception et synthèse des composés de la famille des naphthalimides	82
1.1.3) Conception et synthèse des dérivés de l'acide barbiturique	90
1.1.4) Synthèse des dérivés de la mélamine.....	95
1.2) <i>Modélisation moléculaire des sondes</i>	96
1.2.1) Optimisation de la géométrie	97
1.2.2) Représentation des orbitales moléculaires	98
1.2.3) Interaction avec l'atrazine	101
II) PROPRIETES PHOTOPHYSIQUES DES SONDES FLUORESCENTES ET ETUDE DE L'INTERACTION AVEC LES ANALYTES PAR FLUORESCENCE	105
2.1) <i>Etudes photophysiques des sondes</i>	105
2.1.1) Propriétés photophysiques des sondes MaleOMe, Naphth-NHBU et Naphth-AlcyneOMe	105
2.1.2) Propriétés photophysiques de la sonde Naphth-TriazoleOMe	116
2.1.3) Effet du pH sur la fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe	124
2.1.4) Propriétés photophysiques des sondes TPA-BARB et DMAP-BARB	126
2.1.5) Effet du sel TBAF sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB	132
2.2) <i>Etudes avec les analytes</i>	133
2.2.1) Etude de détection des analytes par la sonde MaleOMe.....	134
2.2.2) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-NHBU	138
2.2.3) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-AlcyneOMe.....	140
2.2.4) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-TriazoleOMe.....	141
2.2.5) Etude RMN de l'interaction avec l'atrazine	142
2.2.6) Etude de détection des analytes par la sonde DMAP-BARB.....	145
2.2.7) Etude de détection des analytes par la sonde TPA-BARB.....	148
2.2.8) Etude de surface avec la sonde TPA-BARB.....	157
III) INTEGRATION DES SONDES DANS UN CALIX[4]ARENE	161
3.1) <i>Conception, synthèse et étude de la sonde modèle</i>	162
3.1.1) Synthèse de la sonde modèle Naphth-AlcyneOH	162
3.1.2) Etude photophysique des sondes modèles	169
3.2) <i>Synthèse des calix[4]arènes</i>	171
3.2.1) Synthèse du calix[4]arène-couronne-5-iodé (composé 88)	172
3.2.2) Synthèse du calix[4]arène-couronne-6-iodé	174
3.2.3) Couplages avec les calix[4]arènes iodés	174
3.2.4) Synthèse de Butyl-Naphth-AlcyneH	176
3.2.5) Couplage de Butyl-Naphth-AlcyneH avec le calix[4]arène-couronne-6 iodé.....	177
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	179

CHAPITRE 3 : DETECTION DES AMINES ALIPHATIQUES PAR FLUORESCENCE.....	187
I) SYNTHÈSE ET ÉTUDE DU COMPOSÉ MODÈLE	187
1.1) <i>Choix du fluorophore</i>	187
1.2) <i>Synthèse du composé modèle</i>	189
1.3) <i>Propriétés photophysiques</i>	191
1.4) <i>Complexation de l'ion zinc Zn²⁺</i>	192
1.4.1) <i>Modulation de l'absorption</i>	192
1.4.2) <i>Modulation de la fluorescence</i>	193
II) SYNTHÈSE ET ÉTUDE DU CALIXARÈNE FONCTIONNALISÉ PAR DES LIGANDS FLUORESCENTS	194
2.1) <i>Synthèse du calix[6]arène</i>	194
2.2) <i>Propriétés photophysiques du calix[6]arène Calix-Quino</i>	195
2.3) <i>Complexation de l'ion Zn²⁺</i>	196
2.3.1) <i>Modulation de l'absorption</i>	196
2.3.2) <i>Modulation de la fluorescence</i>	198
III) COMPLEXATION DES AMINES.....	199
3.1) <i>Réponse fluorescente du complexe zincique mononucléaire en présence de l'heptylamine</i>	200
3.2) <i>Réponse fluorescente du complexe dizincique en présence de l'heptylamine..</i>	201
3.3) <i>Réponse fluorescente du complexe monozincique en présence d'autres amines aliphatiques</i>	202
IV) ÉTUDES RMN.....	206
4.1) <i>Étude de coordination de l'ion Zn²⁺</i>	206
4.2) <i>Formation du complexe dinucléaire</i>	208
4.3) <i>Encapsulation de l'heptylamine</i>	209
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	212
Conclusion générale.....	215
Partie expérimentale.....	221

Liste des sigles et des abréviations

Solvants et réactifs :

TFA :	acide trifluoroacétique
CDCl ₃ :	chloroforme deutéré
BTMA·ICl ₂ :	dichloriodure de benzyltriméthylammonium
DCM :	dichlorométhane
DMAP :	4-diméthylaminopyridine
DMF :	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMSO :	diméthylsulfoxyde
EtOH :	éthanol
TBAF :	fluorure de tétra- <i>n</i> -butylammonium
THF :	tétrahydrofurane
Boc :	<i>tert</i> -butoxycarbone

Méthodes, techniques et caractérisations :

CCM :	chromatographie sur couche mince
DFT :	density functional theory (théorie de la fonctionnelle de la densité en français)
ESI :	ionisation par électrospray
HR-MS :	spectroscopie de masse haute résolution
MS :	spectrométrie de masse
RMN :	résonance magnétique nucléaire
TD-DFT :	time-dependent density functional theory (théorie de la densité fonctionnelle dépendant du temps en français)
UV :	ultra-violet
UV-Vis :	ultra-violet et visible

Unités :

A :	absorbance
Å :	Ångström
°C :	degré Celsius
eV :	électron-volt
g :	gramme
h :	heure
Hz :	hertz
M :	mol/L
MHz :	mégahertz
mg :	milligramme
min :	minute
mL :	millilitre
mM :	millimoles par litre
mmol :	millimole

nm :	nanomètre
ns :	nanoseconde
ppm :	partie par million
s :	seconde
u.a	unité arbitraire
μM :	micromoles par litre

Abréviations et symboles :

abs :	absorption
AIE :	aggregation-induced emission (émission induite par agrégation en français)
AIEE :	aggregation-induced enhanced emission (exaltation de l'émission induite par agrégation en français)
Ar :	aryle
BV :	orbitale moléculaire la plus basse vacante
C :	concentration
d :	doublet
dd :	doublet de doublet
E :	potentiel
em :	émission
éq. :	équivalent
ET :	energy transfer (transfert d'énergie en français)
exc :	excitation
FRET :	Förster resonance energy transfer (transfert d'énergie par résonance de type Förster en français)
HO:	orbitale moléculaire la plus haute occupée
I :	intensité
ICT :	intramolecular charge transfer (transfert de charge intramoléculaire en français)
ISC :	croisement inter-système
J :	constante de couplage
LE :	localement excité
m :	multiplet
Me :	méthyle
MIP :	molecular imprinted polymer (polymère à empreinte moléculaire en français)
NTO	natural transition orbitals (orbitales de transition naturelles en français)
PCT :	photoinduced charge transfer (transfert de charge photoinduit en français)
PET :	photoinduced electron transfer (transfert d'électron photoinduit en français)
q :	quadruplet
s :	singulet
ta :	température ambiante
t :	triplet

Introduction générale

Introduction générale

La détection de molécules toxiques pour l'Homme et son environnement est d'une importance cruciale et fait partie des préoccupations majeures de la société actuelle. Les résidus de pesticide tels que l'atrazine ainsi que la mélamine font notamment partie de ces molécules dangereuses pour la santé humaine.

L'atrazine dont les propriétés ont été découvertes dans les années 1960 a été un herbicide largement utilisé pendant des décennies pour l'agriculture au niveau mondial. Elle est désormais interdite d'utilisation par l'Union Européenne depuis 2001 en raison de sa toxicité¹. La mélamine a quant à elle été introduite dans de nombreux produits alimentaires mais peut induire à fortes doses des pathologies du rein pouvant aller jusqu'à la mort chez les nourrissons et les enfants^{2,3}.

Ces deux molécules sont principalement dosées par la spectrométrie de masse, la chromatographie et l'électrochimie qui nécessitent des appareillages lourds et coûteux qui ne sont utilisables qu'en laboratoire. Peu d'exemples de détection de molécules neutres par fluorescence ont été reportés dans la littérature. Les méthodes fluorimétriques offrent pourtant de nombreux avantages tels que la sensibilité, la sélectivité et un faible coût. La variation de la fluorescence en fonction de la concentration en analyte conduit à une détection quantitative de ce dernier. Pour ce faire, il est nécessaire de concevoir et de développer de nouvelles sondes moléculaires fluorescentes en fonction de l'analyte à détecter.

De même, la détection des amines biogéniques représente un intérêt sociétal. Ces dernières proviennent de la décarboxylation des acides aminés, de l'amination ou de la transamination d'aldéhydes ou de cétones. Elles sont aussi produites par des bactéries durant la décarboxylation des acides aminés dans les cellules. La détection des amines biogéniques permet ainsi d'évaluer la contamination microbiologique d'un aliment et la dégradation potentielle d'un aliment. Des taux élevés en amines biogéniques peuvent se retrouver dans les produits alimentaires et causer des nausées, des maux de têtes et des modifications de la tension artérielle. Elles sont dosées par chromatographie en phase liquide ou en phase gaz, par électrochromatographie capillaire et par spectroscopie UV-visible. Quelques exemples de

¹ Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000.

² J. R. Ingelfinger, *N. Engl. J. Med.*, **2008**, *26*, 2745–2748.

³ N. Guan, Q. F. Fan, J. Ding, Y. M. Zhao, J. Q. Lu, Y. Ai, G. B. Xu, S. N. Zhu, C. Yao, L. N. Jiang, J. Miao, H. Zhang, D. Zhao, X. Y. Liu and Y. Yao, *N. Engl. J. Med.*, **2009**, *360*, 1067–1074.

détection par fluorescence ont déjà été décrits dans la littérature^{4,5} mais la nécessité de développer de nouveaux récepteurs fluorescents efficaces est bien réelle.

De nombreuses sondes fluorescentes capables de détecter des métaux lourds ont été développées au laboratoire PPSM. Cependant, la détection de molécules neutres par fluorescence représente un défi supplémentaire en raison de la nature plus faible de l'interaction, comparée à celle entre espèces chargées. Malgré cette difficulté, les sondes moléculaires doivent non seulement présenter une forte affinité avec l'analyte mais cette interaction doit aussi induire des modifications des effets photophysiques suffisamment importantes pour permettre la détection de ce dernier par fluorescence.

Cette thèse a porté sur la conception, la synthèse organique et les études photophysiques de sondes moléculaires fluorescentes pour la détection d'atrazine, de mélamine et d'amines biogéniques.

Le manuscrit de cette thèse est composé des trois chapitres suivants :

- le **Chapitre 1** rappelle les principaux concepts théoriques de photophysique auxquels nous ferons appel dans ce manuscrit. Nous présenterons également les analytes cibles ainsi que les méthodes de détection existantes. Nous discuterons ensuite des récepteurs fluorescents que nous avons envisagés de développer pour la détection des divers analytes cibles.
- le **Chapitre 2** traitera de la détection de l'atrazine, de ses produits de dégradation et des dérivés de la mélamine. Des fluorophores à transfert de charge capables d'interagir par liaisons hydrogène ont été conçus afin que l'interaction avec l'analyte module le transfert de charge intramoléculaire et conduise ainsi à sa détection. Nous aborderons la conception, la synthèse et la modélisation moléculaire des sondes fluorescentes synthétisées en ce sens avant d'évaluer la capacité des sondes à détecter les analytes choisis. Des sondes dérivées de la molécule de maléimide, de naphthalimide et de l'acide barbiturique seront ainsi successivement présentées.

⁴ N. L. Strutt, R. S. Forgan, J. M. Spruell, Y. Y. Botros, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *70*, 5668–5671.

⁵ H. Bakirci, W. M. Nau, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16*, 237–242.

- le **Chapitre 3** se concentrera sur la détection des amines aliphatiques. Un calix[6]arène fonctionnalisé par des fluorophores a été synthétisé dans ce but. L'encapsulation de l'amine invitée dans la cavité de ce macrocycle doit modifier la fluorescence des sondes greffées sur le calixarène. La synthèse des sondes fluorescentes (composé modèle et calix[6]arène) sera développée puis la complexation et la détection des amines par le calix[6]arène seront décrites. Enfin, les études RMN de ces sondes permettant de confirmer les résultats obtenus seront détaillées.

Chapitre 1 : Détection de molécules neutres par fluorescence

CHAPITRE 1 : DETECTION DE MOLECULES NEUTRES PAR FLUORESCENCE.....	5
I) ABSORPTION DE LUMIERE ET FLUORESCENCE. SONDAS FLUORESCENTES.	5
1.1) <i>Absorption UV-visible</i>	5
1.1.1) Niveaux d'énergie d'une molécule	5
1.1.2) Absorption de la lumière	6
1.2) <i>Emission de fluorescence</i>	7
1.2.1) Processus de désexcitation	7
1.2.2) Grandeurs caractéristiques	9
1.2.3) Solvatochromisme	12
1.3) <i>Utilisation de la fluorescence pour sonder des molécules</i>	13
1.3.1) Entités de reconnaissance	14
1.3.2) Effets photophysiques	22
1.4) <i>Fluorescence à l'état solide. AIE(E)</i>	40
II) ANALYTES CIBLES ET METHODES DE DETECTION EXISTANTES	41
2.1) <i>L'atrazine : un pesticide très efficace mais dangereux pour l'Homme et l'environnement</i>	41
2.1.1) Propriétés herbicides	41
2.1.2) Biodégradation de l'atrazine et contamination de l'environnement.....	42
2.1.3) Effets sur la santé	43
2.1.4) Méthodes actuelles de détection	44
2.2) <i>Utilisation de la mélamine dans l'industrie chimique et agroalimentaire</i>	49
2.2.1) Utilisation de la mélamine dans l'industrie chimique	49
2.2.2) Synthèse de dérivés alkylés de la mélamine	50
2.2.3) Scandale alimentaire et effets sur la santé	50
2.2.4) Méthodes actuelles de détection	51
2.3) <i>Détection des amines aliphatiques</i>	55
2.3.1) Importance des amines dans les milieux biologiques	55
2.3.2) Méthodes actuelles de détection	56
III) RECEPTEURS FLUORESCENTS ENVISAGES	62
3.1) « <i>Fluorophores à liaisons hydrogène</i> »	62
3.2) <i>Utilisation de calix[6]arène et de calix[4]arène</i>	67
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	72

Chapitre 1 : Détection de molécules neutres par fluorescence

I) Absorption de lumière et fluorescence. Sondes fluorescentes.

1.1) Absorption UV-visible

1.1.1) Niveaux d'énergie d'une molécule

Les orbitales moléculaires HO (pour Haute Occupée) et BV (pour Basse Vacante) sont les orbitales les plus importantes à prendre en compte lors des phénomènes d'absorption et de fluorescence. L'orbitale HO est l'orbitale occupée la plus haute en énergie tandis que l'orbitale BV est l'orbitale inoccupée la plus basse en énergie. Une transition électronique consiste à promouvoir un électron d'une orbitale d'une molécule à l'état fondamental vers une orbitale inoccupée en absorbant un photon. La molécule est dite alors à l'état excité.

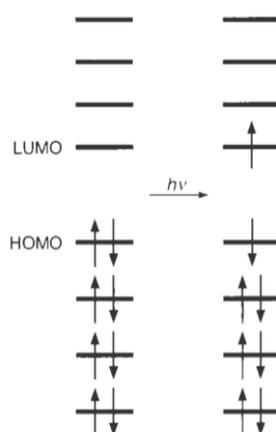


Figure 1- 1 : Principe de l'excitation

Quand l'absorption d'un photon permet le passage d'un électron de l'orbitale π vers l'orbitale antiliante π^* , il s'agit alors d'une transition $\pi - \pi^*$. La transition $\sigma - \sigma^*$ qui consiste à promouvoir un électron σ nécessite une énergie beaucoup plus élevée et ne sera pas traitée dans ce manuscrit. Les transitions $n - \pi^*$ sont caractérisées par la promotion d'un électron d'un doublet non liant appartenant à un hétéroatome vers l'orbitale antiliante π^* .

Les énergies des transitions électroniques sont classées généralement dans cet ordre :

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

Deux règles de sélection régissent les transitions entre les niveaux d'énergie d'une molécule :

- (1) les niveaux ont la même multiplicité de spin. Malgré cela, la probabilité de transition entre un état singulet et un état triplet n'est pas rigoureusement nulle à cause du couplage spin-orbite
- (2) les transitions entre états électroniques possédant la même symétrie sont interdites. Cependant, celles-ci sont rendues possibles grâce au couplage entre les niveaux électroniques et les niveaux vibrationnels (appelé couplage vibronique).

1.1.2) Absorption de la lumière

La capacité des molécules de soluté à absorber la lumière dans une solution à une longueur d'onde λ est définie par l'absorbance $A(\lambda)$ qui suit la loi de Beer-Lambert :

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \varepsilon(\lambda)lc$$

Equation 1- 1

où I_{λ}^0 et I_{λ} représentent respectivement l'intensité de lumière incidente et de la lumière transmise, ε le coefficient d'absorption molaire, l la longueur du trajet optique et c la concentration en espèces absorbantes.

Si plusieurs molécules absorbantes sont présentes en solution, l'absorbance totale à une longueur d'onde sera la somme des absorbances de chaque molécule à cette longueur d'onde. Il existe ainsi une relation linéaire entre l'absorbance et la concentration de l'espèce absorbante. L'absorption d'un photon UV ou visible induit des transitions $\pi - \pi^*$ ou $n - \pi^*$. Comme les transitions $n - \pi^*$ sont en général interdites par symétrie, les coefficients d'absorption molaire prennent dans ce cas des valeurs assez faibles ($\varepsilon \approx 10^2-10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Les valeurs de ε sont beaucoup plus hautes pour les transitions permises $\pi - \pi^*$ ($\varepsilon \approx 10^4-10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

L'absorption d'un photon peut se faire seulement si l'énergie de ce dernier est au moins aussi élevée que la différence d'énergie entre l'état fondamental S_0 et l'état excité S_1 de la molécule¹. Selon le principe de Franck-Condon, les noyaux restent immobiles pendant la transition électronique. L'état atteint est appelé état Franck-Condon. La figure **1-2** schématise les courbes de potentiels des niveaux électroniques d'une molécule en fonction de la distance

des noyaux. La transition la plus probable a lieu à la verticale dans le diagramme de Morse c'est-à-dire à distance internucléaire fixe. Si la géométrie de l'état excité est proche de l'état fondamental, la transition la plus probable sera la transition $S_0, v = 0 \rightarrow S_1, v = 0$. Cette transition est la plus faible en énergie. Si les géométries de S_0 et S_1 sont différentes, la transition se produit entre les états $S_0, v = 0$ et $S_1, v \neq 0$. Des transitions vers d'autres niveaux vibrationnels de l'état S_1 sont aussi possibles mais avec des intensités moindres. La molécule peut aussi passer dans un état $S_n, n > 1$ par absorption d'un photon. Le spectre d'absorption reflète donc la somme de toutes les composantes de chaque transition électronique.

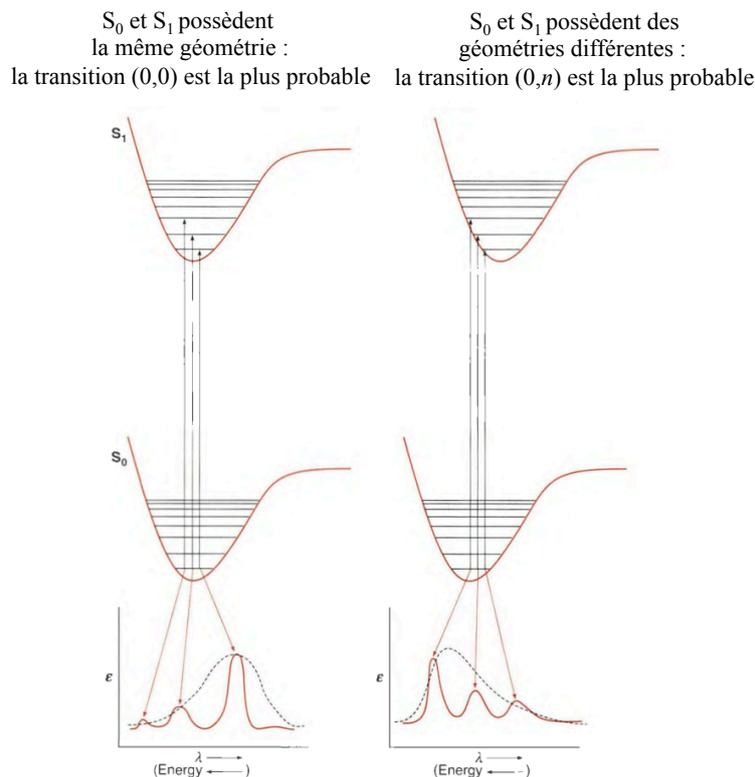


Figure 1- 2 : Absorption de la lumière conduisant à la transition $S_0 \rightarrow S_1$. *A gauche* : les deux états ont des géométries similaires facilitant la transition (0,0), *à droite* : l'excitation induit un changement de géométrie facilitant la transition (0, n). Figure adaptée de la référence 2.

1.2) Emission de fluorescence

1.2.1) Processus de désexcitation

Les principaux processus qui suivent l'absorption d'un photon par une molécule sont rassemblés dans le diagramme de Perrin-Jablonski² (voir figure 1-3) à savoir : la conversion interne, la fluorescence, le croisement inter-système, la phosphorescence. L'absorption est très rapide ($\approx 10^{-15}$ s) par rapport aux autres processus.

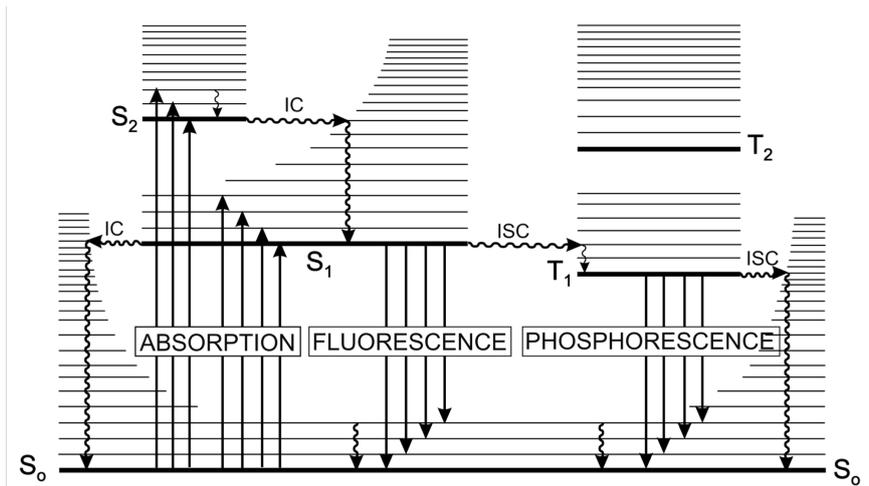


Figure 1-3 : Diagramme de Perrin-Jablonski. Figure issue de la référence 1.

➤ Conversion interne

La conversion interne est une désexcitation non radiative entre deux états électroniques de même multiplicité de spin. Le recouvrement entre les niveaux vibrationnels de S₂ et de S₁ est plus important qu'entre ceux de S₁ et S₀. La conversion interne est ainsi plus favorable de S₂ vers S₁ que de S₁ vers S₀. C'est une transition non radiative se produisant sur une échelle de temps de 10⁻¹² à 10⁻¹⁰ secondes.

➤ Fluorescence

L'émission d'un photon lors de la relaxation S₁ → S₀ correspond à la fluorescence. Dans de rares exceptions, la fluorescence est émise depuis l'état S_n, ce qui correspond alors à la relaxation S_n → S₀. La relaxation vibrationnelle se produisant à l'état excité entraîne une perte d'énergie. Le spectre de fluorescence est situé à des longueurs d'onde plus élevées que le spectre d'absorption. La molécule fluorescente est alors caractérisée par le temps qu'elle met à se relaxer. Il s'agit de la durée de vie de fluorescence comprise la plupart du temps entre 10⁻¹⁰ et 10⁻⁷ secondes.

➤ Croisement inter-système

Le croisement inter-système est une voie de désexcitation non radiative de l'état singulet S₁ vers l'état triplet T₁. S'il est assez rapide (10⁻⁷-10⁻⁹ s), il est alors compétitif des

autres processus de désexcitation depuis l'état S_1 tels que la fluorescence et la conversion interne. La probabilité de croisement inter-système dépend des états singulet et triplet impliqués. Elle augmente notamment en présence d'atomes lourds (Br, I,...) pour lesquels le couplage spin-orbite est favorisé.

➤ Phosphorescence

La transition radiative à partir de l'état triplet $T_1 \rightarrow S_0$ est appelée phosphorescence. Elle s'observe plutôt à basse température plusieurs secondes (voire quelques minutes) après l'excitation si la durée de vie de l'état triplet est assez longue. Pour une solution à température ambiante, la désexcitation non radiative depuis l'état T_1 prédomine sur la phosphorescence en raison de la lenteur du processus due au caractère interdit de la transition $T_1 \rightarrow S_0$. Le spectre de phosphorescence est situé à des longueurs d'onde plus grandes car le plus bas état vibrationnel de T_1 est inférieur en énergie à celui de S_1 .

1.2.2) Grandeurs caractéristiques

Le spectre d'émission de fluorescence est obtenu après avoir excité le fluorophore à une longueur d'onde où il absorbe. Le déplacement de Stokes représente la différence entre la longueur d'onde maximale d'absorption et la longueur d'onde maximale d'émission. Il est noté $\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_a - \bar{\nu}_f$ (avec $\bar{\nu}$ le nombre d'onde) et renseigne sur la réorganisation de la molécule lors du passage à l'état excité. Si le déplacement de Stokes augmente avec la polarité du solvant, cela signifie que le moment dipolaire du fluorophore est plus élevé à l'état excité qu'à l'état fondamental.

Un autre paramètre crucial pour la caractérisation d'une molécule fluorescence est son rendement quantique Φ qui permet d'établir l'efficacité de la fluorescence émise. Il est défini comme le nombre de photons émis divisé par le nombre de photons absorbés :

$$\Phi = \frac{\text{Nombre de photons émis}}{\text{Nombre de photons absorbés}}$$

Equation 1- 2

Comme nous l'avons vu précédemment, la fluorescence correspond à la transition $S_1 \rightarrow S_0$ accompagnée de l'émission d'un photon. Une partie des molécules fluorescentes M présentes en solution diluée (de concentration $[M]$ en mol.L^{-1}) se retrouvent à l'état excité S_1 à

la suite d'une courte impulsion lumineuse et seront alors notées M^* par la suite. Celles-ci retournent ensuite à l'état fondamental S_0 par des processus radiatifs ou non radiatifs que nous avons détaillés auparavant.

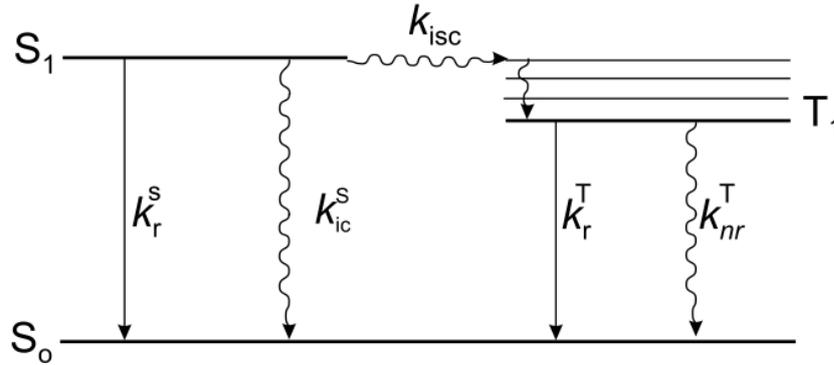


Figure 1- 4 : Processus de relaxation de l'état S1 et leurs constantes de vitesse

Ils sont caractérisés par les différentes constantes de vitesse qui suivent :

k_r^S = constante de vitesse de la fluorescence

k_{nr}^S = constante de vitesse de la désexcitation non radiative de l'état singulet

k_{isc}^S = constante de vitesse pour le croisement inter-système

k_{ic}^S = constante de vitesse pour la conversion interne

k_r^T = constante de vitesse de la phosphorescence

k_{nr}^T = constante de vitesse de la désexcitation non radiative de l'état triplet

La désexcitation de la molécule fluorescente excitée M^* répond à la cinétique suivante :

$$\frac{-d[M^*]}{dt} = (k_r^S + k_{nr}^S)[M^*]$$

Equation 1- 3

La constante de vitesse des voies de désexcitation non radiative k_{nr}^S à partir de l'état S_1 est définie par l'équation suivante :

$$k_{nr}^S = k_{ic}^S + k_{isc}^S$$

Equation 1- 4

L'intégration de l'équation différentielle donne l'évolution au cours du temps de la concentration d'espèces à l'état excité :

$$[M^*] = [M^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right)$$

Equation 1- 5

avec τ_S , la durée de vie de l'état excité S_1 définie tel que :

$$\tau_S = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S}$$

Equation 1- 6

L'intensité de fluorescence i_F correspond à la quantité de photons émis selon la réaction suivante :



Elle est proportionnelle à tout instant t à la concentration de molécules excitées M^* :

$$i_F = k_r^S [M^*] = k_r^S [M^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right)$$

Equation 1- 7

Le rendement quantique de fluorescence peut alors s'écrire de la façon suivante :

$$\Phi_F = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = \tau_S k_r^S$$

Equation 1- 8

Les constantes de vitesse radiative et non radiative peuvent ainsi être déterminées à l'aide des relations suivantes :

$$k_r^S = \frac{\phi_F}{\tau_S}$$

Equation 1- 9

$$k_{nr}^S = \frac{1}{\tau_S} (1 - \phi_F)$$

Equation 1- 10

Lorsque plusieurs états émissifs sont présents, les déclins de fluorescence sont multi-exponentiels et l'intensité de fluorescence i_F est déterminée par la relation suivante :

$$i_F = \sum_i a_i \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right)$$

Equation 1- 11

avec a_i la constante pré-exponentielle relative à l'état émissif i et τ_i son temps de vie.

La fraction α_i permet de déterminer la contribution en pourcentage des différentes durées de vie :

$$\alpha_i = \frac{a_i}{\sum_i a_i} \times 100$$

Equation 1- 12

1.2.3) Solvatochromisme

La différence d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité dépend des interactions entre le solvant et le fluorophore. En effet, l'état fondamental et l'état excité de la molécule fluorescente seront plus ou moins stabilisés par les interactions avec les molécules de solvant qui l'entourent. Cette différence d'énergie (en cm^{-1}) dépend de l'indice de réfraction, de la constante diélectrique du solvant et surtout de l'exaltation du moment dipolaire à l'état excité suivant le modèle de Lippert-Mataga suivant^{3,4}.

$$\bar{\nu}_a - \bar{\nu}_f = \frac{2}{hc} (\mu_e - \mu_g)^2 a^{-3} \Delta f + \text{constante}$$

Equation 1- 13

où h est la constante de Planck, c la célérité de la lumière, a le rayon de la cavité dite cavité d'Onsager où se trouve le soluté, $\bar{\nu}_a$ le nombre d'ondes d'absorption, $\bar{\nu}_f$ le nombre d'ondes d'émission et Δf la polarisabilité orientationnelle définie telle que :

$$\Delta f = f(\varepsilon) - f(n^2) = \frac{\varepsilon - 1}{2\varepsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1}$$

Equation 1- 14

Selon ce modèle, seule la réorientation des molécules de solvant est responsable d'importants déplacements de Stokes et la redistribution des électrons se produit de façon instantanée. On considère également que l'état fondamental et excité sont tous deux stabilisés par ce processus. Un solvant polaire aura la possibilité de stabiliser l'état excité, induisant un déplacement spectral de l'émission de fluorescence vers le rouge.

Les valeurs de déplacement de Stokes d'une sonde fluorescente dans les différents solvants peuvent être tracées en fonction de la polarisabilité orientationnelle Δf . Une relation linéaire entre ces deux paramètres est alors obtenue si le fluorophore est essentiellement sensible à la polarité du solvant. Si la relation n'est pas linéaire, il doit exister des interactions spécifiques entre la sonde fluorescente et le solvant. Comme l'indique l'équation de Lippert-Mataga, la pente est directement reliée à $\Delta\mu/a^3$ et renseigne ainsi sur l'exaltation du moment

dipolaire à l'état excité. Les valeurs de Δf pour les différents solvants mentionnés dans ce manuscrit sont regroupées dans le tableau 1-1 suivant.

Tableau 1- 1 : Valeurs des coefficients de polarisabilité Δf des solvants utilisés dans ce manuscrit.

	Δf
Méthylcyclohexane	0,00
Toluène	0,013
Dioxane	0,021
Chloroforme	0,149
Tétrahydrofurane	0,210
Dichlorométhane	0,219
Dichloroéthane	0,223
Diméthylsulfoxyde	0,265
Diméthylformamide	0,275
Butyronitrile	0,278
Ethanol	0,290
Acétonitrile	0,306
Méthanol	0,309

1.3) Utilisation de la fluorescence pour sonder des molécules

Le développement de sondes pour la détection de molécules neutres est un défi très complexe à relever en raison de la nature relativement faible des interactions dipôle-dipôle ou dipôle-dipôle induit mises en jeu. La complexation hôte-invité basée sur leur affinité est un élément clé dans la conception de capteurs car cela conditionne la sensibilité de la détection. La sélectivité vis-à-vis de la molécule neutre et la transduction du signal sont deux autres paramètres importants. En raison de la difficulté de la détection, peu d'exemples sont publiés dans la littérature (contrairement à la détection d'ions); les publications existantes font appel à la spectrométrie de masse ou la spectroscopie RMN pour un grand nombre d'entre elles. Dans ce manuscrit, nous examinerons les systèmes de détection qui utilisent la fluorescence pour reconnaître les analytes neutres.

Il faut préciser qu'une sonde fluorescente est très sensible à son environnement et aux différentes interactions spécifiques qu'elle peut avoir avec les molécules voisines. Notre

objectif est de détecter des molécules neutres telles que l'atrazine, les dérivés de mélamine et les amines aliphatiques. Le concept des sondes que nous souhaitons concevoir est le suivant (voir figure 1-5) :

- le système possède une entité de reconnaissance qui lui permet de capter l'analyte et se doit d'être sélectif et sensible
- l'interaction avec l'analyte induit des effets photophysiques entraînant une modification de la fluorescence, ce qui permet alors la détection de l'analyte

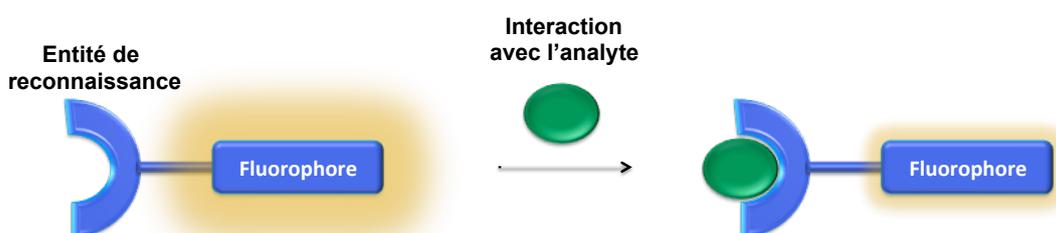


Figure 1-5 : Concept des sondes fluorescentes envisagées pour la détection de molécules neutres.

Diverses entités de reconnaissance ont été développées pour la mise au point des capteurs fluorescents comme les cages hydrophobes, les complexes de coordination et les chemodosimètres. Les deux premières interagissent avec la cible de façon non covalente alors que les chemodosimètres font appel à des liaisons covalentes. Ces différents systèmes ainsi que les effets photophysiques associés sont présentés ci-dessous.

1.3.1) Entités de reconnaissance

➤ Cages hydrophobes

Parmi les entités de reconnaissance, nous pouvons distinguer les cages hydrophobes, composés organiques contraints par leur structure à posséder une cavité de dimension suffisante pour loger d'autres molécules. Cette dénomination rassemble entre autres les récepteurs macrocycliques suivants : les cyclodextrines^{5,6}, cucurbituriles⁷, calixarènes⁸, et pillararènes^{9,10}, décrits ci-dessous. Ces molécules appartiennent à la chimie hôte-invité et à la chimie supramoléculaire dont les précurseurs sont Jean-Marie Lehn^{11,12}, Donald Cram¹³ et Charles Pedersen¹⁴. Elles font preuve d'une affinité et d'une sélectivité très intéressantes.

Deux principes sont essentiels à prendre en compte pour la conception d'un système hôte-invité :

- la préorganisation (elle régit la force de la liaison entre les deux molécules)
- la complémentarité (elle permet la reconnaissance structurelle).

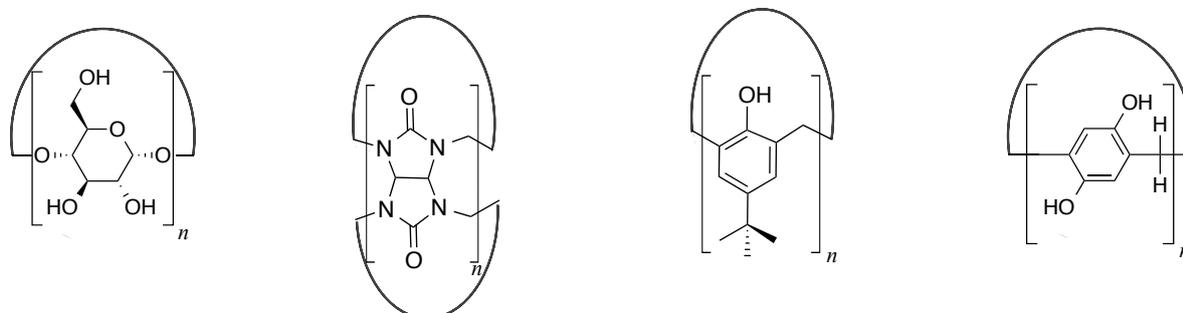


Figure 1- 6 : Structure générale d'une cyclodextrine, d'un cucurbiturile, d'un calixarène (avec R = *p*-tert-butyle) et d'un pillarène.

La reconnaissance moléculaire impose une surface de contact suffisante entre le récepteur et l'analyte afin de permettre la formation de multiples interactions non covalentes comme les interactions hydrophobes et les interactions de van der Waals. Plusieurs sites de liaisons notamment des sites de liaisons hydrogène sont par ailleurs nécessaires afin de structurer le complexe hôte-invité et renforcer la sélectivité. C'est pourquoi, pour aboutir à des récepteurs capables de reconnaître spécifiquement des molécules et améliorer la sélectivité, une étape de fonctionnalisation de la cage par des groupements fonctionnels adéquats est nécessaire.

La fonctionnalisation de ces macrocycles par divers fluorophores permet d'accéder à une large variété de récepteurs fluorescents pouvant accueillir et détecter des molécules invitées dans leur cavité.

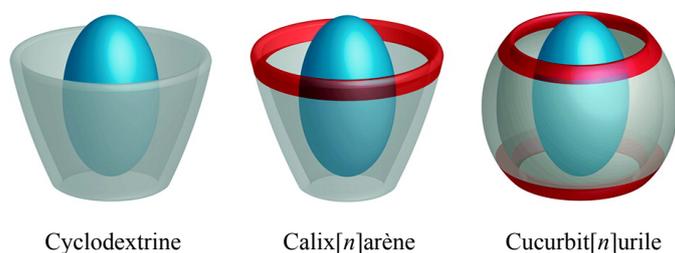


Figure 1- 7 : Représentation des complexes d'inclusion pour les hôtes macrocycliques principaux (les zones de densité de charge négative sont indiquées en rouge). Figure adaptée de la référence¹⁵.

Cyclodextrines

Antoine Villiers¹⁶ a isolé pour la première en fois en 1891 les cyclodextrines, appelées aussi dextrines de Schardinger ou cycloamyloses. Deux produits ayant des propriétés physico-

chimiques proches de la cellulose sont alors découverts : l' α - et la β -cyclodextrine. Puis, en 1903, Franz Scharlinger^{17,18} isole le premier microorganisme (*Bacillus macerans*) qui dégrade l'amidon en cyclodextrine. Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques constitués généralement de 6 à 12 motifs de D-glucose de conformation 4C_1 reliés entre eux par des liaisons $\alpha(1-4)$. Trois cyclodextrines sont majoritairement étudiées : les α -, β - et γ -cyclodextrines qui comportent respectivement 6, 7 et 8 unités glucosidiques (la contrainte stérique impose d'avoir 6 unités glucoses au minimum). Les groupements hydroxyles rendent la surface hydrophile tandis que la cavité peut accueillir une molécule hydrophobe. Aujourd'hui les cyclodextrines glycosyltransférases sont utilisées pour produire différents types de cyclodextrine. Les procédés de purification permettent de les obtenir très pures (> 99 %) sur une grande échelle.

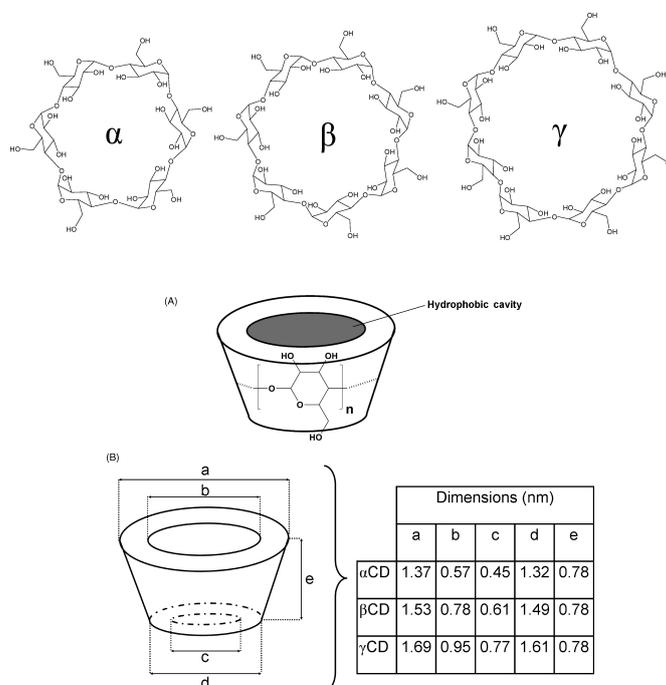


Figure 1- 8 : Structure des α -, β -, and γ - cyclodextrines. (A) Représentation schématique tridimensionnelle d'une molécule de cyclodextrine et (B) dimensions physiques pour les α -CD ($n = 6$), β -CD ($n = 7$), et γ -CD ($n = 8$). Figure issue de la référence 6.

Cucurbituriles

En 1905, la condensation de la molécule de glycourile et de la molécule de formaldéhyde dans une solution concentrée d'HCl est reportée et aboutit à des polymères insolubles appelés polymères de Behrend¹⁹. Willian Mock en 1981 élucida la structure macrocyclique de la molécule et l'appela cucurbiturile en référence à la famille des cucurbitacées²⁰. Les cucurbit[n]uriles (ou CB[n]) sont constitués d'un nombre n d'unités

glycouriles liées entre elles *via* des ponts méthylènes et sont solubles dans l'eau. Les CB[6] ont largement été développés dans les années 1980 et 1990 alors que les années 2000 ont vu apparaître les CB[5], CB[7] et CB[8]. Les cucurbituriles sont généralement moins solubles dans l'eau que les cyclodextrines.

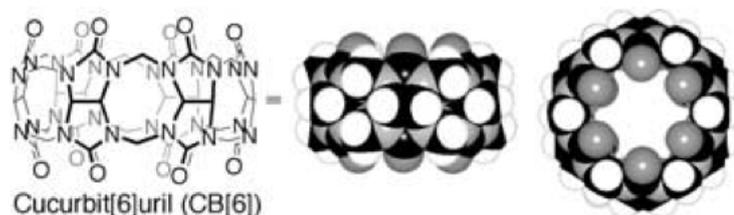


Figure 1- 9 : Structure d'un CB[6] modélisé vu de côté et de dessus. Figure issue de la référence 7.

Ces derniers ont la capacité notamment de capter des molécules neutres. Par exemple, le cucurbit[7]urile encapsule le fluorophore à transfert de charge DMABN (4-(diméthyl-amino)benzonitrile) ce qui modifie ses propriétés photophysiques²¹. Les effets photophysiques d'une encapsulation d'un fluorophore dans une cyclodextrine ou un calixarène ont été attribués au caractère plus hydrophobe de la cavité ou aux contraintes géométriques qu'elle impose. Pour les cucurbituriles, les effets sont certes dus à la plus faible polarité à l'intérieur du cucurbiturile ainsi qu'aux contraintes stériques mais les interactions charge-dipôle jouent un rôle supplémentaire non négligeable.

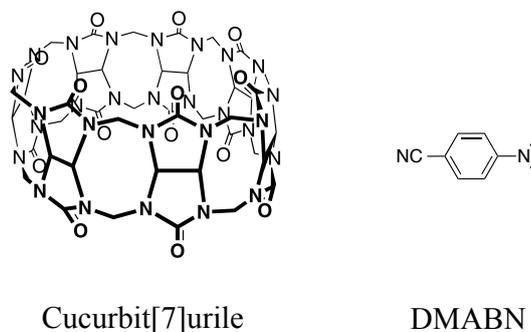


Figure 1- 10 : Structure de l'hôte cucurbit[7]urile et de l'invité DMABN.

Calixarènes

En 1975, les calixarènes ont vu le jour à la suite des travaux de David Gutsche²² et sont appelés ainsi en raison de la ressemblance de forme avec un calice. Ils sont composés de groupements phénols (entre 4 et 20) liés entre eux par des ponts méthylènes $-CH_2$. Ils sont formés à la suite d'une condensation entre une molécule de phénol et une molécule de formaldéhyde en milieu basique. L'un de leurs avantages est que la cavité hydrophobe peut être facilement fonctionnalisée ; la fonctionnalisation par des groupements coordinants lui

permet de complexer différents métaux tels que le cuivre, le zinc et le palladium. Cela rigidifie la structure du calixarène qui devient alors un récepteur moléculaire de choix pour encapsuler des invités ioniques ou organiques. Les calix[*n*]arènes contiennent un nombre *n* d'unités phénoliques ; les plus couramment étudiés dans la littérature les calix[4]arènes et calix[6]arènes. Le calix[4]arène présente quatre conformations différentes, comme indiqué dans la figure 1-11 ci-dessous.

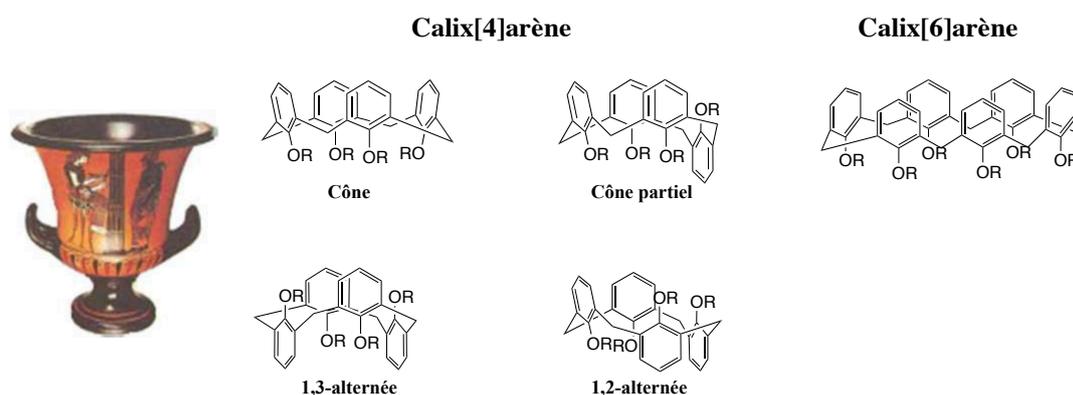


Figure 1- 11 : A gauche : Calice, à droite: différentes conformations du calix[4]arène et structure du calix[6]arène.

Figure adaptée de la référence²³.

Pillararènes

Les pillar[*n*]arènes sont des macrocycles relativement récents et se composent d'unités hydroquinones (entre 5 et 7) liées par des ponts méthylènes²⁴. Cette dénomination a été inventée par Tomoki Ogoshi en 2008²⁵. Une des stratégies de synthèse est la condensation des molécules de 1,4-dialkoxybenzène et de paraformaldéhyde en présence d'un acide de Lewis. Les pillararènes possèdent de multiples avantages par rapport aux différents macrocycles mentionnés auparavant:

- comme ils sont plus rigides et symétriques que les calixarènes, l'interaction avec les molécules invitées est de fait plus sélective
- la fonctionnalisation des unités aromatiques est plus facile que pour les cucurbituriles ce qui permet plus aisément d'adapter la structure en fonction de l'invité
- la solubilité est grande dans les solvants organiques contrairement aux cucurbituriles et cyclodextrines solubles dans l'eau. De plus, les cavités sont de tailles similaires.

Stokes ou anti-Stokes sont élevés et les bandes d'émission sont étroites ce qui augmente la sensibilité de détection de sondes luminescentes pour les divers analytes. Pour exalter l'émission des lanthanides, il est possible d'utiliser des antennes qui transfèrent leur énergie à ces derniers.

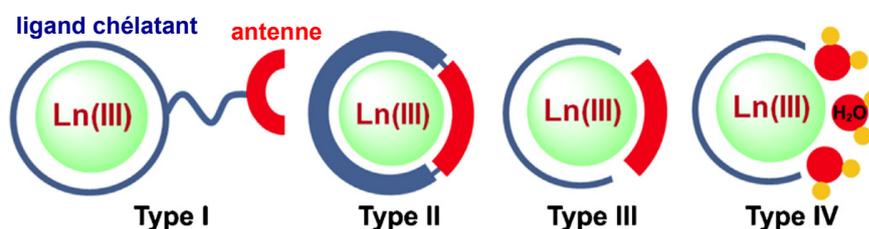


Figure 1- 13 : Structure schématique des 4 types de complexes de lanthanides luminescents. Figure adaptée de la référence 27.

Quatre types de complexes de lanthanides luminescents sont à différencier :

- type I : le chromophore est lié au ligand chélatant l'ion lanthanide et sert d'antenne. La luminescence varie en fonction du transfert d'énergie entre l'antenne et l'analyte.
- type II : l'antenne est directement incluse dans le ligand chélatant. La luminescence est modulée par l'interaction entre le ligand et l'analyte *via* cette antenne.
- type III : l'antenne n'est ici pas liée au ligand chélatant et coordine directement l'ion lanthanide.
- type IV : contrairement aux autres types de complexes, celui-ci est insaturé et possède un site de coordination occupé par des molécules de solvants. Ces dernières sont remplacées par l'analyte ce qui entraîne un changement de la luminescence.

La figure 1-14 présente la structure de quelques complexes de lanthanides.

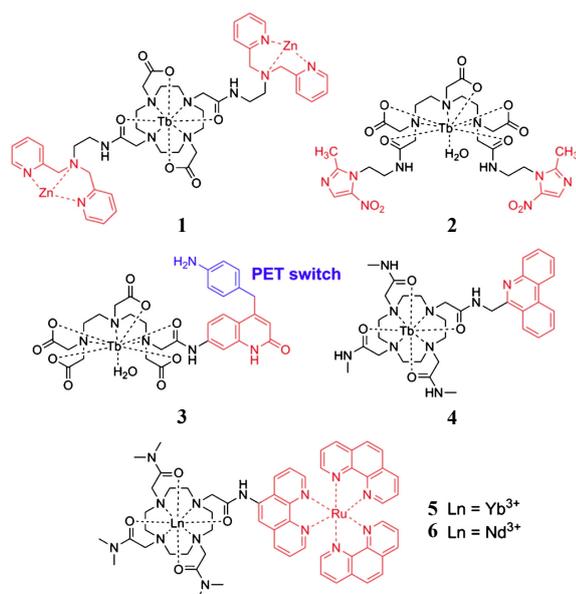


Figure 1- 14 : Exemples de structures des complexes de lanthanides pour la détection des nucléobases (1-3) et des acides nucléiques (4-6). Figure issue de la référence 27.

➤ Chemodosimètres

Les entités de reconnaissance étudiées précédemment telles que les molécules macrocycliques complexent l'analyte neutre *via* des liaisons non covalentes. Cependant, certaines sondes forment des liaisons covalentes avec l'analyte et sont appelées chemodosimètres. La réaction est dans certains cas réversible. La réaction chimique modifie le spectre d'absorption ou d'émission de fluorescence de la sonde. Des capteurs de plus en plus sensibles et sélectifs ont été développés²⁸. Le principe de la détection est schématisé ci – dessous :

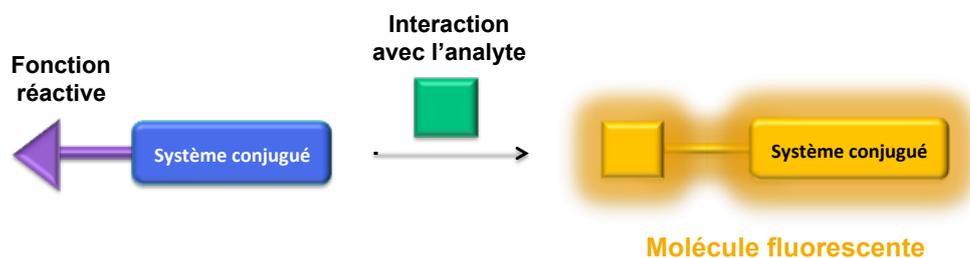


Figure 1- 15 : Principe de reconnaissance de l'analyte neutre à l'aide d'un chemodosimètre.

Les chemodosimètres portent des groupements réactifs comme des amines nucléophiles. C'est le cas du fluorophore développé par Juyoung Yoon²⁹ en 2016 qui réagit avec la molécule de phosgène. Il s'agit d'un dérivé de la molécule de pyronine Y fonctionnalisé par une *o*-phénylènediamine appelé **PY-OYD** (voir figure 1-16).

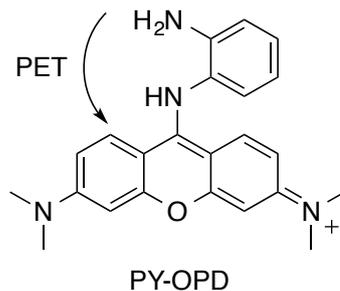


Figure 1- 16 : Structure du chemodosimètre pour la détection de phosgène.

Le fluorophore est impliqué dans une réaction de cyclisation spécifique au phosgène qui modifie son degré de conjugaison. Il en résulte un changement de l'émission de fluorescence qui signale la présence de phosgène. La réponse diffère avec les autres gaz neurotoxiques car ils ne peuvent pas subir la même réaction de cyclisation. Les effets photophysiques de ce chemodosimètre seront développés dans la sous-partie suivante.

1.3.2) Effets photophysiques

Comme nous l'avons vu précédemment, la fluorescence est une technique très puissante pour sonder l'environnement. Elle est ainsi efficace pour détecter la présence d'un analyte. Une partie des processus intra- ou intermoléculaires pouvant entrer en jeu sont listés dans cette partie :

- **Transfert d'électron photoinduit (ou PET en anglais pour *Photoinduced electron transfer*) :**

Si les potentiels d'oxydoréduction du fluorophore et de l'analyte le permettent, une oxydation ou une réduction du fluorophore se produit à l'état excité, ce qui éteint généralement la fluorescence. L'équation de Rehm-Weller permet d'accéder à la valeur de la variation d'enthalpie libre standard ΔG^0 :

$$\Delta G^0 = F[E^0(D^{*+}/D) - E^0(A/A^{*-}) - \Delta E_{00}(D)] - \Delta H_{solv} - w \quad [Ox]$$

Equation 1- 15

$$\Delta G^0 = F[E^0(D^{*+}/D) - E^0(A/A^{*-}) - \Delta E_{00}(A)] - \Delta H_{solv} - w \quad [Red]$$

Equation 1- 16

avec F la constante de Faraday ($9,65.10^4 \text{ C.mol}^{-1}$), $E^0(D^{\bullet+}/D)$ le potentiel standard d'oxydation du donneur, $E^0(A/A^{\bullet-})$ le potentiel standard de réduction de l'accepteur, $\Delta E_{00}(D)$ l'énergie de l'état excité fluorescent du donneur, $\Delta E_{00}(A)$ l'énergie de l'état excité fluorescent de l'accepteur, ΔH_{solv} l'enthalpie de solvation et w l'énergie coulombienne de la paire d'ion formée.

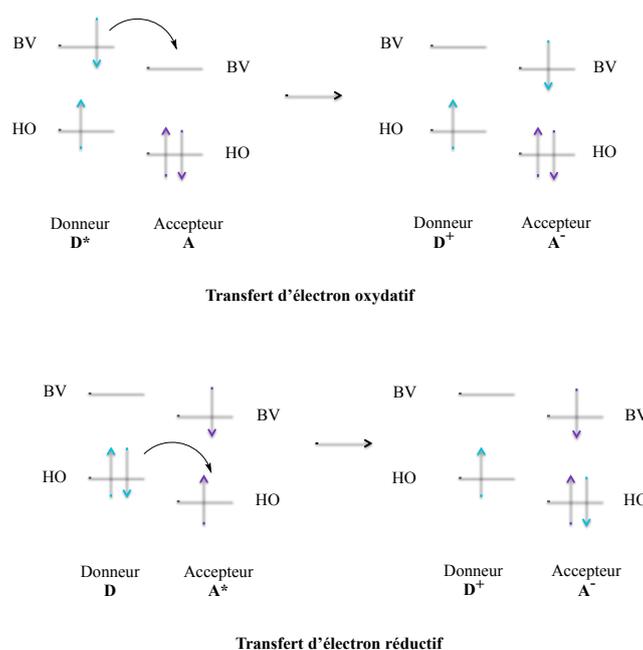


Figure 1- 17 : *En haut* : Processus de transfert d'électron oxydatif, *en bas* : processus de transfert d'électron réductif.

Quand ΔG^0 prend une valeur négative, le processus de transfert d'électron photoinduit est alors possible. La figure ci-dessus rend compte des transferts d'électron pouvant avoir lieu au niveau des orbitales HO et BV (voir figure 1-17). Lorsque le fluorophore excité donne un électron, le transfert est dit oxydatif. Lorsque celui-ci accepte un électron, le transfert est dit réductif.

Présenté plus haut dans le manuscrit²⁹, le chemodosimètre **PY-OYD** dérivé de la pyronine Y est un bon moyen d'utiliser le transfert d'électron photoinduit pour détecter des molécules neutres à savoir la molécule de phosgène dans le chloroforme. La figure 1-18 suivante montre les effets sur la fluorescence de la sonde des deux composés.

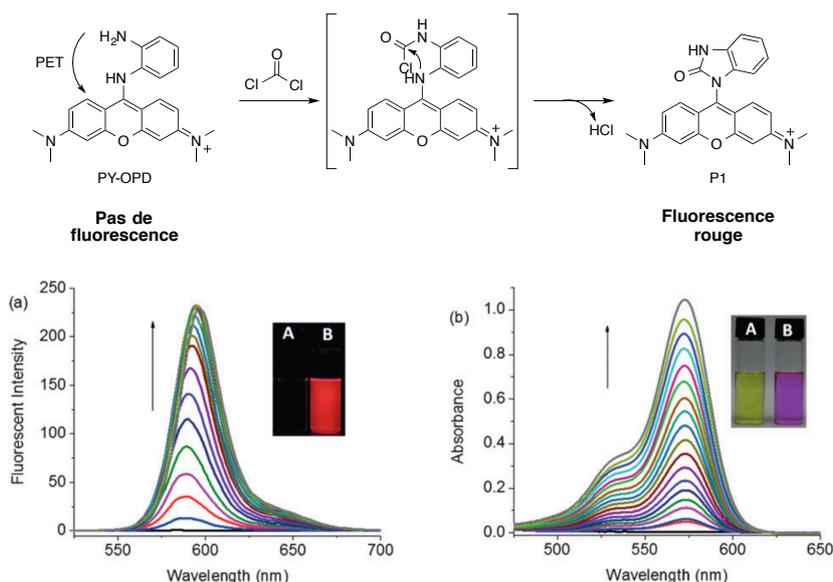


Figure 1- 18 : *En haut* : réaction du chemodosimètre avec le phosgène, *en bas* : spectres d'émission de fluorescence (a) et d'absorption (b) du fluorophore PY-OPD dans le chloroforme (10 μ M) après ajouts successifs de triphosgène (0-2 eq.) enregistrés après 2 min. (A) photographie du fluorophore PY-OPD seul et (B) de l'adduit PY-OPD-phosgène. Fluorescence visualisée après irradiation à 365 nm. Figure adaptée de la référence 29.

Le fluorophore seul n'est pas fluorescent en raison d'un transfert d'électron du groupement *o*-phénylènediamine à l'état excité. En présence de phosgène, une réaction de cyclisation se produit aboutissant à un composé plus conjugué émettant dans le rouge à 593 nm (pour des raisons pratiques, les études ont été faites avec la molécule de triphosgène qui génère le phosgène *in situ*). La limite de détection du triphosgène est de 20 nM, ce qui en fait un détecteur relativement sensible par rapport à ce qui a déjà été reporté dans la littérature. La détection peut se faire à l'œil nu car la solution passe du jaune au violet (580 nm). Les différents effets sur l'absorption et la fluorescence sont dus au fait qu'à la suite de la cyclisation le fluorophore porte désormais un groupement urée, ce qui empêche la réaction de transfert d'électron et diminue la différence d'énergie entre les orbitales HO et BV.

Par ailleurs, Heinz Langhals a étudié en 2000 la détection d'aldéhydes et de cétones par un substrat fluorogénique dérivé de la molécule de pérylène comportant un groupement amine réactif³⁰. Le ligand fluorogénique **7** est intégré dans des fines couches composées de PVC plastifié qui sont ensuite exposées à des échantillons aqueux d'aldéhydes aliphatiques ou de cétones.

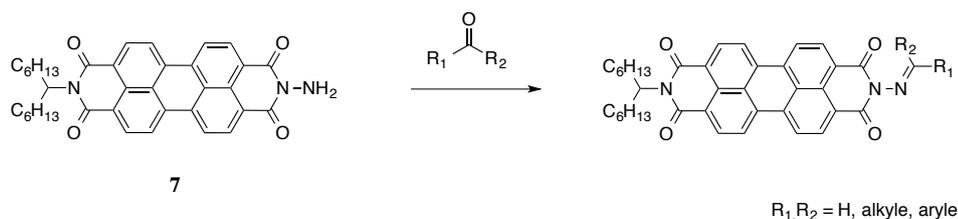
*Non fluorescent**Fluorescent*

Figure 1- 19 : Réaction chimique entre le ligand fluorogénique 7 et une molécule d'aldéhyde ou de cétone. Figure adaptée de la référence 30.

Le caractère nucléophile de l'amine est utilisé pour réagir avec les analytes et induire leur détection. Cette réaction est réversible. L'intensité de fluorescence du chemodosimètre dépend de la concentration en aldéhyde et la réponse est complètement réversible ce qui fait de ce ligand un capteur potentiel très intéressant.

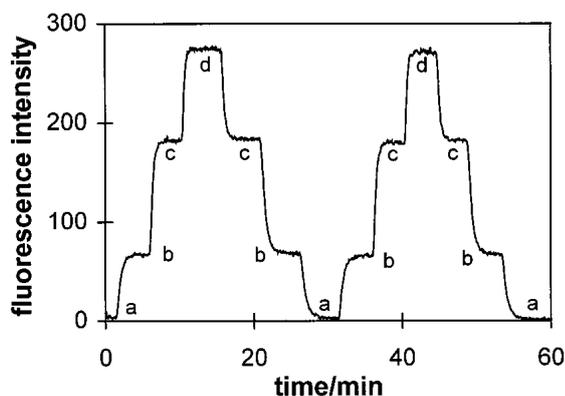


Figure 1- 20 : Réversibilité du signal du capteur après exposition à des solutions aqueuses de propionaldéhyde avec $\text{pH} = 2,5$, $\lambda_{\text{exc}} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 532 \text{ nm}$. a : solution tampon ; b : 6,9 mM ; c : 27,5 mM et d : 68,7 mM de propionaldéhyde, Figure issue de la référence 30.

Ce ligand n'est pas fluorescent en raison d'un transfert d'électron photoinduit. En effet, le doublet d'électrons de l'atome d'azote éteint la fluorescence. La réaction chimique avec des aldéhydes et cétones induit une augmentation de la fluorescence car le transfert d'électrons depuis l'hémiaminal nouvellement formé est moins efficace. Il s'ensuit alors une augmentation de la fluorescence.

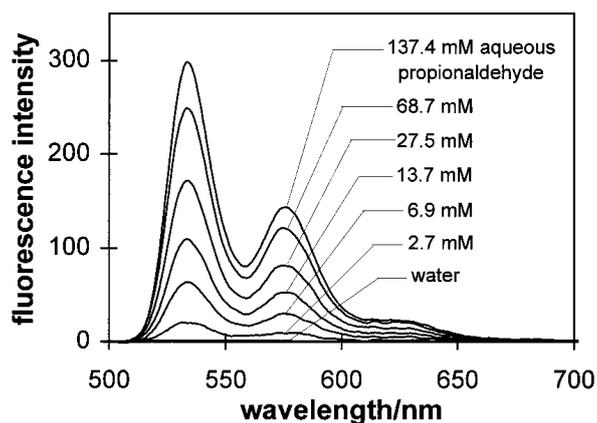


Figure 1- 21 : Spectres d'émission de fluorescence de la fine couche composée de PVC plastifié et de la sonde 7 en contact avec des solutions tampon de propionaldéhyde à pH= 2,5. Figure issue de la référence 30.

La figure 1-21 ci-dessus représente les effets sur la fluorescence du propionaldéhyde ($R_1 = -CH_2CH_3$ et $R_2 = H$) dans une solution tampon de pH = 2,5. La limite de détection pour le propionaldéhyde est de 0,08 mM, soit la deuxième réponse la plus sensible après le butyraldéhyde. La sélectivité de la détection est déterminée par la lipophilie de l'aldéhyde car plus l'aldéhyde est lipophile, plus il sera efficacement extrait dans la matrice de polymère. La réponse est moins importante avec les cétones car elles sont moins réactives en raison de leur encombrement stérique plus grand.

Un autre exemple remarquable de capteur utilisant le transfert d'électron photoinduit est celui des polymères fluorescents 8-11 développés par Timothy Swager³¹ en 1998. Ils se sont révélés très performants pour détecter la molécule de TNT (2,4,6-trinitrotoluène). Il s'agit d'un matériau polymère de type phénylèneéthynylène dont la conjugaison du système π s'étend sur toute la longueur de la chaîne comme le montre la figure 1-22.

Il présente également des motifs cruciformes de type pentiptycène qui espacent les chaînes conjuguées et permettent d'augmenter la porosité du matériau polymère. L'inhibition de fluorescence répond à un mécanisme de transfert d'électron photoinduit qui repose sur des interactions électrostatiques entre un groupement donneur et un groupement accepteur. Le polymère est le donneur d'électrons tandis que la molécule de TNT appauvrie en électrons agit comme accepteur d'électrons. C'est un transfert d'électron oxydatif. La structure tridimensionnelle est rigide ce qui empêche les empilements π - π et ainsi la formation d'excimères.

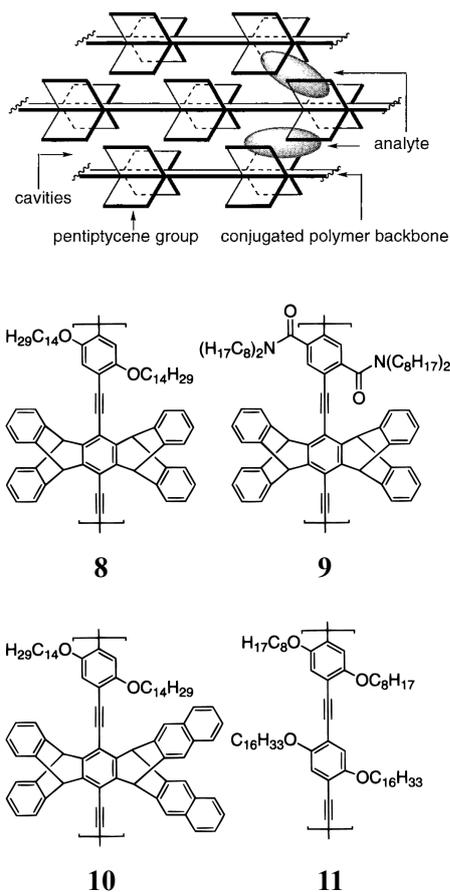


Figure 1- 22 : Structure des polymères 8-11. Figure issue de la référence 31.

Le matériau est mis sous forme de film mince et exposé à des vapeurs de TNT. Le polymère **8** émet à 460 nm après une excitation à 400 nm. L'extinction de la fluorescence est de $50 \pm 5 \%$ après 30 secondes et atteint $70 \pm 5 \%$ après une minute (voir figure 1-23 ci-dessous). La limite de détection est de l'ordre de 10 ppb.

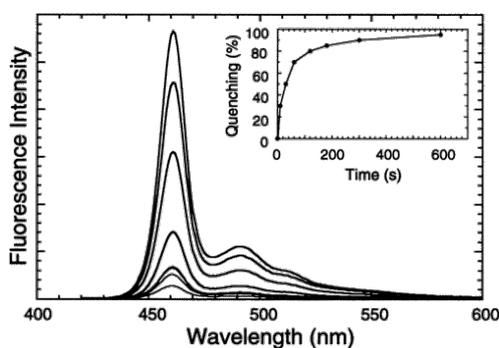


Figure 1- 23 : Intensité de fluorescence en fonction du temps du polymère 8 dans un film de 25 Å après exposition à des vapeurs de TNT (à température ambiante) au bout de 0, 10, 30, 60, 120, 180, 300, et 600 s (de haut en bas).

Encart : extinction de fluorescence (en %) en fonction du temps. Figure issue de la référence 31.

Enfin, des nanoparticules de silice luminescentes auxquelles ont été greffées des chloroalkoxytétrazines ont permis la détection d'amines à l'aide du phénomène de transfert d'électron photoinduit³². La structure des nanoparticules **12** est indiquée sur la figure **1-24** suivante.

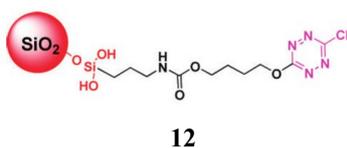


Figure 1- 24 : Structure des nanoparticules modifiées par des tétrazines. Figure issue de la référence 32.

Les propriétés spectroscopiques des nanoparticules en suspension dans l'acétonitrile ont été étudiées. La fluorescence est émise autour de 560 nm. La fluorescence des nanoparticules est éteinte en raison d'un transfert d'électron photoinduit entre les tétrazines et la triéthylamine (voir figure **1-25**). La constante de Stern-Volmer K_{SV} est de $245 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$.

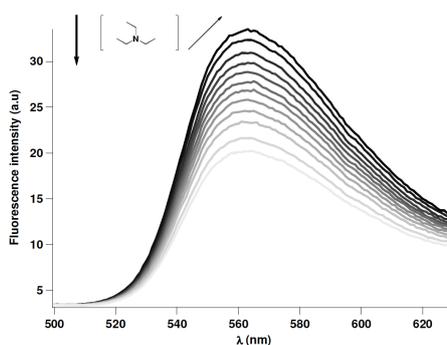


Figure 1- 25 : Spectres d'émission des nanoparticules **12** à une concentration de 0,29 mM en présence d'une concentration croissante de la triéthylamine (0 – 1,6 mM) dans l'acétonitrile, $\lambda_{exc} = 340 \text{ nm}$. Figure issue de la référence 32.

➤ **Transfert de charge photoinduit (ou PCT en anglais pour *Photoinduced charge transfer*):**

Après l'excitation du fluorophore, le transfert de charge se produit entre le groupement donneur d'électrons et le groupement accepteur d'électrons de ce dernier. Ce transfert confère au fluorophore ses propriétés photophysiques.

Par ailleurs, l'interaction de la sonde avec l'analyte est susceptible de modifier les niveaux d'énergie du fluorophore et dans le même temps le transfert de charge intramoléculaire. Cette interaction peut conduire à une diminution du transfert de charge intramoléculaire qui provoquerait un déplacement hypsochrome du spectre d'émission, ou à

une augmentation du transfert de charge responsable alors du déplacement bathochrome de la bande d'émission de fluorescence (voir figure 1-26). La détection de l'analyte est alors possible.

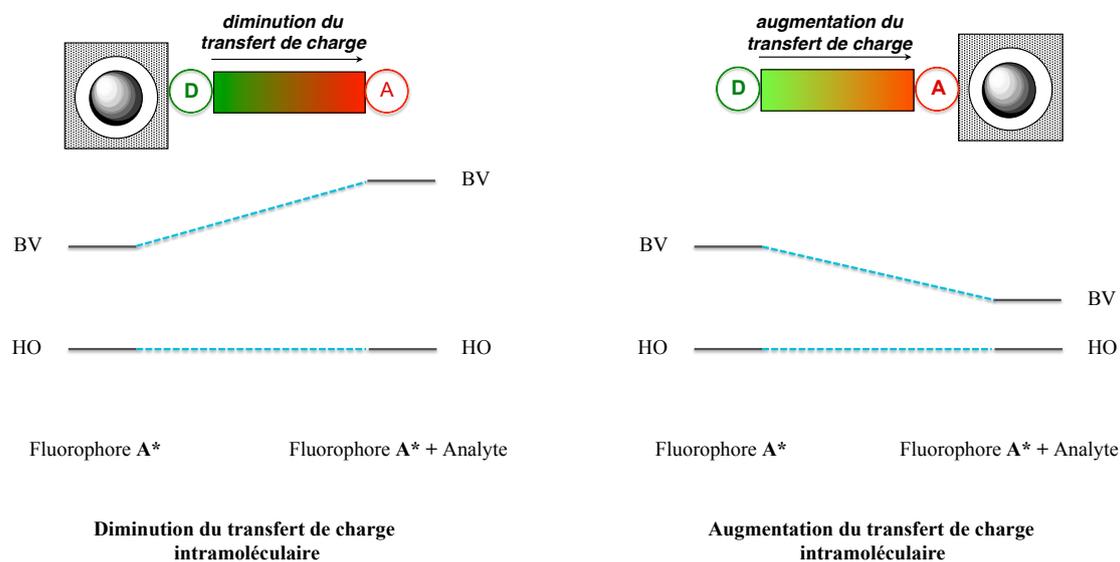


Figure 1- 26 : *A gauche* : Diminution du transfert de charge intramoléculaire, *à droite* : augmentation du transfert de charge intramoléculaire.

Le calix[4]arène **13** caractérisé par un transfert de charge intramoléculaire a été reporté par Chen-Yong Su³³ en 2014. Ce dernier porte quatre groupements bithiophene-cyanoacryliques. Le transfert de charge a lieu depuis les groupements *n*-butyloxy électrodonneurs vers les groupements cyanoacryliques électroaccepteurs. La modulation du transfert de charge permet la détection des acides aminés. Ce macrocycle est capable de reconnaître sélectivement les acides aminés acides (acide aspartique et acide glutamique) car ces derniers éteignent la fluorescence.

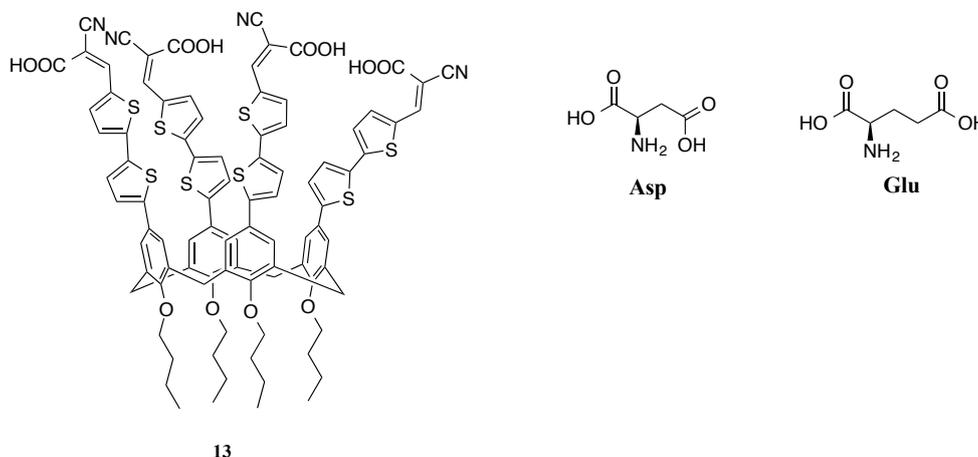


Figure 1- 27 : Structure du calixarène 13 pour la détection des acides aminés.

Des complexes de stœchiométrie 1 : 1 se forment en solution aqueuse en présence de ces acides aminés qui ne rentrent pas dans la cavité du calixarène mais interagissent *via* les groupements cyanoacryliques. Le calixarène présente une bande d'absorption à 400 nm attribuée à la transition $\pi-\pi^*$ avec un caractère transfert de charge. Les acides aminés Asp et Glu entraînent une diminution de la bande d'absorption à 500 nm, une augmentation de la bande à 400 nm accompagnée d'un léger décalage vers le bleu et un point isobestique traduisant la formation d'un complexe.

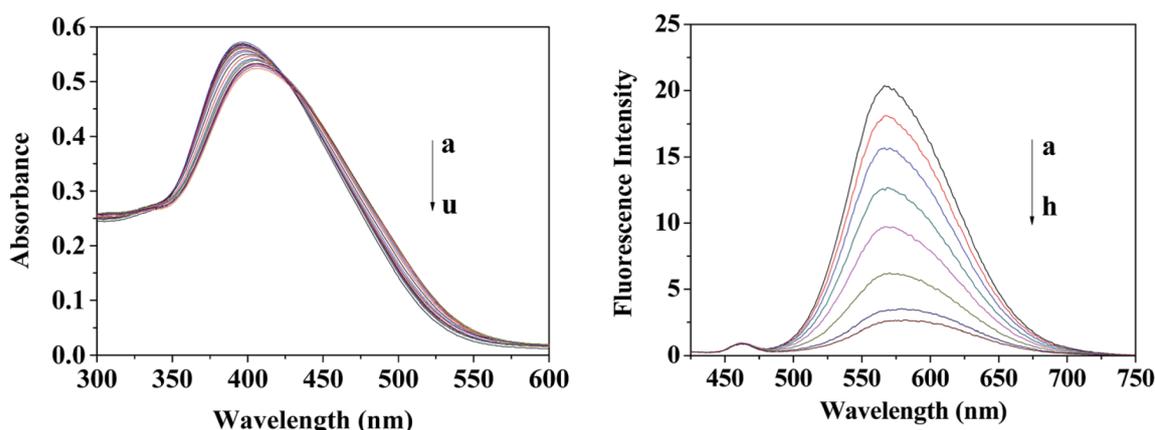


Figure 1- 28 : *A gauche* : spectres d'absorption du calixarène 13 à une concentration de 5 μM en présence de l'acide aminé Asp dans un tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH = 7,8), [Asp] = 0,02 M, *de a à u* : 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 et 200 μeq , *à droite* : spectres d'émission du calixarène à une concentration de 5 μM en présence de l'acide aminé Asp dans un tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH = 7,8), [Asp] = 0,02 M, $\lambda_{\text{exc}} = 400 \text{ nm}$, *de a à h* : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7 et 10 μeq . Figure adaptée de la référence 33.

Concernant la fluorescence, l'ajout des acides aminés Asp et Glu entraîne une diminution de la bande d'émission à 566 nm avec un léger décalage vers le rouge de 10 nm (voir figure 1-28). Pour 10 équivalents de ces acides aminés, 87 % et 89 % d'extinction de la fluorescence sont observées pour Asp et Glu, respectivement. Les constantes d'association pour les complexes 1 : 1 ont été évaluées à $7,87 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ et $1,36 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ pour Asp et Glu. La liaison hydrogène avec les groupements cyanoacryliques électroaccepteurs et les acides aminés module le transfert de charge photoinduit. L'interaction se fait *via* un groupement NH_2 et deux groupements COOH . L'état excité est dans ce cas plus stabilisé par les acides aminés Asp et Glu que l'état fondamental ce qui conduit à un décalage vers le rouge de l'émission. L'extinction de la fluorescence a été attribuée à un transfert de charge du calixarène vers les acides aminés Asp et Glu.

Pour sa part, Tashin Chow³⁴ a mis à profit en 2002 un dérivé de la molécule de 1,8-naphthyridine fonctionnalisé de part et d'autre par des pyrroles *via* un lien alcyne pour la détection sélective du glucopyranoside. Il a ainsi construit la molécule appelée **BPN** (2,7-bis(1-pyrrol-2-yl)ethynyl-1,8-naphthyridine) qui présente un motif Donneur- π -Accepteur-Accepteur- π -Donneur de liaisons hydrogène complémentaire au monosaccharide.

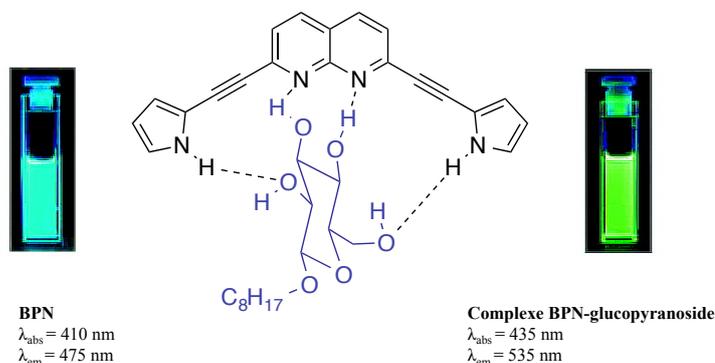


Figure 1- 29 : Structure du complexe BPN-glucopyranoside. Figure adaptée de la référence 34.

Le fluorophore à transfert de charge adopte, en l'absence d'analyte, une conformation légèrement « twistée » et émet à 475 nm dans le dichlorométhane. En présence de la molécule de glucopyranoside, quatre liaisons hydrogène se forment avec le fluorophore ce qui rigidifie la structure de ce dernier, aplanit les groupements pyrrole et naphthyridine et augmente le transfert de charge.

La bande d'absorption à 410 nm correspondant à la molécule de BPN seule décroît tandis qu'une nouvelle bande apparaît vers 435 nm. De plus, la bande d'émission de fluorescence de BPN seul diminue et une nouvelle bande plus intense à 535 nm apparaît (voir figure 1-30). Ces deux émissions de fluorescence proviennent de deux états fondamentaux différents à savoir le BPN libre et le complexe BPN-glucopyranoside. La limite de détection est faible, de l'ordre de 100 pM.

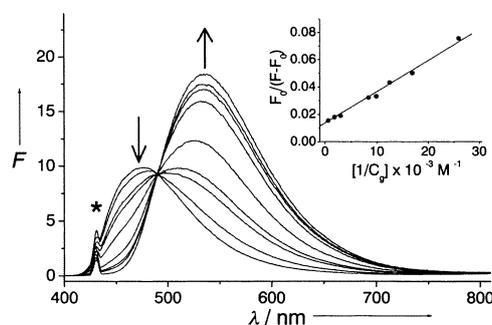


Figure 1- 30 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde BPN dans le dichlorométhane après ajouts de l'octyl glucopyranoside ([Sonde] = 12 μM , $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$). Encart : graphe de Stern-Volmer. Figure issue de la référence 34.

➤ Formation d'excimères ou d'exciplexes :

Des fluorophores peuvent former des dimères à l'état excité appelés excimères E. C'est le résultat de collisions entre deux mêmes monomères, un à l'état excité, noté M* et l'autre à l'état fondamental, noté M. Si les molécules sont différentes, il s'agit d'exciplexes. Ces collisions sont permises par la diffusion et des concentrations en fluorophore suffisamment élevées sont nécessaires pour qu'elles soient rendues possibles. La température et la viscosité du solvant influent également sur le nombre de collisions.

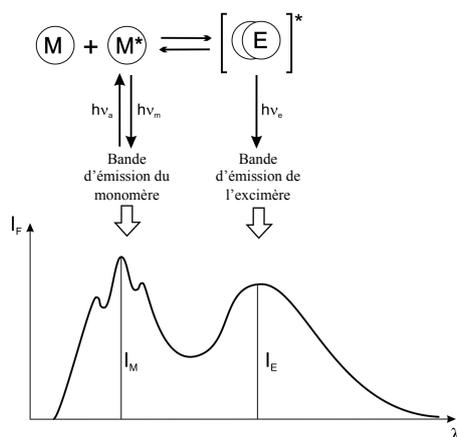
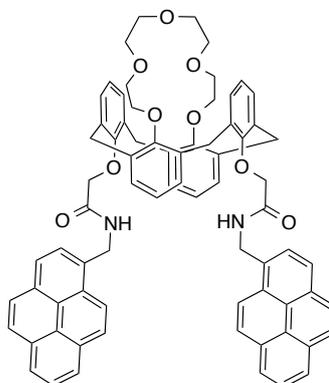


Figure 1- 31 : Formation d'un excimère et spectres d'émission de fluorescence du monomère et de l'excimère. Figure adaptée de la référence 1.

Comme l'énergie d'excitation est délocalisée sur deux monomères, la formation d'un dimère à l'état excité stabilise l'état radiatif. La bande d'émission de fluorescence de l'excimère se retrouve ainsi à des longueurs d'onde plus élevées que le monomère, comme le montre la figure 1-31 ci-dessus. Les excimères ont plus de chance de se former à partir de monomères qui ont une longue durée de vie à l'état excité. Les systèmes de détection basés sur l'équilibre monomère-excimère requièrent ainsi la présence de deux fluorophores relativement flexibles et capables de se mouvoir dans l'espace. En effet, la formation d'excimères nécessite un contact étroit entre les orbitales π des deux fluorophores. L'interaction de l'un d'entre eux avec l'analyte est susceptible de perturber l'équilibre monomère-excimère et de conduire à sa détection³⁵.

Parmi les nombreux calixarènes reportés dans la littérature, le dipyrénylcalix[4]arène **14** conçu en 2010 mérite une attention particulière car il se caractérise par la formation d'excimères et détecte des composés trinitroaromatiques³⁶. Grâce à l'éther couronne qui

verrouille la structure, le calixarène en conformation 1,3-alternée comporte deux groupements pyrènes l'un en face de l'autre (voir figure 1-32). Ces derniers se caractérisent par une forte interaction π - π qui est à l'origine de la formation d'excimères. L'émission de fluorescence peut alors être modulée quand l'analyte interagit avec les pyrènes.



14

Figure 1- 32 : Structure du dipyrényl[4]arène 14 pour la détection des trinitroaromatiques.

Il possède une bande d'émission de fluorescence localisée à 375 nm pour le monomère et à 470 nm pour l'excimère dans l'acétonitrile après irradiation à 343 nm. Ces deux émissions sont éteintes en présence de TNT (2,4,6-trinitrotoluène) comme le montre la figure 1-33 ci-dessous.

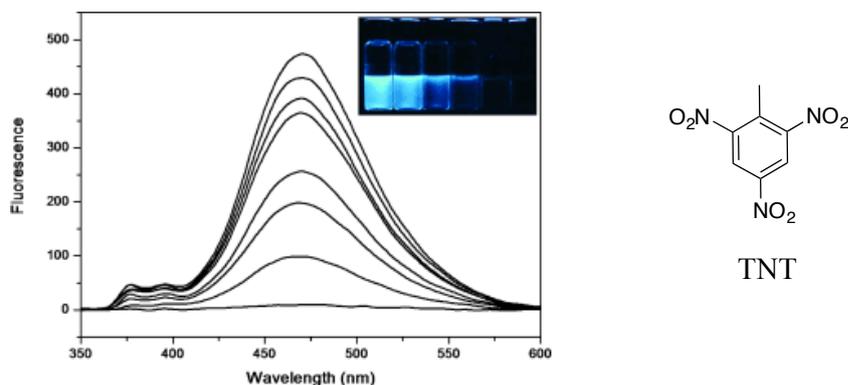


Figure 1- 33 : Extinction de la fluorescence et changements de couleur observables à l'œil nu pour la sonde 14 (20 μ M) dans l'acétonitrile après ajouts successifs de TNT (de haut en bas et de gauche à droite dans l'encart : 0, 1, 5, 10, 30, 50, 100, 300 μ g.), $\lambda_{exc} = 343$ nm. Figure adaptée de la référence 36.

Ceci a été attribué à la formation d'un complexe à transfert de charge entre la molécule de pyrène qui joue le rôle de donneur d'électron et le composé nitroaromatique. La forte interaction entre les électrons π de la molécule de pyrène et du composé nitroaromatique désactive l'état excité singulet de la sonde. La densité électronique est en effet transférée du

groupement pyrène vers l'analyte. Le composé aromatique agit comme un inhibiteur de la fluorescence. La limite de détection dans l'acétonitrile est en dessous de 1,1 ppb. D'autres composés aromatiques ont été testés et les plus électrodéficients induisent la plus grande extinction de la fluorescence.

Une γ -cyclodextrine **15** a par ailleurs été très efficace pour détecter la présence de bornéol à pH neutre^{37,38}. Ce macrocycle hydrosoluble a été fonctionnalisé par une molécule de pyrène comme l'indique la figure **1-34** suivante.

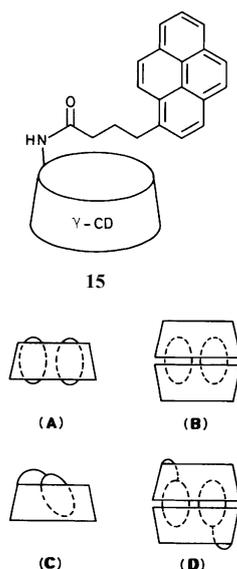


Figure 1- 34 : Structure de la γ -cyclodextrine 15 fonctionnalisée par un pyrène et des différentes associations possibles : (A) complexe hôte-invité 1 : 2 (B) complexe hôte-invité 2 : 2 (C) complexation intramoléculaire du pyrène (D) dimère (issu de la dimérisation de C). Figure issue de la référence 38.

En l'absence de l'analyte, il se forme un dimère de cyclodextrine (D). Deux pyrènes situés chacun dans sa propre cavité de cyclodextrine interagissent alors *via* leurs orbitales π ce qui conduit à l'émission de fluorescence de l'excimère à 470 nm dans une solution aqueuse contenant 10 % de DMSO. Deux bandes correspondant au monomère sont également visibles à 378 nm et 396 nm après excitation à 355 nm. Par contre, en présence du bornéol, celui-ci rentre dans la cavité ce qui dissocie le dimère. Cela conduit à une diminution de la fluorescence de l'excimère et à une augmentation de la fluorescence du monomère. La concentration de la sonde est alors de 28,5 μM et le bornéol est décelé à partir d'une concentration de $3,33 \times 10^{-4}$ M.

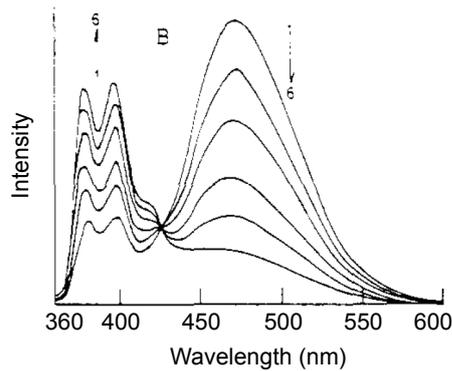


Figure 1- 35 : Spectres d'émission de fluorescence de la γ -CD (28,5 μ M) dans une solution aqueuse de DMSO (10 %) à différentes concentrations de *l*-bornéol (1 : 0 M; 2 : $3,33 \times 10^{-4}$ M; 3 : $6,67 \times 10^{-4}$ M; 4 : $1,33 \times 10^{-3}$ M; 5 : 2×10^{-3} M; 6 : $3,33 \times 10^{-3}$ M). Figure adaptée de la référence 37.

➤ Transfert d'énergie

C'est un cas particulier où deux molécules fluorescentes sont à proximité immédiate. Le transfert d'énergie est un processus par lequel l'énergie d'un fluorophore donneur à l'état excité est transmise à un fluorophore accepteur. Il faut ainsi que le spectre d'émission du donneur recouvre le spectre d'absorption de l'accepteur. Pour des distances entre 10 et 80 Å, le mécanisme de transfert d'énergie prédominant est celui de type Förster (ou FRET en anglais pour *Förster resonance energy transfer*) où trois facteurs influent sur son efficacité :

- la distance entre les deux fluorophores (si elle est plus faible que le rayon de Förster, le transfert d'énergie est plus efficace) ; elle varie en $1/r^6$ dans ce modèle
- l'orientation relative des deux fluorophores
- le recouvrement spectral (plus il est important, plus le transfert sera optimal)

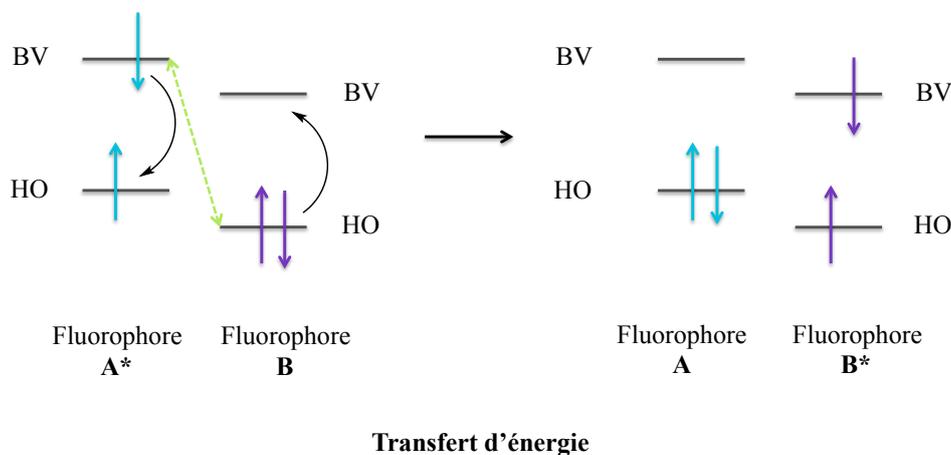


Figure 1- 36 : Transfert d'énergie de type Förster

Le rayon de Förster correspond à la distance pour laquelle l'efficacité du transfert d'énergie est de 50 %. L'expression suivante permet de le déterminer :

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

Equation 1- 17

avec κ^2 le facteur d'orientation, Φ_D^0 le rendement quantique de fluorescence du donneur en l'absence de l'accepteur, N_A le nombre d'Avogadro, n l'indice de réfraction du milieu, $I_D(\lambda)$ l'intensité de fluorescence normalisée du donneur et ε_A le coefficient d'extinction molaire de l'accepteur.

Quand l'une des deux entités est un complexe de coordination luminescent et non un fluorophore, il s'agit du phénomène de transfert d'énergie par résonance de luminescence (LRET). Ce phénomène est aussi efficace pour mettre au point des systèmes de détection de molécules neutres.

En ce sens, Yi Lu³⁹ a reporté en 2012 le complexe de terbium **16** de type I pour la détection de la molécule d'adénosine dont la structure est présentée ci-dessous. Le système comprend trois brins d'acides nucléiques : un brin avec le complexe de lanthanide au niveau de l'extrémité 5', un deuxième avec le fluorophore BHQ-1 au niveau de l'extrémité 3' et un aptamère (un court fragment) qui permet de relier les deux.

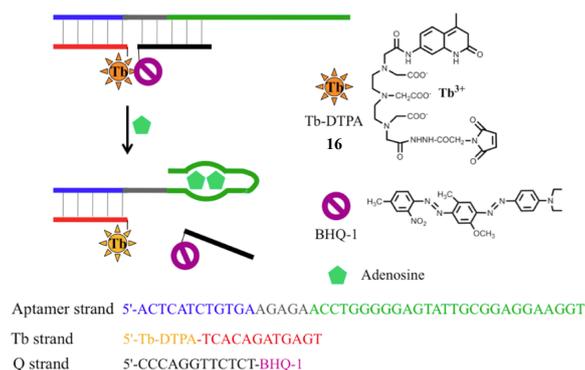
Figure 1- 37 : Principe de reconnaissance de l'adénosine par le complexe de terbium **16** par un mécanisme de LRET.

Figure issue de la référence 27.

En l'absence de l'adénosine dans une solution tampon HEPES, les brins s'hybrident ce qui rapproche le fluorophore du complexe de terbium. Le fluorophore éteint dans cette configuration la luminescence du complexe par un mécanisme de LRET. Par contre lorsque l'adénosine est présente, l'aptamère adopte une structure différente pour se lier à l'adénosine.

La luminescence du complexe est alors exaltée à 545 nm après excitation à 344 nm. La limite de détection de l'adénosine est de 60 μM .

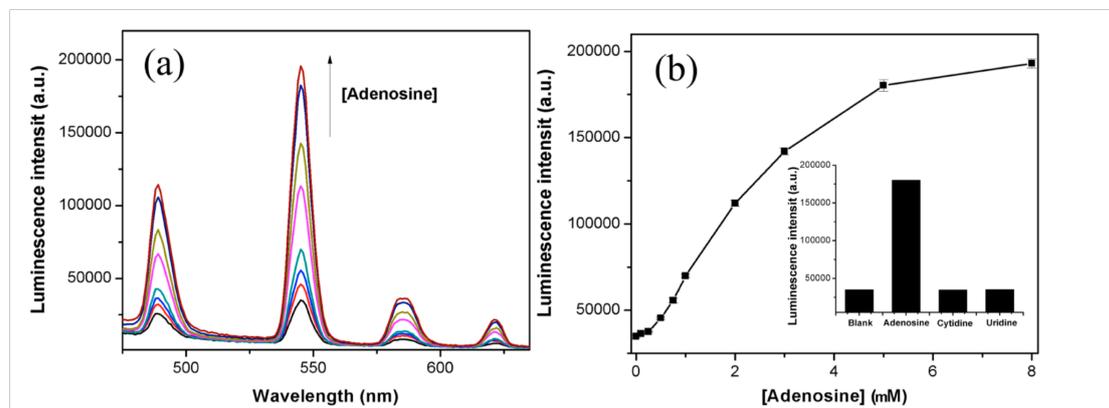


Figure 1- 38 : (a) Spectres d'émission du capteur 16 après ajouts de concentration croissante d'adénosine dans la solution tampon HEPES ($\lambda_{\text{exc}} = 344 \text{ nm}$), (b) intensité de l'émission du capteur à 545 nm en fonction de la concentration en adénosine. Encart : sélectivité du capteur pour l'adénosine par rapport aux autres nucléosides à une concentration de 5 mM. Figure issue de la référence 39.

Le transfert d'énergie peut aussi directement impliquer l'analyte. C'est le cas du complexe de terbium **17** dont la luminescence est relativement faible⁴⁰. Il a été associé à une β -cyclodextrine pour la détection d'un hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP). L'ion terbium coordine l'acide diéthylène triamine pentaacétique (DTPA) greffé sur une cyclodextrine (voir figure 1-39).

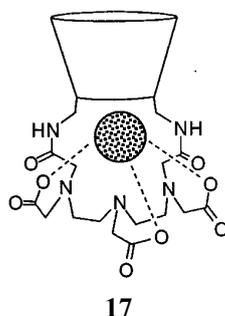


Figure 1- 39 : Structure du complexe de Terbium 17. Figure issue de la référence 40.

Quand l'hydrocarbure rentre dans la cavité de la β -cyclodextrine, celui-ci transfère son énergie à l'ion terbium. La luminescence de l'ion Tb^{3+} est mesurée en solution aqueuse à 544 nm après excitation à 275 nm pour la molécule de naphthalène et à 278 nm pour la molécule de 1,2,4,5-tétraméthylbenzène (voir figure 1-40 ci-dessous). La détection se fait pour des concentrations en hydrocarbures de l'ordre de $1 \times 10^{-5} \text{ M}$.

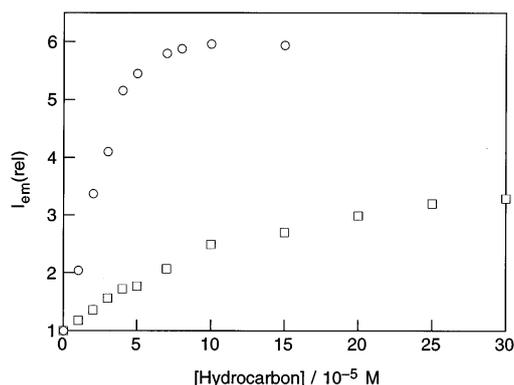


Figure 1- 40 : Intensité relative de l'émission de luminescence à 544 nm d'une solution aqueuse du complexe de terbium 17 ($2,5 \times 10^{-4}$ M) en fonction de la concentration en naphthalène (O) et en 1,2,4,5- tétraméthylbenzène (□) après excitation à 275 nm et 278 nm respectivement. Figure issue de la référence 40.

➤ Changement d'environnement après la complexation

L'eau peut être responsable de la diminution de la fluorescence en favorisant les processus de désexcitation non radiatifs. En utilisant cette propriété, une cage hydrophobe peut servir de capteur fluorescent de molécules neutres. En effet, en l'absence d'analyte dans la cavité, elle prémunit le fluorophore contre les effets délétères de l'eau sur la fluorescence.

C'est la stratégie utilisée par David Reinhoudt⁴¹ en 1998. Il a associé une β -cyclodextrine à un calix[4]arène. Les oligosaccharides de la cyclodextrine solubilisent la sonde en solution aqueuse. Le calix[4]arène a été fonctionnalisé par un fluorophore à savoir la 2-naphthylamine. Ce système a été conçu pour la détection de stéroïdes dont l'éthynylnortestostérone et de terpènes par fluorescence. La structure de ce composé **18** est présentée ci-dessous.

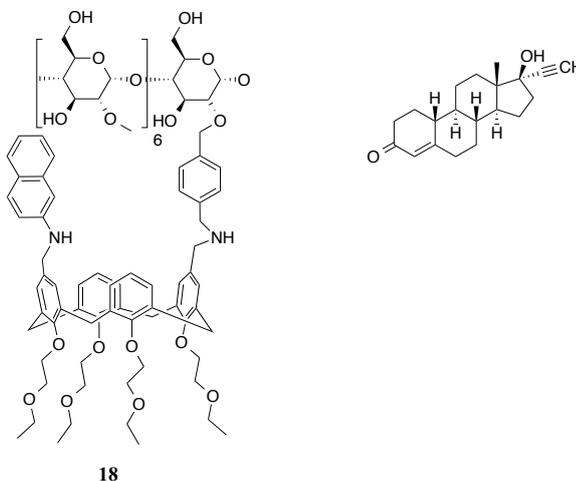


Figure 1- 41 : A gauche : Structure de la sonde fluorescente 18, à droite : structure de l'éthynylnortestostérone.

Le principe de détection repose sur le fait que la cavité peut accueillir soit la molécule neutre, soit le fluorophore attaché de façon covalente au système. La sensibilité du capteur provient alors du fait que seules certaines molécules sont capables de déloger le fluorophore inclus dans la cavité. La sélectivité de la détection quant à elle trouve son origine dans l'adéquation de la taille de l'hôte à celle de l'invité. Bien que la cyclodextrine soit vouée à accueillir la molécule invitée, le calixarène permet d'améliorer la complexation et d'augmenter la constante d'association en offrant des interactions hydrophobes supplémentaires avec les stéroïdes.

La bande d'émission de la sonde fluorescente est alors située à 408 nm soit un déplacement hypsochrome de 10 nm par rapport au fluorophore seul. Cela implique que l'environnement autour du fluorophore attaché au calix[4]arène est moins polaire. Cette observation permet d'établir que le fluorophore est « protégé » des molécules d'eau et qu'il est localisé dans la cavité de la cyclodextrine avec qui il a une grande affinité.

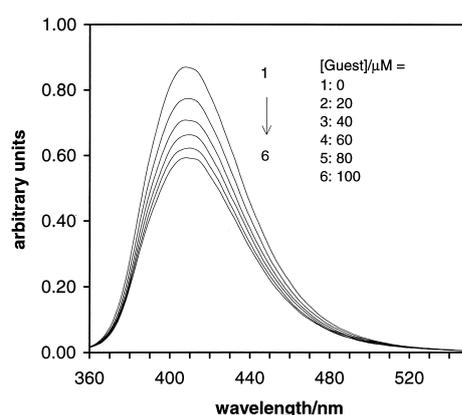


Figure 1-42 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde β cyclodextrine-calix[4]arène 18 en solution aqueuse après ajouts de l'éthynyl-nortestostérone ([Sonde] = 1,45 μM , λ_{exc} = 350 nm, λ_{em} = 408 nm). Figure issue de la référence 41.

La figure 1-42 ci-dessus montre l'évolution de la fluorescence de la sonde (1,45 μM) à 408 nm en présence de la molécule d'éthynyl-nortestostérone (de 20 μM à 100 μM), un membre de la famille des stéroïdes. Comme le maximum d'absorption n'évolue pas, cette diminution de fluorescence est uniquement due aux molécules d'eau qui éteignent la fluorescence par des voies de désexcitation non radiative. La molécule de stéroïde a donc délogé hors de la cavité le fluorophore 2-aminonaphthyl qui se retrouve de fait plus exposé aux molécules d'eau. Il se forme un complexe de stoechiométrie 1 : 1 dont la constante d'association est $K = 10300 \pm 1100 \text{ M}^{-1}$. La sonde est dix fois plus sensible aux stéroïdes qu'elle ne l'est pour les terpènes.

1.4) Fluorescence à l'état solide. AIE(E)

Les molécules fluorescentes ont principalement été étudiées en solution très diluée car en solution concentrée, la formation d'excimères et d'exciplexes éteint la fluorescence en raison de collisions entre ces molécules⁴².

Cependant, certaines molécules ont présenté des propriétés photophysiques très intéressantes à l'état solide. En l'absence de solvant, les molécules se retrouvent beaucoup plus proches les unes des autres. Usuellement les molécules fluorescentes planes telles que le pérylène sont donc enclines à s'agréger *via* des interactions π - π entre les unités aromatiques ce qui conduit à l'extinction de leur fluorescence à l'état solide. En revanche, les molécules émissives non planes voient leur fluorescence augmentée car la formation d'agrégats restreint la possibilité de rotation intramoléculaire⁴³. Lorsque le fluorophore est plus émissif à l'état solide qu'en solution, c'est le phénomène d'Exaltation de l'Emission Induite par Agrégation (ou en anglais *Aggregation Induced Enhanced Emission* (AIEE)). Ce dernier désigne également un rendement quantique plus élevé à la suite de l'agrégation moléculaire. Lorsqu'une molécule non émissive le devient après la formation d'agrégats, il s'agit du phénomène d'Emission Induite par Agrégation (ou en anglais AIE pour *Aggregation-induced emission*).

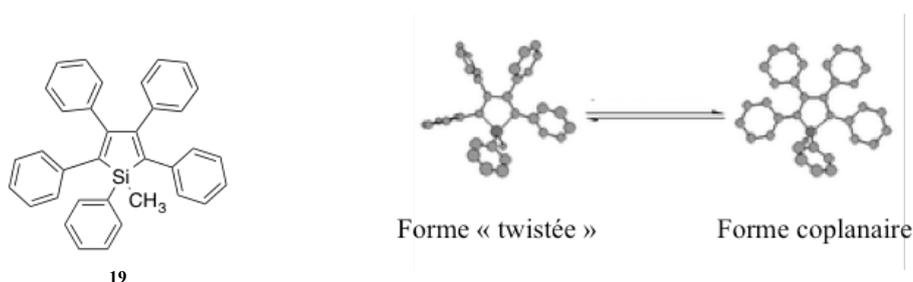


Figure 1- 43 : Structure du silole 19 caractérisé par le phénomène d'AIE et ses deux conformations associées.

Ayant émergé en 2001, ce concept d'AIE a été mis en évidence entre autres pour des composés siloles⁴⁴ ; la structure de l'un d'entre eux est présentée ci-dessus⁴⁵. Ce dérivé **19** existe sous une conformation « twistée » en solution dans des bons solvants et sous une conformation coplanaire après l'agrégation. Celle-ci augmente l'efficacité de l'émission de deux ordres de grandeur (soit 333 fois). Pour la structure coplanaire, la conjugaison est plus forte entre l'unité centrale et les unités phényles périphériques, ce qui conduit à des bandes d'absorption et d'émission de fluorescence plus intenses et décalées vers le rouge.

II) Analytes cibles et méthodes de détection existantes

2.1) L'atrazine : un pesticide très efficace mais dangereux pour l'Homme et l'environnement

2.1.1) Propriétés herbicides

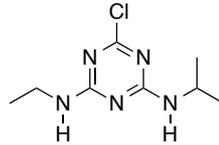


Figure 1- 44 : Structure de l'atrazine

Les propriétés de l'atrazine (dont la dénomination IUPAC est 2-chloro-4-éthylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazine) ont été découvertes dans les années 1960. C'est un herbicide systémique de la famille des triazines principalement utilisé pour maîtriser les mauvaises herbes graminoides et à feuilles larges dans les cultures de maïs et de sorgho. L'atrazine agit en bloquant le transfert d'électrons dans le photosystème II au niveau du polypeptide D1 (plastoquinone B) lors de la photosynthèse des végétaux⁴⁶. La structure cristalline du photosystème II est présentée ci-dessous⁴⁷.

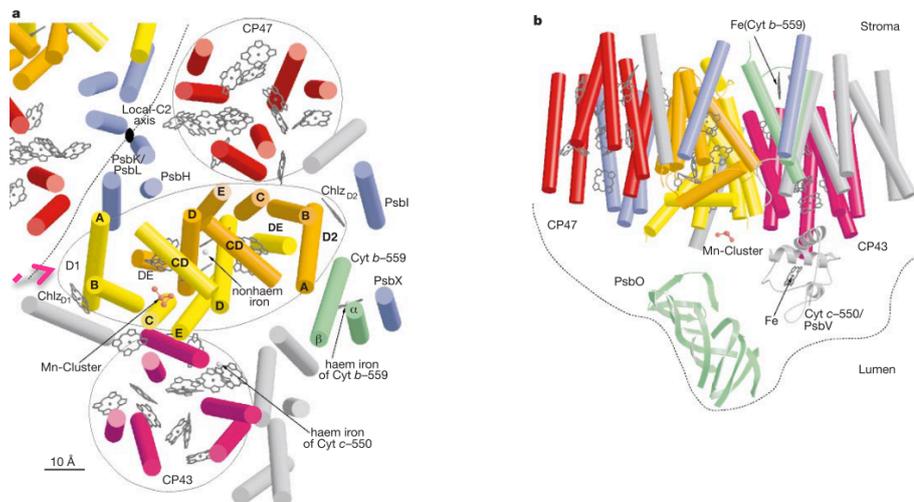
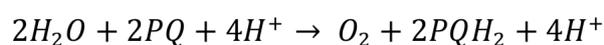


Figure 1- 45 : Structure du photosystème II avec ses sous-unités protéiques et ses cofacteurs (protéine D1 indiquée par la flèche rose). Figure issue de la référence 47.

Le PSII est le siège de l'oxydation de l'eau et de la réduction des molécules de plastoquinone et catalyse la réaction suivante:



Equation 1- 18

L'atrazine entraîne une modification du potentiel d'oxydoréduction de la plastoquinone B, ce qui rend thermodynamiquement défavorable le transfert d'électrons de Q- (premier accepteur d'électrons du photosystème II) vers la plastoquinone B.

2.1.2) Biodégradation de l'atrazine et contamination de l'environnement

En 2001, l'Union Européenne a interdit l'utilisation de l'atrazine, pesticide extrêmement répandu dans le monde. A cette date, la France était le pays européen qui recourait le plus à l'atrazine pour l'agriculture (environ 3,4 kg/hectare). En 2011, il était encore utilisé dans plus de 70 pays dont les Etats-Unis, le Brésil, l'Argentine, le Mexique et la Chine⁴⁸. Une fois répandue dans les sols, l'atrazine subit des transformations chimiques qui la dégradent en d'autres composés appelés métabolites. Ces métabolites constituent potentiellement des molécules toxiques pour l'Homme et l'environnement. La toxicité de l'atrazine et de ses dérivés est aujourd'hui encore controversée.

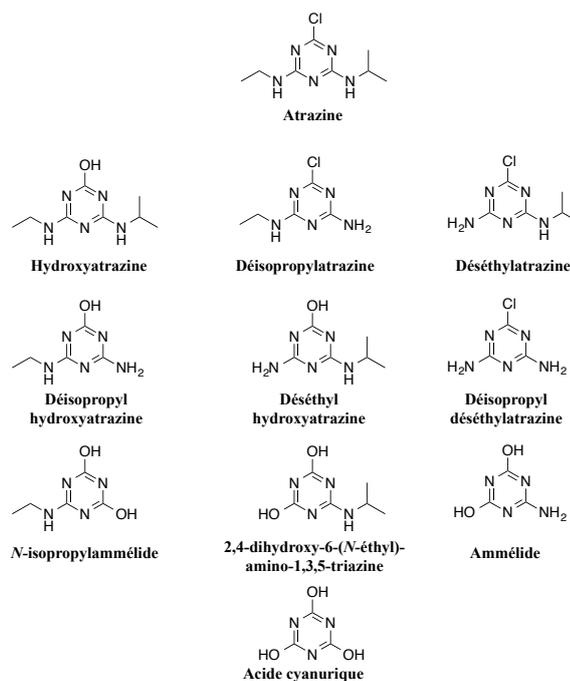


Figure 1- 46 : Principaux métabolites de l'atrazine. Figure adaptée de la référence⁴⁹.

En France, huit herbicides ont été détectés entre 2001 et 2003 plus de 50 fois dans les eaux mises en distribution à une concentration supérieure à 0,1 µg/L (limite de qualité) : la déséthylatrazine, l'atrazine, la déisopropylatrazine, la simazine, la terbuthylazine, le diuron, la déséthylterbuthylazine et le métolachlore⁵⁰. Les plus forts taux de dépassement sont pour la déséthylatrazine (17,5 %) et pour l'atrazine (6,8 %). La Bretagne est une région particulièrement touchée en raison de sa forte activité agricole. Des traces d'atrazine ont été

détectées dans les eaux de surface et dans les nappes phréatiques qui constituent des sources d'eau potable. En 2006, la concentration maximale mesurée dans les eaux de surface était de 0,38 µg/L pour l'atrazine et de 0,37 µg/L pour l'hydroxyatrazine ; dans les nappes phréatiques, elle était de 0,14 µg/L pour l'atrazine, 0,38 µg/L pour l'hydroxyatrazine et 0,32 µg/L pour la déséthylatrazine⁴⁸.

L'Union Européenne a établi un cadre communautaire pour la protection et la gestion de l'eau (Directive Cadre sur l'Eau ou DCE)⁵¹. Les États membres doivent identifier et analyser les eaux européennes et adopter des plans de gestion et des programmes de mesures adaptés. L'objectif initial était d'atteindre un « bon état » écologique et chimique de toutes les eaux communautaires en 2015.

2.1.3) Effets sur la santé

La directive 2000/60/CE a classé l'atrazine parmi les « substances dangereuses prioritaires ». Cette nocivité se manifeste après inhalation ou contact dermique. Les risques d'effets graves apparaissent en cas d'exposition prolongée ou par ingestion. L'atrazine est par ailleurs soupçonnée d'être à l'origine de certains cancers comme celui du sein ou de la prostate⁵².

Parmi les études réalisées sur l'atrazine, nous pouvons citer l'étude PÉLAGIE (Perturbateurs Endocriniens : Étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité et l'Enfance). L'objectif était de répondre aux préoccupations de santé dues à la présence de composés toxiques dans l'environnement⁴⁸. Environ 3500 mères et leurs enfants ont été suivis en Bretagne depuis 2002 car l'atrazine était fortement suspectée d'avoir des effets néfastes sur la santé de l'enfant. L'étude s'intéresse notamment aux femmes enceintes.

De 2002 à 2006, des tests ont été effectués en Bretagne dans des échantillons d'urines de 579 femmes enceintes pour évaluer la concentration de douze molécules de la famille des triazines dont l'atrazine, ses trois produits de désalkylation présents dans les eaux de boissons (déséthylatrazine, désisopropylatrazine, 2-chlorodiaminoatrazine) et ses cinq produits hydroxylés principalement formés dans les plantes (hydroxyatrazine, hydroxysimazine, hydroxydéséthylatrazine, hydroxydésisopropylatrazine, amméline). Seulement 6 % des échantillons contenait des traces d'atrazine et 8 % des traces de simazine mais leurs métabolites désalkylés et hydroxylés ont été trouvés respectivement dans 20 % et 40 % des échantillons. Il a par ailleurs été prouvé que les femmes présentant des traces urinaires

d'atrazine ou d'un de ses dérivés avaient 50 % de risque supplémentaire d'avoir un enfant de faible poids à la naissance et 70 % de risque supplémentaire d'avoir un enfant avec un petit périmètre crânien. Ces résultats démontrent ainsi toute l'importance de détecter l'atrazine dans l'environnement.

2.1.4) Méthodes actuelles de détection

Quatre techniques de détection de l'atrazine sont présentées ci-dessous :

➤ Méthode chromatographique

Les trois calix[4]arènes **20**, **21**, **22** portant des phosphonates ont été développés pour complexer l'atrazine dans l'eau⁵³. La complexation est analysée par HPLC en phase inverse. La constante d'association du complexe hôte-invité 1 : 1 a été évaluée entre 2513 et 6785 M⁻¹. Elle a été calculée à partir du facteur de capacité de l'atrazine (qui représente le rapport molaire entre la quantité de soluté dans la phase stationnaire et dans la phase mobile) et la concentration en calixarène dans la phase mobile (de l'ordre de 10⁻⁴ M). La complexation se fait grâce à des interactions hydrophobes, électrostatiques et des interactions entre les systèmes π . La cavité hydrophobe, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, accueille les molécules apolaires telles que l'atrazine qui a plus d'affinité pour la cage que pour le milieu aqueux.

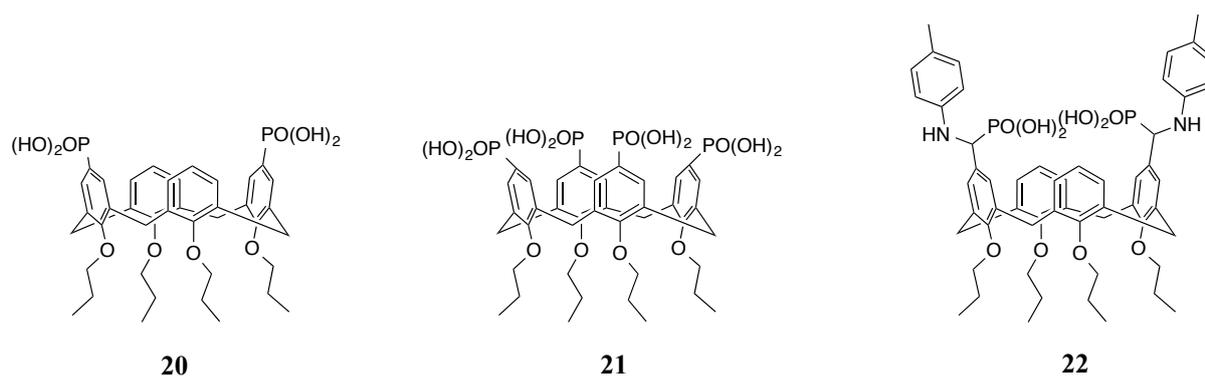


Figure 1- 47 : Structure des calix[4]arènes fonctionnalisés par des phosphonates.

La constante d'association a été calculée de la façon suivante :

$$\frac{1}{k'} = \frac{1}{k'_0} + K_A \times \frac{[\text{Calixarène}]}{k'_0}$$

Equation 1- 19

avec les facteurs de capacité k' et k'_0 de l'atrazine en absence et en présence du calixarène en phase mobile, respectivement.

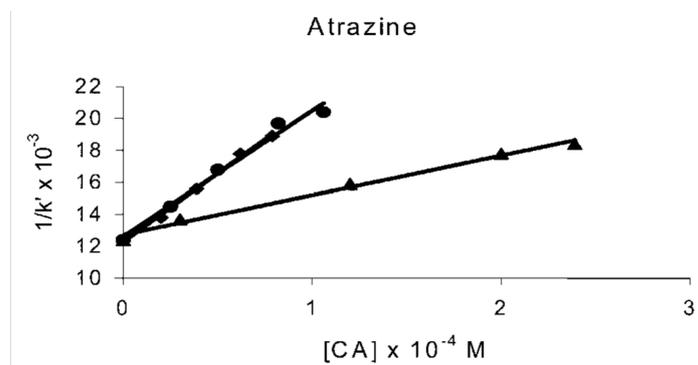


Figure 1- 48 :Tracé de $1/k'$ en fonction de la concentration de calixarènes 20(●), 21(▲), 22(◆) pour l'atrazine. Figure issue de la référence 53.

➤ Méthode conductimétrique

Un immunocapteur conductimétrique a permis de détecter des traces d'atrazine dans des solutions tampon PBS⁵⁴. La limite de détection est de $0,034 \mu\text{g.L}^{-1}$, ce qui est bien en dessous de la quantité maximale autorisée par l'Union Européenne de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour des traces d'atrazine dans les denrées alimentaires. L'étude est basée sur la compétition immunochimique entre l'antigène 2d-BSA et l'atrazine (qui est aussi un antigène) pour un anticorps spécifique (Ab1 ici). L'antigène compétitif est immobilisé de façon covalente sur la surface des électrodes *via* les groupements amines des lysines ou des arginines de l'antigène et les groupements époxy de la surface du capteur. Après la première réaction, la quantité de Ab1 capturé par l'atrazine est éliminée. Puis, le signal conductimétrique est amplifié par l'ajout d'un second anticorps (Ab2) sur lequel est attaché des nanoparticules d'or. La concentration d'Ab2 et ainsi de nanoparticules d'or est directement reliée à la concentration d'atrazine.

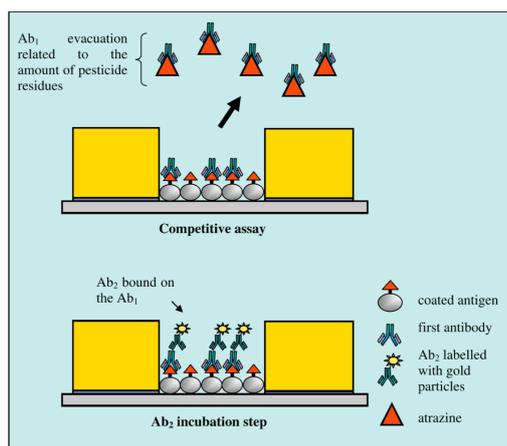


Figure 1- 49 : Principe de l'immuncapteur conductimétrique. *En haut* : Analyse compétitive, *en bas* : étape d'incubation de l'anticorps Ab2. Figure issue de la référence 54.

➤ Méthode électrochimique

De nouveaux matériaux ont été développés tels que les polymères à empreinte moléculaire (ou en anglais MIP pour *Molecular Imprinted Polymer*) pour mimer les mécanismes de reconnaissance existant dans la nature⁵⁵. La technique d'impression moléculaire consiste généralement à préparer des polymères qui reconnaissent sélectivement l'analyte. Des monomères fonctionnels se réarrangent en présence de la molécule cible dans un solvant porogène. Après copolymérisation du mélange avec un agent réticulant, l'analyte et le solvant sont extraits du polymère réticulé nouvellement formé. Ainsi la matrice polymère présente-elle une préorganisation de sa structure pour accueillir sélectivement l'analyte. En plus de la sélectivité, la capacité d'absorption de l'analyte est un paramètre important pour les MIPs.

Il est de plus possible d'utiliser ces MIP pour des capteurs électrochimiques capables de détecter l'atrazine⁵⁶. Ces derniers sont alors appelés polymères conducteurs à empreinte moléculaire (ou en anglais MICP pour *Molecular Imprinted Conducting Polymer*).

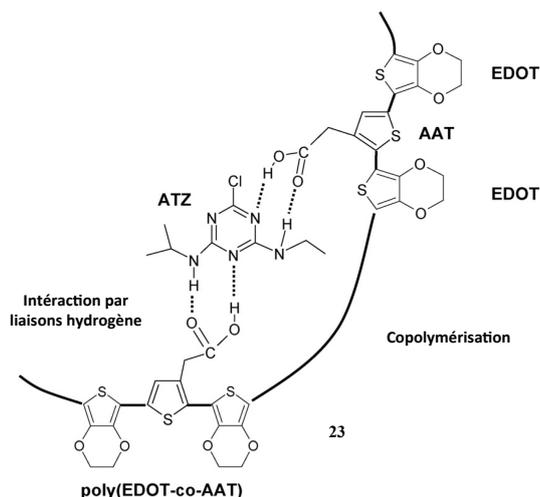


Figure 1- 50 : Représentation schématique de la copolymérisation à partir des liaisons hydrogène entre l'atrazine (notée ATZ) et l'acide-2-thiophène acétique (noté AAT). Figure issue de la référence 56.

En 2009, les MICP conjugués **23** ont été synthétisés à partir de deux monomères (la molécule d'acide-2-thiophène acétique et la molécule de 3,4-éthylènedioxythiophène) sur une électrode de platine en présence d'atrazine. L'association se fait par liaisons hydrogène dans le dichlorométhane contenant l'électrolyte TBATFMS ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). Le MICP ainsi mis au point est très sélectif de l'atrazine par rapport à d'autres triazines telles que la simazine. La détection se fait en analysant le voltammogramme cyclique du polymère qui est modifié après interaction avec l'atrazine. En effet, le courant mesuré augmente de façon significative en présence d'atrazine et des pics correspondant à la réduction de l'atrazine ont été observés (voir figure 1-51). La limite de détection est de $10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.

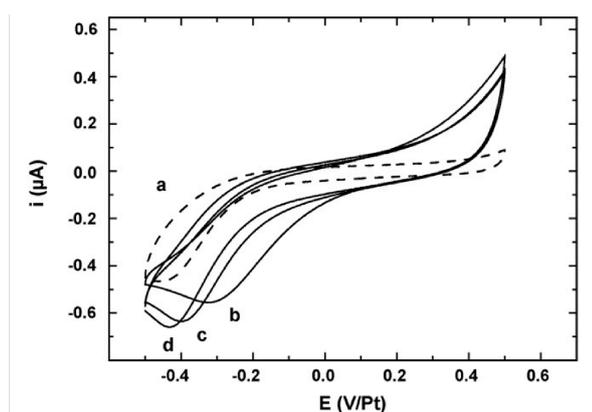


Figure 1- 51 : Voltammogrammes cycliques de l'atrazine (vs électrode de platine) dans le dichlorométhane contenant l'électrolyte TBATFMS ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) en présence de concentrations croissantes d'atrazine : (a) 0 mol L^{-1} , (b) $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, (c) $5,7 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ and (d) $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ (vitesse de scans : 25 mV.s^{-1} , électrode travail : électrode platine, contre-électrode : fil d'acier inoxydable). Figure issue de la référence 56.

➤ Fluorescence

Le MIP **24** a été conçu à partir de nanoparticules de silice pour lequel l'interaction avec l'atrazine est détectée par fluorescence⁵⁷.

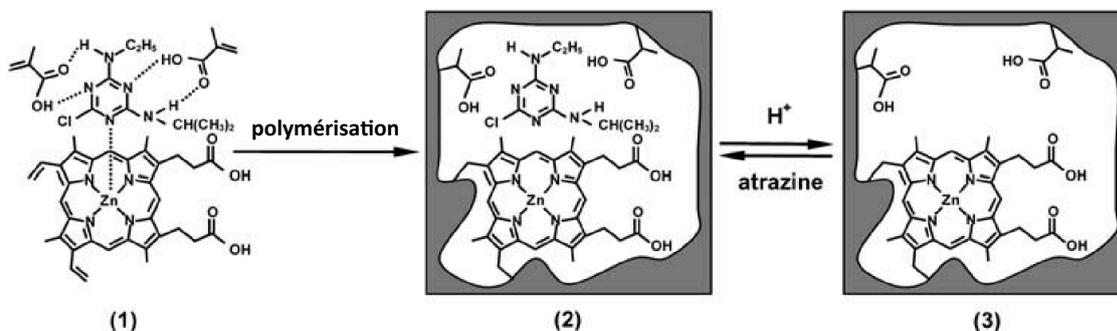


Figure 1- 52 : Représentation schématique du MIP 24 pour la détection de l'atrazine. Figure issue de la référence 57.

Une protoporphyrine de zinc y joue le rôle à la fois de fluorophore et de monomère et forme un complexe avec l'atrazine au moment de la polymérisation. Un deuxième monomère, l'acide méthacrylique, interagit par liaison hydrogène. Une fois le MIP formé, la liaison avec l'atrazine entraîne une diminution de la fluorescence de la porphyrine à 573 nm. La limite de détection dans le DMSO est de 1,8 mM.

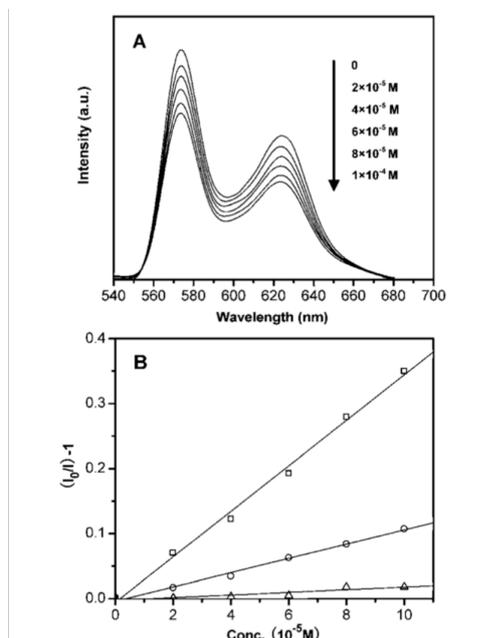


Figure 1- 53 : (A) Spectres de fluorescence du MIP 24 en présence de concentrations croissantes en atrazine dans le DMSO, (B) graphe de Stern-Volmer (\square) MIP en présence d'atrazine (\circ) analogue du MIP préparé sans l'atrazine, (\triangle) fluorophore seul ZnPP avec l'atrazine. Figure issue de la référence 57.

La spectrométrie de masse est également très utilisée encore aujourd'hui pour détecter des traces d'atrazine. Cependant toutes les méthodes qui utilisent la chromatographie ou la spectrométrie de masse requièrent du personnel qualifié, des coûts élevés et du temps, d'où l'importance de développer de nouvelles techniques de détection comme la fluorescence. Celle-ci possède en effet plusieurs avantages tels que la sensibilité, la sélectivité, un faible coût et une facilité d'utilisation. Elle offre ainsi de belles perspectives pour construire de nouveaux capteurs fluorescents performants.

2.2) Utilisation de la mélamine dans l'industrie chimique et agroalimentaire

2.2.1) Utilisation de la mélamine dans l'industrie chimique

La mélamine (dont la dénomination IUPAC est 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine) a été principalement utilisée dans la production de résines appelées « mélamine-formaldéhyde » qui composent notamment des matières plastiques, des adhésifs, des colles, des détergents et des peintures⁵⁸. Il s'agit d'un cycle constitué de trois atomes d'azote qui porte trois amines – NH₂.

La production de résine mélamine-formaldéhyde est généralement réalisée en faisant réagir la mélamine avec la molécule de formaldéhyde en solution aqueuse pour donner des dérivés méthylolés⁵⁹. Ces derniers forment un réseau tridimensionnel réticulé après condensation. La réaction de condensation se fait entre deux groupes méthylols ou entre un groupe méthylol et un groupe amine (-NH₂) pour former un pont méthylène. Ces réactions sont notamment contrôlées par la température et le pH. La résine présente de nombreux atouts : dureté, rigidité, résistance à la chaleur et à la lumière, isolation électrique, etc.

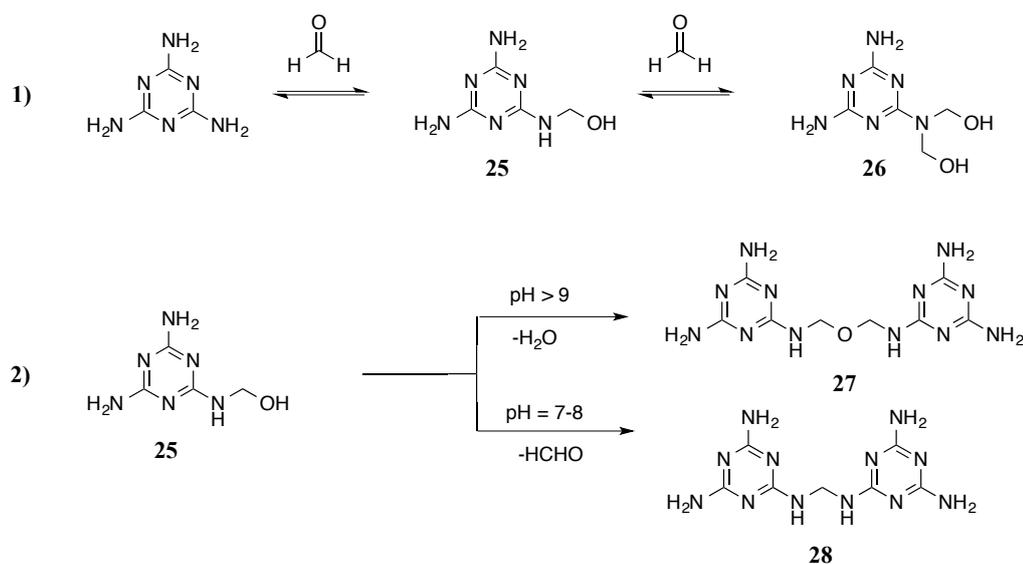


Figure 1- 54 : Synthèse de la résine mélamine-formaldéhyde. Figure adaptée de la référence 59.

2.2.2) Synthèse de dérivés alkylés de la mélamine

De nombreux dérivés alkylés de la mélamine peuvent être synthétisés *via* des substitutions nucléophiles aromatiques à partir de chlorotriazines. Il est en effet possible de substituer les trois chlores du chlorure cyanurique^{60,61}.

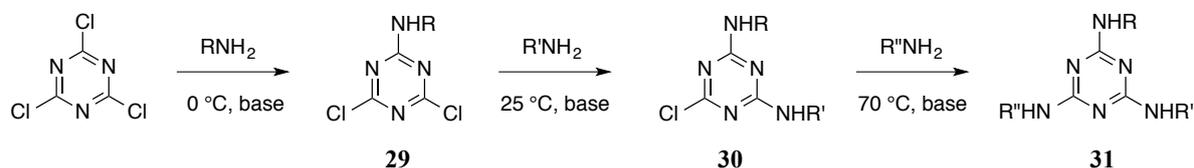


Figure 1- 55 : Réactivité chimiosélective du chlorure cyanurique. Figure adaptée de la référence 62.

Celui-ci est peu coûteux et fait preuve d'une chimiosélectivité intéressante avec les amines⁶² : la première substitution se produit à 0 °C, la deuxième aux alentours de 25 °C et la dernière à environ 70 °C.

Les diverses transformations chimiques du chlorure cyanurique conduisent alors à des composés appelés triaminotriazines. Ces molécules peuvent former des dendrimères, macromolécules constituées de monomères associés selon un processus arborescent. Un des domaines d'application des dendrimères est la médecine : ils peuvent servir de systèmes d'administration lent et contrôlé de substances actives de médicament. En effet, il est possible d'emprisonner des substances actives dans leurs cavités.

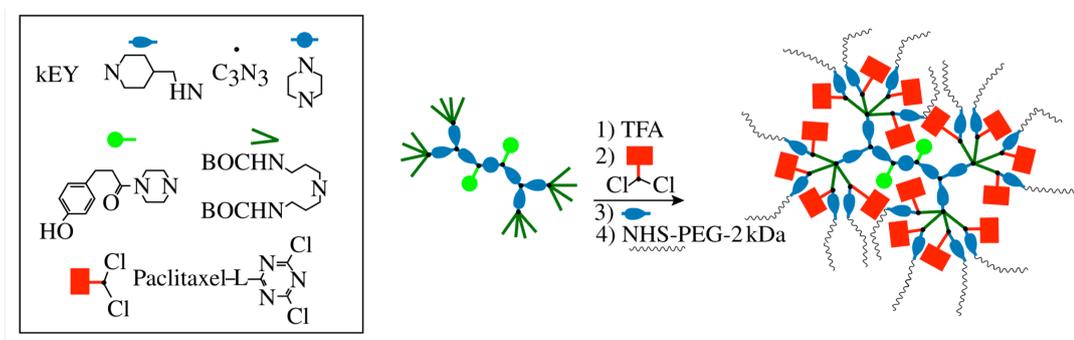


Figure 1- 56 : Structure du dendrimer hydrosoluble 32 délivrant le paclitaxel. Figure issue de la référence 62.

Le paclitaxel (ou taxol) est une molécule utilisée en chimiothérapie et a été introduit par l'intermédiaire d'une dichlorotriazine dans le dendrimer polyaminé **32**. Le groupement polyéthylèneglycol (PEG) rend le dendrimer hydrosoluble. Le dendrimer final possède entre 13 et 16 molécules de paclitaxel.

2.2.3) Scandale alimentaire et effets sur la santé

La mélamine a par ailleurs été retrouvée dans le lait, les produits spécifiques pour nourrissons et également pour les animaux. Elle se caractérise par une faible toxicité aiguë par

voie orale. Cependant, elle peut induire à fortes doses des pathologies du rein pouvant aller jusqu'à la mort chez les nourrissons et les enfants. Cette molécule qui contient beaucoup d'atomes d'azote (66 % de sa masse) a été ajoutée dans ces aliments pour augmenter artificiellement le taux de protéines.

La première contamination du lait par la mélamine a été reportée en Chine en septembre 2008 avant que cela ne devienne un problème de santé majeur au niveau mondial^{63,64}. Un grand nombre de décès d'animaux domestiques dans le monde ont été attribués à la mélamine. Les autorités chinoises ont déclaré qu'environ 300 000 enfants ont ingéré un produit contenant de la mélamine et au moins six d'entre eux en sont morts.

La mélamine peut être hydrolysée *in vitro* en acide cyanurique qui se complexe ensuite avec la molécule de mélamine, ce qui engendre des calculs rénaux et diverses pathologies⁵⁸. L'OMS a décrété que le taux résiduel de mélamine ne pouvait excéder 1,0 mg.kg⁻¹ pour le lait et 2,5 mg.kg⁻¹ pour les produits à base de lait.

2.2.4) Méthodes actuelles de détection

La figure 1-57 récapitule les divers éléments auxquels il a été possible de faire appel pour construire un capteur de la mélamine tels que des nanoparticules d'or ou d'argent, le graphène et des anticorps. Cette partie présente quelques exemples de méthodes de détection colorimétrique, électrochimique et fluorimétrique utilisées de nos jours.

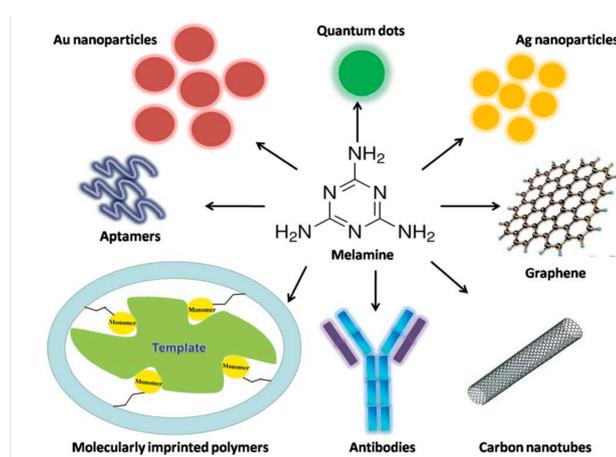


Figure 1- 57 : Eléments utilisés pour la reconnaissance et la transduction du signal pour la fabrication de capteurs de mélamine. Figure issue de la référence 58.

➤ Détecteur colorimétrique

Tout d'abord, Lehui Lu a développé en 2009 le détecteur colorimétrique **33** de la mélamine⁶⁵ en modifiant des nanoparticules d'or par des ligands.

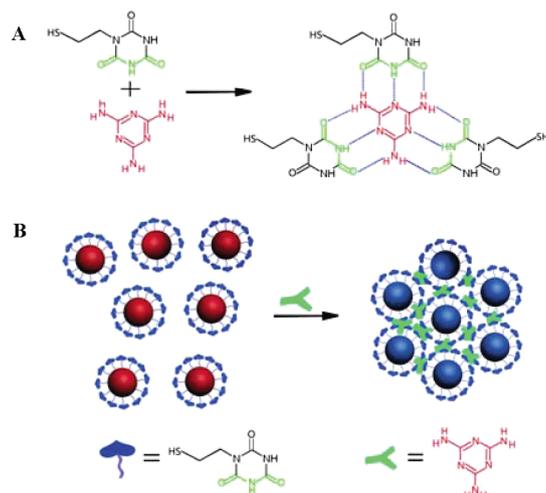


Figure 1- 58 : (A) Reconnaissance par liaisons hydrogène entre la mélamine et le dérivé d'acide cyanurique, (B) détection colorimétrique de la mélamine utilisant les nanoparticules d'or modifiées. Figure issue de la référence 65.

Le ligand choisi est l'acide cyanurique. Il a été fonctionnalisé par un thiol pour former la molécule de MTT (1-(2-mercaptoéthyl)-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione). Il interagit dans l'eau avec la mélamine à l'aide de trois liaisons hydrogène ce qui entraîne l'agrégation des nanoparticules d'or et modifie la couleur des nanoparticules d'or du rouge (519 nm) au bleu (700 nm). La limite de détection est de 2,5 ppb et la détection visuelle est permise après une minute.

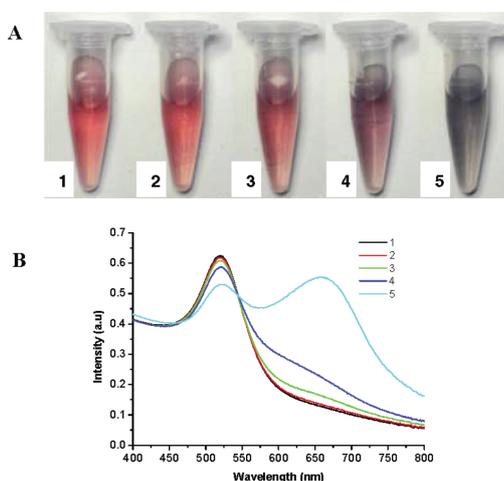


Figure 1- 59 : A) Changement de couleur du capteur 33 : (1) sans aucun ajout; (2) ajout de l'extrait de lait; (3) ajout de l'extrait contenant 1 ppm (concentration finale : 8 ppb); (4) ajout de l'extrait contenant 2,5 ppm (concentration finale : 20 ppb); (5) ajout de l'extrait contenant 5 ppm (concentration finale : 40 ppb); B) spectres correspondants.

Figure issue de la référence 65.

➤ Capteur électrochimique

Par ailleurs, un capteur électrochimique conçu en 2009 par Yujian He permet la détection de la mélamine dans des produits contenant du lait⁶⁶. L'ion ferricyanure est utilisé comme sonde.

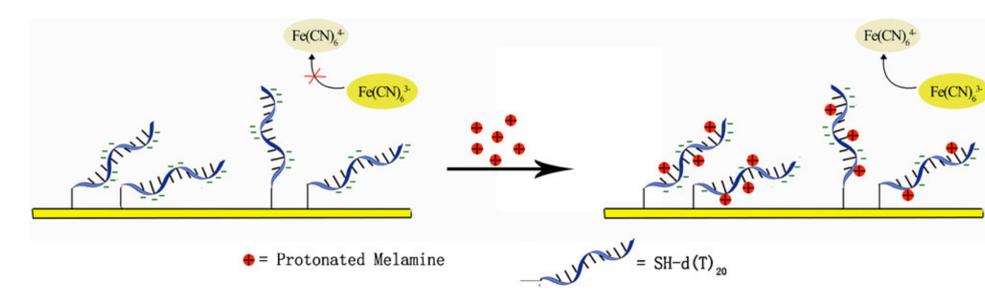


Figure 1- 60 : Représentation schématique du principe de reconnaissance. Figure issue de la référence 66.

Des oligonucléotides fonctionnalisés par un groupement 6-mercaptopexyle s'auto-assemblent sur la surface des électrodes d'or à la suite d'une interaction covalente entre l'or et l'atome de soufre des oligonucléotides.

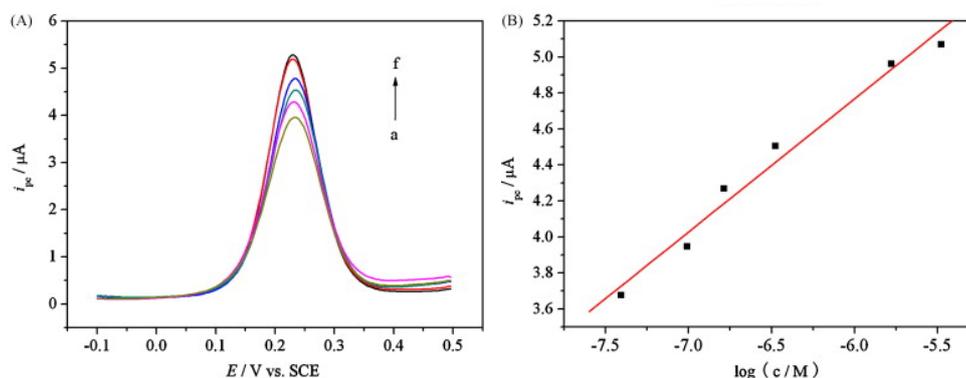
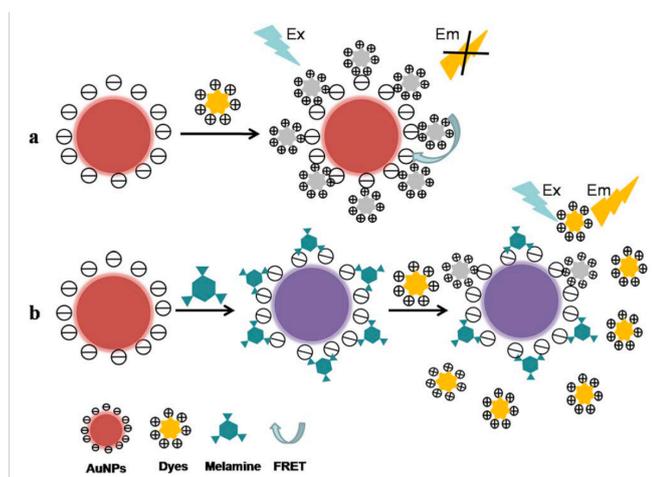


Figure 1- 61 : A) Voltammogrammes à impulsion différentielle de $K_3Fe(CN)_6$ (1,0 mM) dans un mélange de mélamine à pH = 7,0, tampon PBS, la concentration en mélamine est respectivement : (a) $3,9 \times 10^{-8}$ M, (b) $9,8 \times 10^{-8}$ M, (c) $1,6 \times 10^{-7}$ M, (d) $3,3 \times 10^{-7}$ M, (e) $1,7 \times 10^{-6}$ M, (f) $3,3 \times 10^{-6}$ M. B) relation linéaire entre le pic de réduction et la concentration en mélamine. Figure issue de la référence 66.

La mélamine interagit ensuite avec ces oligonucléotides *via* des liaisons hydrogène et des interactions électrostatiques. Comme le montre la figure 1-61, cette interaction conduit à une augmentation du courant de pic de l'ion ferricyanure. La limite de détection est de $9,6 \times 10^{-9}$ M.

➤ **Sonde fluorescente**



➤ **Figure 1- 62 : Mécanisme du FRET entre les nanoparticules d’or et les fluorophores pour la détection de la mélamine. Figure issue de la référence 58.**

Enfin, une sonde fluorescente a été construite à partir de nanoparticules d’or et de la fluorescéine pour la détection de la mélamine par Song Lin⁶⁷ en 2011. La fluorescence de la fluorescéine est éteinte par les nanoparticules d’or par un transfert d’énergie (figure 1-62).

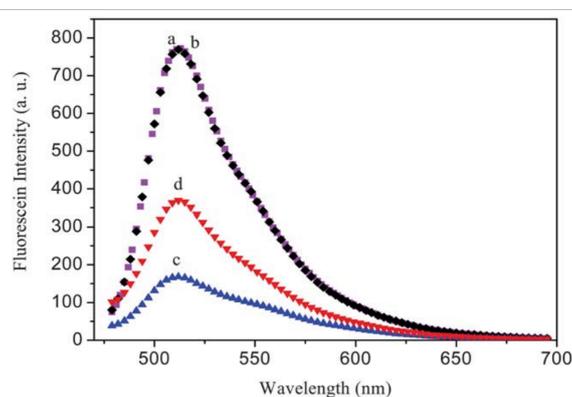


Figure 1- 63 : Spectres de fluorescence : (a) Fluorescéine ($3,2 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$), (b) Fluorescéine ($3,2 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$) et mélamine ($1,3 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$), (c) Fluorescéine ($3,2 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$) et nanoparticules d’or ($2,6 \text{ nmol.L}^{-1}$), (d) Mélange de Fluorescéine ($3,2 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$) et nanoparticules d’or ($2,6 \text{ nmol.L}^{-1}$) et mélamine ($1,3 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$). Figure issue de la référence 67.

La fluorescéine s’adsorbe à la surface des nanoparticules. L’incubation de la mélamine avec les nanoparticules d’or dans un tampon phosphate PBS avant l’ajout de fluorescéine permet de retrouver l’émission de fluorescence de celle-ci à 513 nm. En effet, une compétition a lieu entre la mélamine et la fluorescéine pour s’adsorber à la surface des nanoparticules. Il y a alors moins de fluorescéine adsorbée ce qui entraîne une augmentation de la fluorescence (voir figure 1-63). La détection nécessite ainsi quinze minutes et la limite de détection est de l’ordre du nanomolaire.

2.3) Détection des amines aliphatiques

2.3.1) Importance des amines dans les milieux biologiques

Les amines biogéniques sont impliquées dans de nombreuses activités biologiques telles que l'activité cérébrale, la régulation de la température corporelle, la régulation du pH de l'estomac, les sécrétions gastriques, la réponse immunitaire, la croissance cellulaire et la différenciation cellulaire⁶⁸.

Elles ont ainsi des rôles biologiques bien définis et la dérégulation de leurs concentrations peut causer des troubles sévères. Les amines biogéniques proviennent de la décarboxylation des acides aminés, de l'amination ou de la transamination d'aldéhydes ou de cétones⁶⁹. Ce sont des composés naturels pouvant être également produits par des bactéries durant la décarboxylation des acides aminés dans les cellules. Il est ainsi possible d'en trouver dans les produits alimentaires contenant des protéines ou des acides aminés. La quantité des amines formées dépend de l'aliment et du microorganisme présent. C'est ainsi un moyen d'évaluer la contamination microbiologique d'un aliment et la dégradation potentielle d'un aliment. Des taux élevés en amines biogéniques peuvent se retrouver dans les produits alimentaires et causer des nausées, des maux de têtes et des modifications de la tension artérielle⁷⁰. Les boissons fermentées, viandes, poissons et produits laitiers sont les produits qui en contiennent le plus. Les principales amines biogéniques rencontrées sont : l'histamine, la tyramine, la putrescine et la cadaverine⁷¹. De plus, des concentrations élevées en polyamines telles que la spermidine, la putrescine ou la spermine ont été mesurées dans les tissus prolifératifs⁷².

Comme le montre la figure **1-64** suivante, les amines biogéniques sont de structures différentes (aliphatiques, aromatiques, hétérocycliques) et peuvent comporter plusieurs groupements amines.

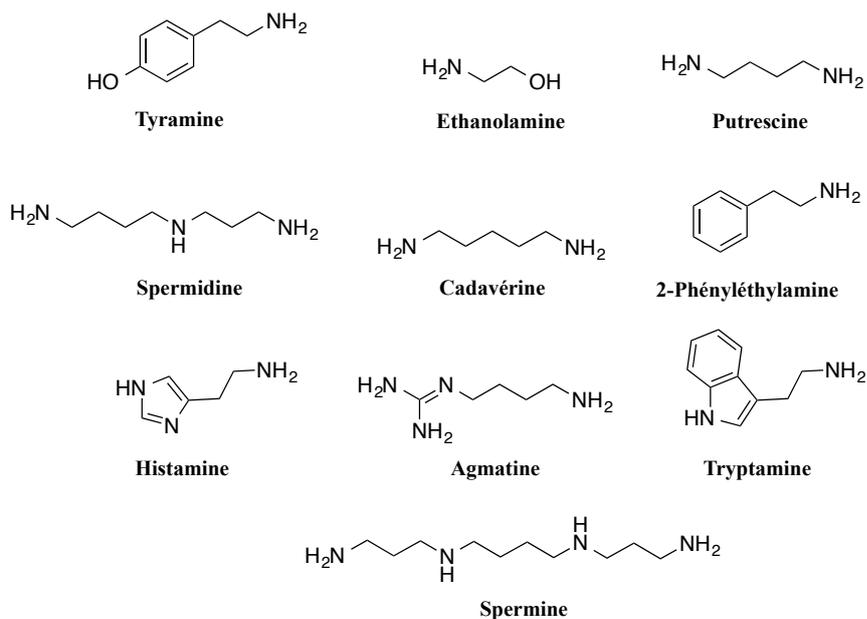


Figure 1- 64 : Structure de quelques amines biogéniques.

2.3.2) Méthodes actuelles de détection

Actuellement les amines sont dosées par différentes techniques de chromatographie⁷³ comme la chromatographie en phase liquide (HPLC), en phase gaz (CPV) et l'électrochromatographie capillaire ainsi que par la spectroscopie UV-visible⁷⁴ et la fluorescence. Il est également possible d'utiliser des aptamères d'ADN. Quelques exemples sont décrits ci-dessous.

➤ Détection à l'aide d'aptamères

Un aptamère d'ADN publié dans la littérature en 2009 peut se lier à la petite molécule d'éthanolamine et de détecter ainsi des molécules contenant un groupement éthylamine ou méthylamine⁷⁵. Les aptamères sont des ligands constitués d'acides nucléiques capables de se lier à des molécules « cibles » par de multiples interactions : interaction π - π , interactions de van der Waals, interactions électrostatiques ou complémentarité de forme. Leur structure tridimensionnelle dépend de leur séquence primaire.

L'éthanolamine a été immobilisée sur des billes magnétiques et incubée en solution aqueuse avec des aptamères sur lesquels a été greffé la fluorescéine. Une autre molécule organique « cible » a été introduite pour entrer en compétition avec l'éthanolamine pour se lier à l'aptamère. Après différentes étapes de traitement et de lavage, la fluorescence des aptamères restés liés aux billes magnétiques est analysée. L'affinité des aptamères pour

l'éthanolamine a ainsi pu être déterminée. Les constantes de dissociation sont de l'ordre du nanomolaire avec l'éthanolamine.

Les deux aptamères dont la structure est présentée ci-dessous sont capables de se lier à l'éthanolamine libre, à d'autres molécules organiques parmi lesquelles la diéthanolamine et le 4-amino-1-butanol et à quelques acides aminés comme la lysine.

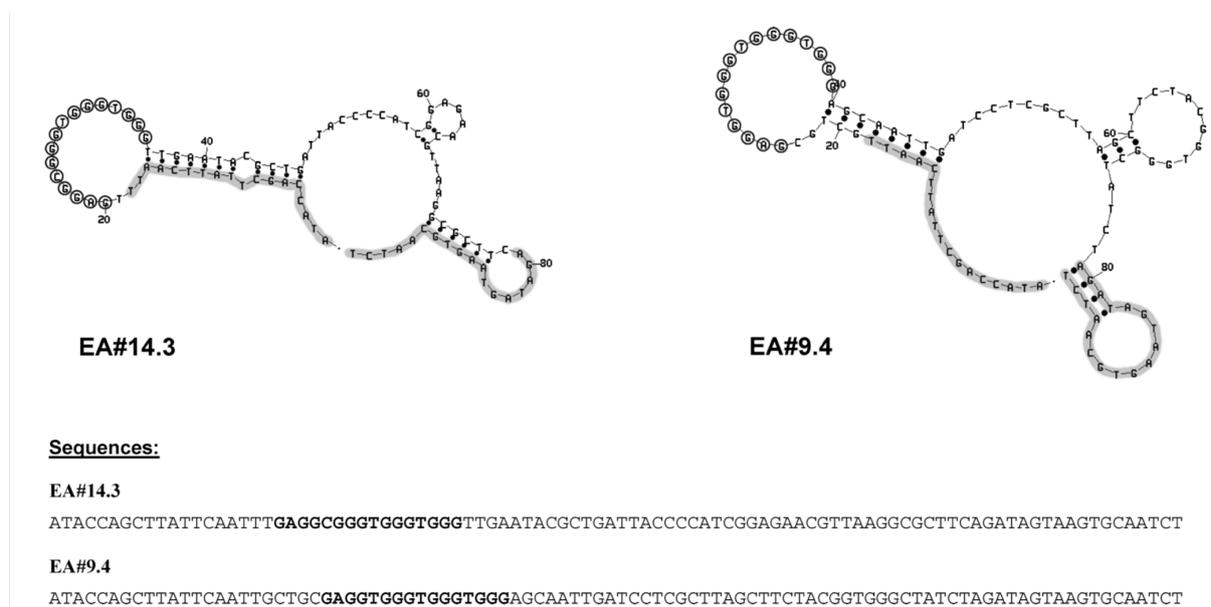


Figure 1- 65 : Séquences et structures secondaires énergétiquement favorables des aptamères se liant à l'éthanolamine EA#14.3 and EA#9.4. La séquence consensus est indiquée en gras. Les paires d'amorce (nucléotides 1-18 and 79-96) sont surlignées en gris et la séquence consensus marquée par des cercles.

Le groupement hydroxyle n'est pas nécessaire pour l'interaction avec l'aptamère mais la présence d'un groupement amine associé à une courte chaîne carbonée est quant à elle requise. De plus, les aptamères sont spécifiques des groupements éthylamine et méthylamine. Toutefois, il est impossible de faire la différence entre des molécules possédant ces groupements.

Afin d'obtenir des informations sur la concentration des amines recherchées, il est également possible de recourir à un chemodosimètre ou à un récepteur macrocyclique spécifique.

➤ Chemodosimètre

Le chemodosimètre **34** a en effet été reporté en 2004 pour la détection de catécholamines comme la dopamine dans des conditions physiologiques⁷⁶. La structure est reportée ci-dessous. Il s'agit d'un dérivé de la coumarine sur lequel a été greffé un acide

boronique. Il réagit avec la dopamine et forme un ion iminium d'une part et un ester boronique d'autre part. La formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire entraîne une réponse colorimétrique avec une bonne sélectivité pour les catécholamines.

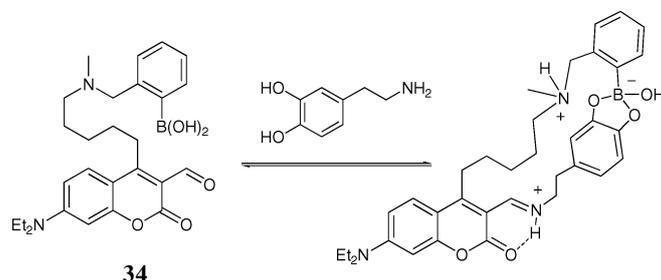


Figure 1- 66 : Détection de la dopamine par le chemodosimètre. Figure issue de la référence 76.

Le chemodosimètre permet la détection colorimétrique de la dopamine et de la norépinephrine tandis que l'épinephrine n'induit pas un changement de couleur (car elle n'interagit pas avec l'aldéhyde). Les autres amines testées comme la tyramine ont une affinité trois fois moins grande que les catécholamines. La constante d'association avec la dopamine a été évaluée à 3400 M^{-1} . La fluorescence de la coumarine diminue à 505 nm en présence de la dopamine en raison d'un transfert d'électron photoinduit de la part du catéchol.

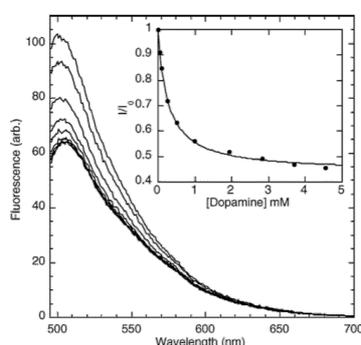


Figure 1- 67 : Spectres de fluorescence du capteur 34 en présence de dopamine ($\lambda_{\text{exc}} = 484 \text{ nm}$). Encart : fit obtenu.

Figure issue de la référence 76.

➤ Dérivatisation suivie de HPLC

Par ailleurs, une nouvelle méthode basée sur la HPLC suivie d'une détection par fluorescence a été appliquée à la détection de huit amines biogéniques (histamine, méthylamine, tyramine, éthylamine, propylamine, tryptamine, 2-phényléthylamine, isoamylamine) et deux diamines biogéniques (putrescine, cadavérine)⁷⁷.

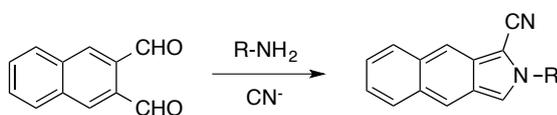


Figure 1- 68 : Réaction de dérivation.

En raison de l'absence d'unité chromophorique sur ces amines, une étape de dérivatisation est nécessaire pour avoir une bonne sensibilité. Il s'agit d'engager l'analyte dans une réaction chimique et d'analyser les sous-produits plus facilement identifiables par chromatographie. Le chemodosimètre **NDA** (naphthalène-2,3-dicarboxaldéhyde) est connu pour réagir rapidement avec les amines primaires en présence de l'ion cyanure CN^- pour former les dérivés fluorescents du 1-cyanobenz[f]isoindole. La réaction est réalisée en solution aqueuse. Les adduits sont injectés dans l'appareil sans traitement préalable. Les amines sont solubilisées dans des mélanges d'acétonitrile, de méthanol, d'acétone et d'eau. La quantification est réalisée en analysant la fluorescence à 494 nm ($\lambda_{\text{exc}} = 424$ nm). Les limites de détection sont entre 0,002 et 0,4 ng.

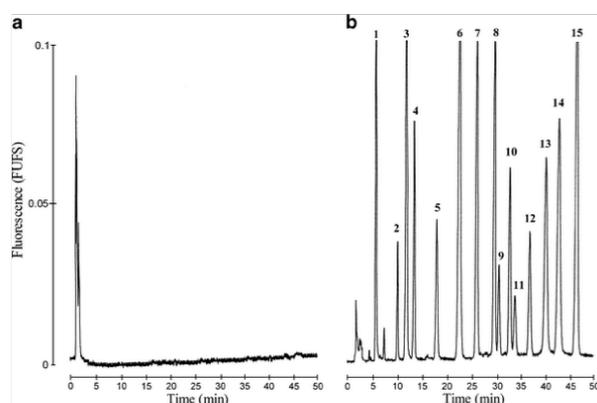
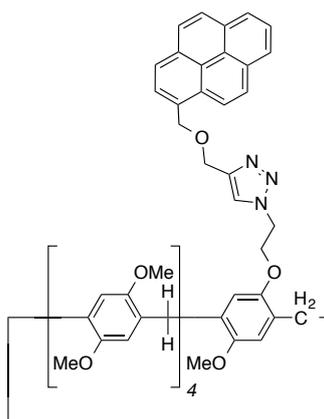


Figure 1- 69 : Chromatogrammes (a) blanc (pas d'amines ajoutées) (b) mélange amines-(1-cyanobenz[f]isoindole) ; Pics : 1 Histamine, 2 Méthylamine, 3 Tyramine, 4 Ethylamine, 5 Propylamine, 6 Tryptamine, 7 2-phényléthylamine, 8 Isoamylamine, 13 Putrescine, 14 Cadavérine, 15 standard interne (HEP, $250 \mu\text{g L}^{-1}$). $[\text{NDA}] = 1,34 \text{ mmol.L}^{-1}$, $[\text{KCN}] = 1,34 \text{ mmol.L}^{-1}$, tampon borate $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$, $\text{pH} = 9,0$; temps de réaction : 30 min. Figure issue de la référence 77.

➤ Cage moléculaire

Les cages moléculaires peuvent encapsuler des amines et permettre elles aussi leur détection. Le pillar[5]arène **35** fonctionnalisé par un pyrène a été publié en 2011 et forme un complexe avec des polyamines⁷⁸.



35

Figure 1- 70 : Structure du pillar[5]arène 35.

En effet, l'émission de fluorescence du pillar[5]arène dans un mélange acétonitrile/eau diminue à 395 nm en présence de la molécule de 1,5-diaminopentane. Cette diminution est due à un transfert d'électron photoinduit de l'amine. Elle est plus forte pour les polyamines testées que pour les monoamines car l'amine s'oriente alors soit vers le pyrène soit de l'autre côté. Celle-ci ne peut éteindre la fluorescence que dans la première orientation. La constante d'association avec le 1,5-diaminopentane est de $2,12 (\pm 0,10) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.

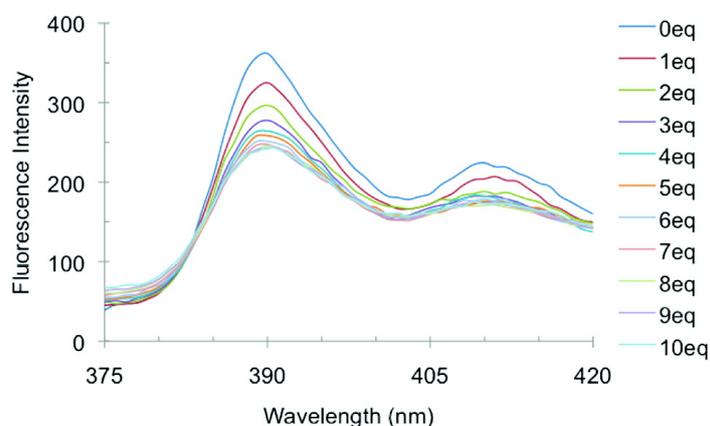


Figure 1- 71 : Spectres d'émission de fluorescence du pillar[5]arène 35 (57.2 μM , 1:1 MeCN/H₂O, $\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 395 \text{ nm}$) en fonction du nombre d'équivalents de 1,5-diaminopentane. Figure issue de la référence 78.

Une deuxième stratégie utilisant aussi la fluorescence a également été mise au point. L'analyte déplace un fluorophore inclus au départ dans la cavité d'une cage moléculaire. L'émission du fluorophore est alors régénérée ce qui permet de détecter l'analyte. Afin de pouvoir définir la concentration en analyte, il est indispensable d'avoir une sensibilité et sélectivité suffisante de la cage. Le fluorophore doit également posséder un rendement

quantique élevé et l'interaction de l'analyte avec la cage doit être forte et induire une modification de la fluorescence suffisamment importante.

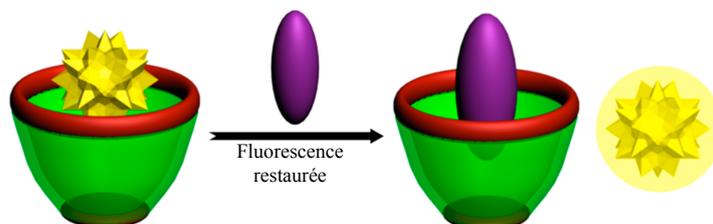


Figure 1- 72 : Détection de l'analyte par déplacement du fluorophore. Figure adaptée de la référence⁷⁹.

Werner Nau a utilisé cette méthode en 2006 pour la détection de l'acétylcholine⁸⁰. La cage moléculaire **CX4** est un *p*-sulfonatocalix[4]arene qui forme un complexe d'inclusion avec un azoalkane fluorescent (le 2,3-diazabicyclo[2.2.2]oct-2-ène). 90 % de la fluorescence de DBO est éteinte lorsqu'il est inclus dans la cavité du calixarène hydrosoluble. L'extinction de la fluorescence après l'encapsulation de DBO a été attribuée à l'abstraction de l'atome d'hydrogène des groupements phénols du calixarène et à la possible formation d'exciplexes avec les groupements aryles.

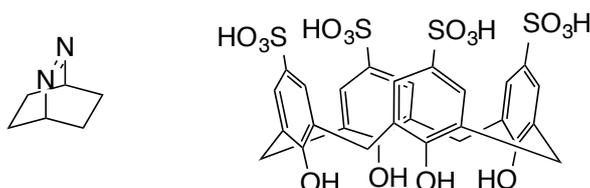


Figure 1- 73 : Structure de la molécule de DBO et du *p*-sulfonatocalix[4]arene CX4.

La présence de l'acétylcholine expulse DBO hors de la cavité ce qui rétablit sa fluorescence vers 430 nm ($\lambda_{\text{exc}} = 365$ nm). La constante d'association est de l'ordre de $1,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ dans l'eau à pD = 2,4.

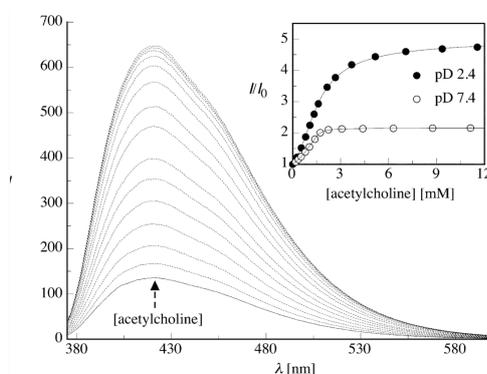


Figure 1- 74 : Spectres de fluorescence de DBO (1,0 mM) en présence de 1,6 mM de CX4 à pD = 2,4 après ajouts successifs de l'acétylcholine. Encart : augmentation de l'intensité relative de fluorescence à concentrations égales en DBO et CX4 à pD = 2,4 et pD + 7,4 et fit obtenu. Figure issue de la référence 80.

Dans le cadre de ce projet, nous souhaitons détecter les amines biogéniques telles que l'éthanolamine et la tyramine. Nous chercherons également à détecter l'heptylamine et la propylamine ce qui nous permettra d'évaluer l'influence de la longueur de la chaîne de l'amine aliphatique sur la fluorescence du calix[6]arène.

III) Récepteurs fluorescents envisagés

3.1) « Fluorophores à liaisons hydrogène »

Le motif imide s'est révélé efficace pour créer des réseaux et des assemblages supramoléculaires par liaisons hydrogène. Il est présent dans la molécule de pérylène bisimide qui est capable de former des structures mésoscopiques avec un dérivé alkylé de la mélamine dans le méthylcyclohexane⁸¹. Cette superstructure, décrite en 1999, repose sur de multiples interactions orthogonales : interaction π - π , liaison hydrogène et interaction entre les chaînes alkyles, comme en témoigne la figure 1-75 ci-dessous. La mélamine synthétisée possède deux groupements dodécylamines. Le pérylène (bis)imide **36** peut interagir avec deux mélamines et les deux sites de liaisons du pérylène bisimide sont indépendants.

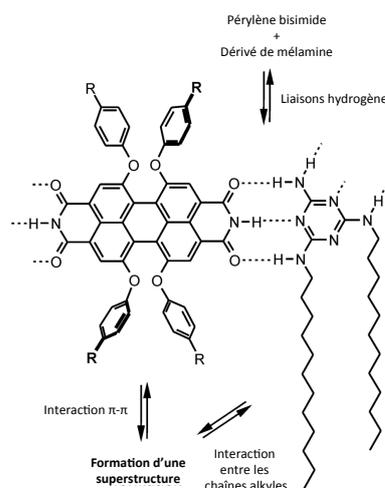


Figure 1- 75 : Concept de superstructure organisée de manière hiérarchique et basée sur les forces intermoléculaires orthogonales. Figure adaptée de la référence 81.

Les études d'absorption UV-visible confirment que les liaisons hydrogène ne suffisent pas à expliquer la formation de la superstructure et que d'autres interactions entrent en jeu. En effet, les spectres d'absorption sont modifiés après l'interaction et les études de dilution mettent en évidence l'existence des interactions π - π . A des concentrations de l'ordre de 10^{-6} mol.L⁻¹ à 10^{-4} mol.L⁻¹, un phénomène d'agrégation renforce le processus d'association et aboutit à la formation d'une superstructure. Après évaporation du méthylcyclohexane, il est

possible d'observer les structures mésoscopiques en forme de brins (dont le diamètre est entre 20 et 300 nm) par microscopie électronique.

Les naphthalènes bisimides conduisent aussi à des assemblages supramoléculaires avec des dérivés de mélamine⁸², confortant l'idée que la fonction imide permet de mettre en place un système de trois liaisons hydrogène efficace. Cette fois-ci la mélamine porte un groupement bis(éthylhexyl)amine et le chromophore **37** ne possède qu'un site de liaison possible avec la mélamine. L'association par liaisons hydrogène s'effectue dans le méthylcyclohexane.

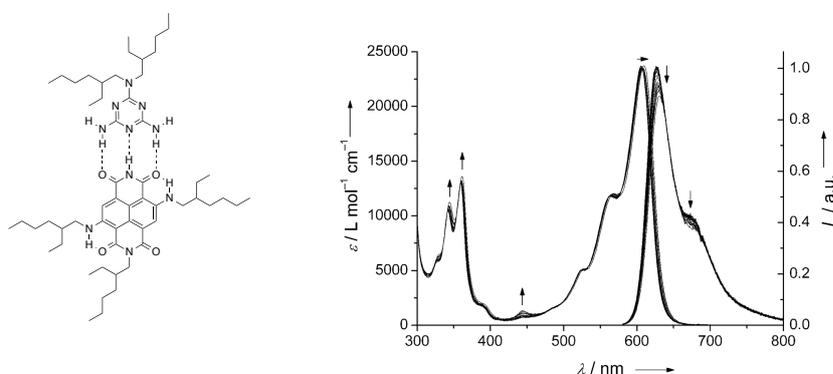


Figure 1-76 : *A gauche* : Formation d'un complexe 1 : 1 entre les dérivés de naphthalène bisimide **37** et de mélamine, *à droite* : modification du spectre d'absorption UV-Visible et du spectre de fluorescence du dérivé de naphthalène bisimide **37** (hôte) après ajouts de mélamine (invité) dans le méthylcyclohexane ($[Hôte] = 5 \times 10^{-6} M$). Figure adaptée de la référence 82.

Cette interaction ne modifie pas beaucoup les propriétés optiques du naphthalène bisimide. La bande d'absorption à 607 nm subit un déplacement bathochrome de 4 nm après ajout de la mélamine tandis que la bande entre 320 nm et 370 nm est un peu plus intense (voir figure 1-76). Concernant la fluorescence, un déplacement bathochrome de 4 nm est également observé pour la bande à 627 nm et une faible diminution de l'intensité de fluorescence. La constante d'association dans le méthylcyclohexane est de $12400 \pm 3900 L.mol^{-1}$ (selon le dosage fluorimétrique) alors qu'elle est seulement de $130 \pm 20 L.mol^{-1}$ dans le chloroforme deutéré (selon l'étude RMN).

Enfin, le groupement imide du dérivé d'acide barbiturique **38** a également prouvé sa capacité à interagir avec la mélamine en formant des assemblages supramoléculaires⁸³. Pour cela, le dérivé d'acide barbiturique a été fonctionnalisé par un groupement tétraphényléthylène (voir figure 1-77).

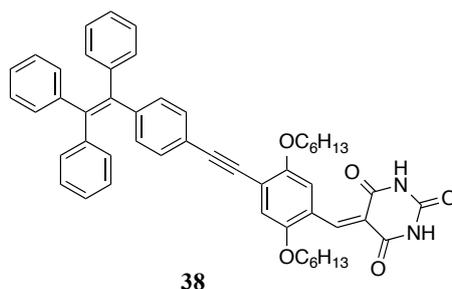


Figure 1- 77 : Structure du dérivé de l'acide barbiturique 38.

Les études ont été réalisées dans le DMSO en raison de la très faible solubilité de la mélamine dans les solvants un peu plus usuels tels que l'acétonitrile. Une solution contenant le fluorophore et la mélamine a été préparée dans un mélange DMSO/éthanol (1 : 1, v : v) et une goutte a été déposée sur une surface de silicium afin de permettre l'évaporation lente des solvants à température ambiante. En présence de 10 équivalents de mélamine, des nanotubes d'une longueur d'environ 30 μm et de 50 nm de diamètre apparaissent. Avec 25 équivalents, l'épaisseur des nanobâtonnets est plus grande (voir figure 1-78).

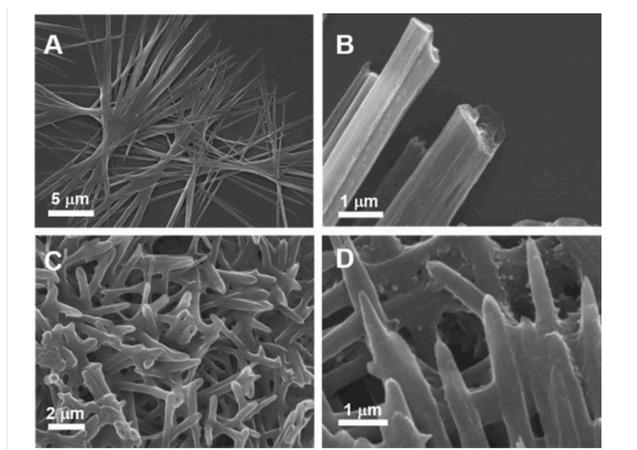
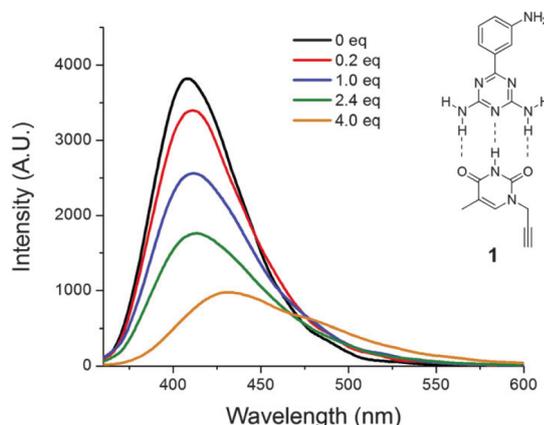


Figure 1- 78 : Images SEM des micro- et nanoagrégats formés après l'évaporation lente de la solution du dérivé d'acide barbiturique 38 (10 mM) dans un mélange DMSO/éthanol (1 : 1, v : v) à température ambiante en présence (A et B) de 10 équivalents de mélamine et (C et D) de 25 équivalents de mélamine. Figure issue de la référence 83.

Ainsi, le groupement imide semble prometteur pour s'associer par liaisons hydrogène avec les analytes et conduire à leur détection. Cependant, une interrogation demeure sur l'influence que peut avoir l'interaction de l'analyte par liaisons hydrogène sur la photophysique des sondes fluorescentes. C'est pourquoi, en plus de la fonction imide, les sondes doivent posséder certaines propriétés photophysiques afin que l'interaction avec les analytes module leur fluorescence.

De plus, certaines sondes solvatochromes dont la fluorescence est modifiée par la formation de liaisons hydrogène⁸⁴ ont attiré notre attention et ont été décrites en 2014. Il s'agit du fluorophore **MADAT**, dérivé de la triazine qui détecte des espèces donneuses de liaison hydrogène : le 6-(3-amino-phenyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine.



L'émission de la sonde **MADAT** ne change pas dans les solvants aprotiques quelle que soit la polarité, ce qui indique l'absence probable de stabilisation significative de la part du solvant ou que la séparation des charges est très faible à l'état excité. Par contre, l'émission est fortement décalée vers le rouge dans les solvants protiques. Ce comportement de la sonde dans les solvants protiques a été attribué à des interactions par liaisons hydrogène avec les groupements amines ou l'atome d'azote du cycle triazine. En jouant le rôle d'accepteur de liaisons hydrogène, le cycle triazine est responsable des décalages spectraux de la bande d'émission. Cette sonde est capable de détecter la présence d'un dérivé de la thymine (thymine 1) dans le dichlorométhane. En effet, cette molécule induit une diminution de la fluorescence et un déplacement bathochrome de la bande d'émission en raison de la formation de trois liaisons hydrogène (voir figure 1-79).

Ainsi, les fluorophores se doivent de posséder un groupement imide afin de mettre en place un système de trois liaisons hydrogène avec l'analyte. Il faut ensuite que cette interaction modifie la fluorescence des sondes. C'est alors que les fluorophores possédant des propriétés de solvatochromisme ont attiré notre attention. En effet, certaines sont sensibles à la formation de liaisons hydrogène, ce qui offre de belles perspectives pour la détection de molécules neutres.

➤ Cibles envisagées

Notre choix s'est porté sur des fluorophores à transfert de charge susceptibles de former des liaisons hydrogène avec l'atrazine ou les dérivés de mélamine. Cette interaction est l'élément clé de la détection. La structure du fluorophore est donc primordiale et doit être suffisamment spécifique des analytes.

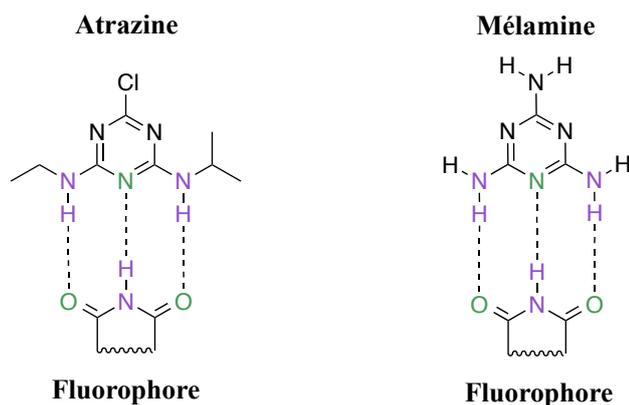


Figure 1- 80 : Interactions potentielles de la sonde avec les analytes (atrazine et mélamine).

L'atrazine possède un groupement éthylamine et un groupement propylamine donneurs de liaison hydrogène tandis que la mélamine donne des liaisons hydrogène *via* ses groupements amines. Ces analytes sont ainsi caractérisés par un motif donneur-accepteur-donneur de liaisons hydrogène en prenant en compte l'atome d'azote appartenant au cycle. C'est pourquoi le groupement imide a été choisi comme unité de reconnaissance de ses analytes. Les deux fonctions carbonyles et l'atome d'azote constituent en effet un motif accepteur-donneur-accepteur de liaisons hydrogène complémentaire à celui des analytes. De plus, il offre plusieurs avantages :

- les trois liaisons hydrogène créent une association forte et directionnelle
- la fonction imide est très répandue dans les molécules chromophoriques

Les sondes doivent répondre à plusieurs critères : elles se doivent d'être des molécules à fort transfert de charge, présenter un fort rendement quantique ou une forte exaltation de la fluorescence en présence des analytes. En effet, les fluorophores comportant un fort caractère *push-pull* à l'état excité ont été employés en tant que sondes locales de polarité et sont donc potentiellement sensibles à la formation de liaisons hydrogène. Des fluorophores dérivés de la quinoxaline capables de sonder localement la polarité dans les cellules vivantes ont été reportés dans la littérature⁸⁵ ainsi que des sondes fluorescentes possédant des groupements

hydroxystyryle ou cyanopyranyle conçues pour la détection de protéines *via* des interactions non covalentes⁸⁶. Elles constituent donc des sondes potentielles pour les analytes que nous souhaitons détecter *via* ce type d'interaction. Des déplacements bathochromes relativement élevés sont observés pour leur spectre d'émission dans les solvants capables de donner des liaisons hydrogène.

Ces molécules à transfert de charge intramoléculaire sont caractérisées par la présence d'un groupement donneur d'électrons (NH₂, NMe₂, CH₃O) conjugué *via* un système π à un groupement attracteur d'électrons (C=O, CN). Elles sont très sensibles aux divers changements pouvant apparaître dans leur environnement proche, comme le changement de polarité ou la présence de liaisons hydrogène.

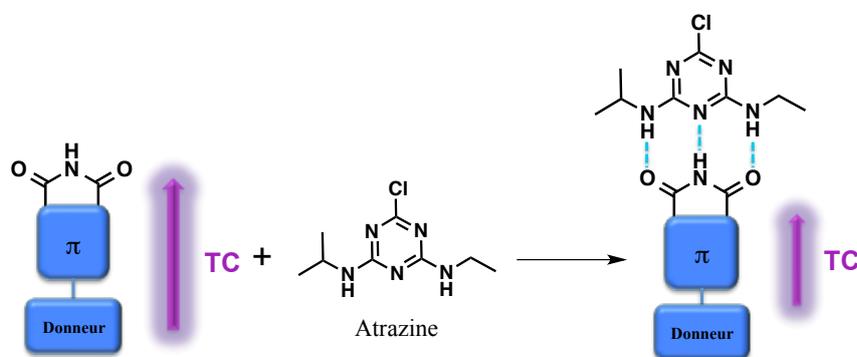


Figure 1- 81: Concept de détection de molécules neutres à l'aide de sonde fluorescente à transfert de charge (TC = Transfert de charge).

La figure **1-81** ci-dessus présente le concept que nous souhaitons appliquer pour la détection de molécules neutres par fluorescence. Un système à trois liaisons hydrogène est ainsi susceptible de se former entre l'analyte et la sonde à transfert de charge. Cette interaction devrait conduire à des modifications des propriétés photophysiques de la sonde impliquée (notamment au niveau du transfert de charge) ce qui permettrait sa détection. La limite de détection visée est de l'ordre du micromolaire, ce qui correspond notamment à la limite de qualité de 0,1 $\mu\text{g/L}$ pour les herbicides contenus dans les eaux de boissons⁵⁰.

3.2) Utilisation de calix[6]arène et de calix[4]arène

Une des stratégies qu'il est possible de mettre en place pour la détection de molécules neutres est de combiner l'utilisation d'un complexe de coordination avec celle d'une cage hydrophobe, ici un calixarène. En effet, des groupements coordinants contenant des atomes d'azote ou d'oxygène peuvent être greffés au petit col du macrocycle, c'est à dire au niveau

des fonctions phénols. La plateforme complexante ainsi formée peut coordonner différents métaux tels que le cuivre, le zinc, le plomb, etc. ce qui fige le calixarène en conformation cône. Cette conformation est la plus apte à recevoir des molécules.

La détection d'amines à l'aide d'un calix[6]arène est possible en formant des complexes de coordination⁸⁷. Ce calix[6]arène **39** porte trois groupements imidazoles au petit col très affins de l'ion Zn^{2+} ; sa structure est présentée ci-dessous.

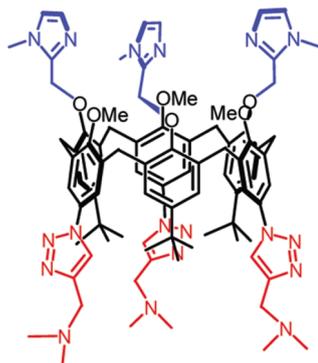


Figure 1- 82 : Structure du calix[6]arène 39.

En l'absence de molécule invitée, la cavité contient une molécule de solvant à savoir l'acétonitrile. Trois autres groupements coordinants ont été greffés au grand col : il s'agit d'un cycle triazole lié à une diméthylamine par un groupement méthylène.

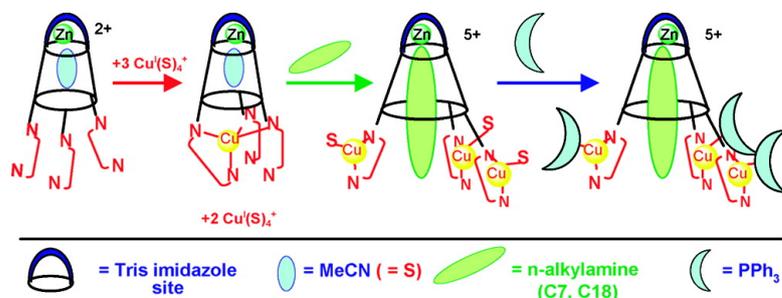


Figure 1- 83 : Récepteur polynucléaire encapsulant des alkylamines. Figure issue de la référence 87.

L'ion Cu^+ , une fois ajouté dans le milieu, complexe les atomes d'azote des trois groupements au niveau du grand col. Ce mode de coordination est modifié après que l'heptylamine ou l'octadécylamine est ajoutée ce qui montre la modulabilité du système. En effet, l'amine à longue chaîne rentre dans la cavité ce qui empêche le cuivre de complexer les trois groupements. Le calixarène devient alors un complexe hétéropolynucléaire avec un atome de zinc au petit col, trois atomes de cuivre au grand col et une amine au sein de la cavité. Il est à noter que le zinc forme une liaison de coordination avec l'amine encapsulée.

Ces différents évènements ont été suivis par spectroscopie RMN en analysant les déplacements chimiques des protons du calixarène. Les unités phényles constituent en effet un cône de blindage. L'analyse approfondie des signaux permet ainsi de mettre en évidence la position des différents groupements par rapport à la cavité et de prouver l'encapsulation d'une molécule invitée (ses signaux sont alors déplacés vers les champs forts).

De plus, une forte sélectivité envers un invité polyfonctionnalisé tel qu'une triamine peut être atteinte à l'aide d'un calix[6]arène comportant plusieurs points d'attache⁸⁸. Le système est en effet très sélectif grâce à la liaison de coordination avec le zinc mais aussi en raison des interactions CH- π à l'intérieur de la cavité et des liaisons hydrogène aux deux cols du calixarène.

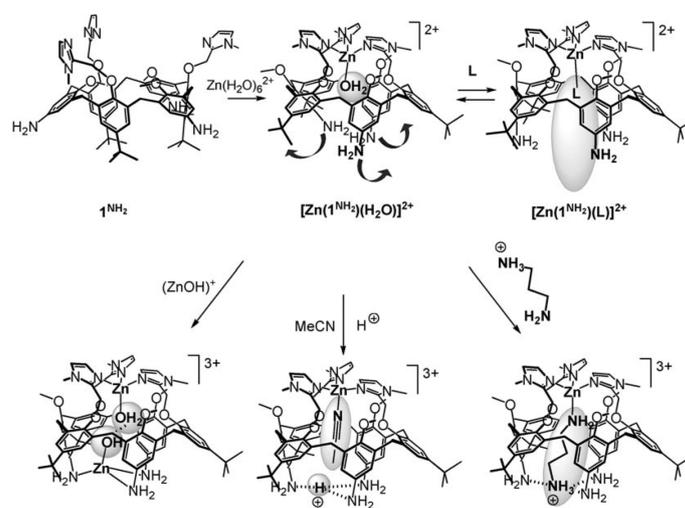


Figure 1- 84 : Encapsulation des molécules invitées. Figure issue de la référence 88.

➤ Cibles envisagées

La fluorescence permet de faciliter la détection et de mettre au point un capteur sensible et sélectif. Pour ce faire, des fluorophores peuvent être introduits au grand col. Après dé-*tert*-butylation des calixarènes commerciaux, de nombreux groupements peuvent en effet être ajoutés au grand col *via* des réactions de substitution électrophile aromatique comme la nitration. Les divers exemples de calixarènes publiés dans la littérature nous éclairent sur la manière de concevoir un capteur fluorescent de molécules neutres telles que les amines. Effectivement, l'ajout de groupement coordinant au petit col s'est avéré particulièrement efficace pour construire une unité complexante et former ainsi un récepteur. Il est à noter que les ligands azotés forment de solides liaisons de coordination avec le zinc. La molécule invitée peut être également impliquée dans une liaison de coordination ce qui favorise son

encapsulation. Le calix[6]arène a montré qu'il est capable d'encapsuler des amines mais la détection par spectroscopie RMN se fait difficilement. Il serait ainsi particulièrement intéressant d'associer la remarquable aptitude du calixarène à loger des molécules dans sa cavité avec les nombreux avantages qu'offre la fluorescence. Nous pouvons ainsi envisager de nous servir du grand col pour y greffer des fluorophores.

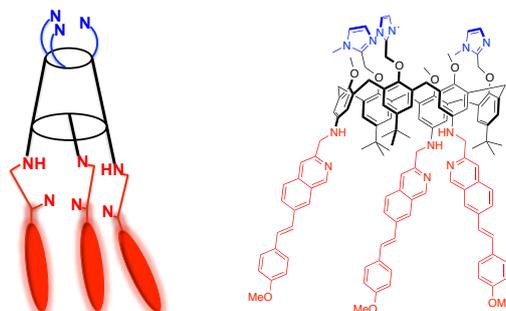


Figure 1- 85 : Structure du calix[6]arène envisagé pour la détection des amines (les groupements imidazoles sont représentés en bleu et les fluorophores en rouge).

C'est pourquoi un nouveau calix[6]arène a été développé dans le cadre de cette thèse. Ce dernier est fonctionnalisé au petit col par trois groupements imidazoles pour former un complexe de coordination avec l'ion zinc et au grand col par trois fluorophores quinoléines afin de détecter l'encapsulation des amines. La structure du calix[6]arène ciblé est présentée dans la figure 1-85 tandis que la figure 1-86 ci-dessous présente la stratégie que nous souhaitons appliquer pour la détection des amines aliphatiques. L'encapsulation de ces dernières devrait induire des modifications de la fluorescence.

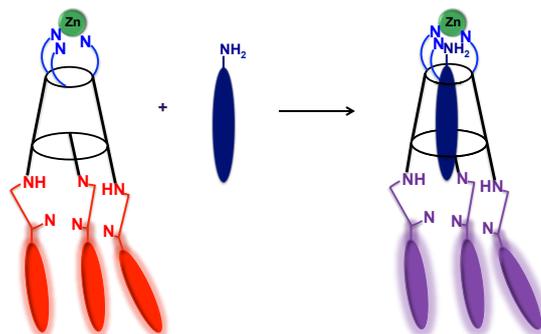


Figure 1- 86 : Détection d'une amine aliphatique par fluorescence.

Par ailleurs, les molécules d'atrazine et de mélamine étant plutôt apolaires, elles sont tout à fait prédisposées à rentrer dans la cavité hydrophobe d'un calixarène. Bien que la principale stratégie que nous souhaitons mettre en place pour leur détection soit d'utiliser des fluorophores à transfert de charge (voir **chapitre 2**) il est tout à fait envisageable de tirer profit de la cavité d'un calixarène pour leur détection. En effet, de multiples interactions telles

que des interactions hydrophobes et interactions de van der Waals facilitent l'encapsulation de petites molécules aromatiques, comme le montre l'exemple décrit plus haut (voir **1.3.2) Effets photophysiques**) du dipyrénylcalix[4]arène **14** qui capte des trinitroaromatiques³⁶. Nous pouvons également envisager de fonctionnaliser le grand col par deux fluorophores dont la fluorescence serait modifiée après encapsulation des analytes. Enfin, nous avons vu que la formation de complexe de coordination permettait de structurer le calixarène. Cependant, il est également possible de rigidifier le système en greffant un éther couronne au petit col. Pour la détection de l'atrazine et des dérivés de mélamine, cette deuxième méthode paraît tout à fait appropriée. La figure **1-87** présente les structures envisagées pour la détection de l'atrazine, ses produits de dégradation et les dérivés de la mélamine. Un éther couronne est greffé au petit col alors que deux sondes naphthalimides ont été ajoutées au grand col.

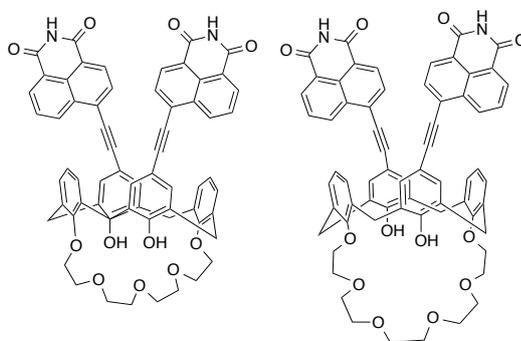


Figure 1- 87 : Structure des calix[4]arènes envisagés pour la détection des triazines.

Références bibliographiques

- ¹ B. Valeur, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH, **2001**.
- ² E. V. Anslyn, D. A. Dougherty, *Modern Physical Organic Chemistry*, Books, U.S, **2006**.
- ³ E. Lippert, *Z. Naturforsch. A* **1955**, *10*, 541–545.
- ⁴ N. Mataga, Y. Kaifu, M. Koizumi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1955**, *28*, 690–691.
- ⁵ J. Szejtli, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743–1753.
- ⁶ F. Van De Manacker, T. Vermonden, C. F. Van Nostrum, W. E. Hennink, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 3157–3175.
- ⁷ J. Lagona, P. Mukhopadhyay, S. Chakrabarti, L. Isaacs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4844–4870.
- ⁸ C. D. Gutsche, *Calixarenes : An Introduction*, The Royal Society Of Chemistry, **2008**.
- ⁹ M. Xue, Y. Yang, X. Chi, Z. Zhang, F. Huang, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1294–1308.
- ¹⁰ T. Ogoshi, S. Kanai, S. Fujinami, T. Yamagishi, Y. Nakamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022–5023.
- ¹¹ J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1304–1319.
- ¹² J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89–112.
- ¹³ D. J. Cram, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1009–1112.
- ¹⁴ C. J. Pedersen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1021–1027.
- ¹⁵ R. N. Dsouza, U. Pischel, W. M. Nau, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 7941–7980.
- ¹⁶ A. Villers, *Compt. Rend.* **1891**, *112*, 536–539.
- ¹⁷ F. Schardinger, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Abt. II* **1911**, *29*, 188–197.
- ¹⁸ F. Schardinger, *Unters. Nahr.-Genussm* **1903**, *6*, 865–880.
- ¹⁹ R. Behrend, E. Meyer, F. Rusche, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1905**, *339*, 1 – 37.
- ²⁰ W. A. Freeman, W. L. Mock, N.-Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7367–7368.
- ²¹ A. L. Koner, W. M. Nau, *Supramol. Chem.* **2007**, *19*, 55–66.
- ²² C. D. Gutsche, J. Levine, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *2652*–2653.
- ²³ M. Atanassova, V. Kurteva, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 11303–11324.
- ²⁴ M. Xue, Y. Yang, X. Chi, Z. Zhang, F. Huang, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1294–1308.
- ²⁵ T. Ogoshi, S. Kanai, S. Fujinami, T. Yamagishi, Y. Nakamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5022–5023.
- ²⁶ S. Cotton, *Lanthanide and Actinide Chemistry*, Wiley, **2006**.
- ²⁷ X. Wang, H. Chang, J. Xie, B. Zhao, B. Liu, S. Xu, W. Pei, N. Ren, L. Huang, W. Huang, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *273-274*, 201–212.
- ²⁸ G. J. Mohr, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1082–1090.
- ²⁹ X. Zhou, Y. Zeng, C. Liyan, X. Wu, J. Yoon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4729–4733.
- ³⁰ G. J. Mohr, U. E. Spichiger, W. Jona, H. Langhals, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1084–1087.
- ³¹ J. Yang, T. M. Swager, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11864–11873.
- ³² J. Malinge, C. Allain, L. Galmiche, F. Miomandre, P. Audebert, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 4599–4605.
- ³³ Y.-W. Xu, L.-L. Tan, J.-M. Liu, L.-M. Xiao, S.-Y. Li, C.-Y. Su, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 28046.
- ³⁴ H. Liao, C. T. Chen, H. C. Chou, C. C. Cheng, P. T. Chou, J. M. Fang, Z. Slanina, T. J. Chow, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3107–3110.
- ³⁵ A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, A. Prasanna de Silva, N. H. Q. Gunaratne, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515–1566.

- ³⁶ Y. H. Lee, H. Liu, J. Y. Lee, S. H. Kim, S. K. Kim, J. L. Sessler, Y. Kim, J. S. Kim, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 5895–5901.
- ³⁷ A. Ueno, I. Suzuki, T. Osa, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6391–6397.
- ³⁸ A. Ueno, I. Suzuki, T. Osa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1988**, 1373–1374.
- ³⁹ L.-L. Li, P. Ge, P. R. Selvin, Y. Lu, *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 7852–7856.
- ⁴⁰ M. A. Mortellaro, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7414–7415.
- ⁴¹ J. Bügler, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5339–5344.
- ⁴² J. B. Birks, *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley, London, **1970**.
- ⁴³ Y. Hong, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5361–5388.
- ⁴⁴ B. Tang, X. Zhan, G. Yu, P. Lee, *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 2974–2978.
- ⁴⁵ J. Luo, Z. Xie, J. W. Y. Lam, L. Cheng, B. Z. Tang, H. Chen, C. Qiu, H. S. Kwok, X. Zhan, Y. Liu, et al., *Chem. Commun.* **2001**, *381*, 1740–1741.
- ⁴⁶ F. Leconte, *Etude des propriétés de transport des métabolites du phosethyl-AL et de l'atrazine chez les plantes supérieures en relation avec l'aptitude à la systémie de ces molécules*, Thèse de doctorat, Université de Poitiers, **2009**.
- ⁴⁷ A. Zouni, H.-T. Witt, J. Kern, P. Fromme, N. Krauß, W. Saenger, P. Orth, *Nature* **2001**, *409*, 739–743.
- ⁴⁸ C. Chevrier, G. Limon, C. Monfort, F. Rouget, R. Garlantézec, C. Petit, G. Durand, S. Cordier, *Environ. Health Perspect.* **2011**, *119*, 1034–1041.
- ⁴⁹ J. Li, J. Hu, W. Xu, M. Ling, J. Yao, *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 4852–4863.
- ⁵⁰ B. Gilles, S. Herault, R. Israel, A. Robin, C. Saout, R. Tracol, *Les Pesticides Dans L'eau Potable 2001-2003*, Rapport **2004**.
- ⁵¹ Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000.
- ⁵² Mizota, K.; Ueda, H. *Toxicological Sciences* **2006**, *90*, 362–368.
- ⁵³ O. I. Kalchenko, A. V. Solovyov, S. A. Cherenok, N. F. Starodub, V. I. Kalchenko, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2003**, *46*, 19–25.
- ⁵⁴ E. Valera, J. Ramón-Azcón, A. Barranco, B. Alfaro, F. Sánchez-Baeza, M. P. Marco, Á. Rodríguez, *Food Chem.* **2010**, *122*, 888–894.
- ⁵⁵ F. Albericio, J. Tulla-Puche, *The Power of Functional Resins in Organic Synthesis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2008**.
- ⁵⁶ E. Pardieu, H. Cheap, C. Vedrine, M. Lazerges, Y. Lattach, F. Garnier, S. Remita, C. Pernelle, *Anal. Chim. Acta* **2009**, *649*, 236–245.
- ⁵⁷ R. Liu, G. Guan, S. Wang, Z. Zhang, *Analyst* **2011**, *136*, 184–190.
- ⁵⁸ Y. Li, J. Xu, C. Sun, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 1125–1147.
- ⁵⁹ W. H. Binder, M. Dunky, *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, John Wiley & Sons, **2002**.
- ⁶⁰ Lemoult, P. *Ann. Chim. Phys.* **1849**, *16*, 338.
- ⁶¹ Luo, Y.; Zhang, L.; Yang, W.; Liu, W.; Lu, W.; Li, M. *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **2011**, *54*, 171–172.
- ⁶² E. E. Simanek, H. Abdou, S. Lalwani, J. Lim, M. Mintzer, V. J. Venditto, B. Vittur, *Proc. R. Soc. A* **2010**, *466*, 1445–1468.
- ⁶³ J. R. Ingelfinger, *N. Engl. J. Med.*, **2008**, *26*, 2745–2748.
- ⁶⁴ N. Guan, Q. F. Fan, J. Ding, Y. M. Zhao, J. Q. Lu, Y. Ai, G. B. Xu, S. N. Zhu, C. Yao, L. N. Jiang, J. Miao, H. Zhang, D. Zhao, X. Y. Liu and Y. Yao, *N. Engl. J. Med.*, **2009**, *360*, 1067–1074.
- ⁶⁵ K. Ai, Y. Liu, L. Lu, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 9496–9497.
- ⁶⁶ Q. Cao, H. Zhao, L. Zeng, J. Wang, R. Wang, X. Qiu, Y. He, *Talanta* **2009**, *80*, 484–488.

- ⁶⁷ L. Guo, J. Zhong, J. Wu, F. Fu, G. Chen, Y. Chen, X. Zheng, S. Lin, *Analyst* **2011**, *136*, 1659–1663.
- ⁶⁸ P. Dale, G. J. Augustine, D. Fitzpatrick, L. C. Katz, A.-S. LaMantia, J. O. McNamara, S. M. William, *The Biogenic Amines*, Sunderland (MA), Sinauer Associates, **2001**.
- ⁶⁹ M. H. S. Santos, *Int. J. Food Microbiol.* **1996**, *29*, 213-231.
- ⁷⁰ A. R. Shalaby, *Food Res. Int.* **1996**, *29*, 675-690.
- ⁷¹ J.M. Landete, B.D.L. Rivas, A. Marcobal, R. Muñoz, *Int. J. Food Microbiol.* **2007**, *117*, 258–269.
- ⁷² C. M. Higuchi, W. Wang, *J. Cell. Biochem.* **1995**, *57*, 256–261.
- ⁷³ G. I. Mohammed, A. S. Bashammakh, A. A. Alsibai, H. Alwael, M. S. El-Shahawi, *Trends Anal. Chem.* **2016**, *78*, 84-94.
- ⁷⁴ E.H. Soufleros, E. Bouloumpasi, A. Zotou, Z. Loukou, *Food Chem.* **2007**, *101*, 704–716.
- ⁷⁵ C. Reinemann, R. Stoltenburg, B. Strehlitz, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 3973-3978.
- ⁷⁶ K. E. Secor, T. E. Glass, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3727-3730.
- ⁷⁷ A. Zotou, M. Notou, *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *403*, 1039-1048.
- ⁷⁸ N. L. Strutt, R. S. Forgan, J. M. Spruell, Y. Y. Botros, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *70*, 5668–5671.
- ⁷⁹ D. Guo, Y. Liu, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1925–1934.
- ⁸⁰ H. Bakirci, W. M. Nau, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16*, 237–242.
- ⁸¹ F. Würthner, C. Thalacker, A. Sautter, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 754–758.
- ⁸² C. Thalacker, A. Miura, S. De Feyter, F. C. De Schryver, F. Würthner, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 414–422.
- ⁸³ E. Wang, J. W. Y. Lam, R. Hu, C. Zhang, Y. S. Zhao, B. Z. Tang, *J. Mater. Chem. C* **2014**, *2*, 1801–1807.
- ⁸⁴ R. F. Landis, M. Yazdani, B. Creran, X. Yu, V. Nandwana, G. Cooke, V. M. Rotello, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 4579–4581.
- ⁸⁵ K. Kudo, A. Momotake, J. K. Tanaka, Y. Miwa, T. Arai, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 674–8.
- ⁸⁶ Y. Suzuki, K. Yokoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17799–802.
- ⁸⁷ J.-N. Rebilly, O. Bistri, B. Colasson, O. Renaud, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 5965–5974.
- ⁸⁸ D. Coquière, A. de la Lande, O. Parisel, T. Prange, O. Renaud, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11912-11917.

**Chapitre 2 : Conception et synthèse de sondes
fluorescentes pour la détection de l'atrazine et
des dérivés de la mélamine**

CHAPITRE 2 : CONCEPTION ET SYNTHESE DE SONDES FLUORESCENTES POUR LA DETECTION DE L'ATRAZINE ET DES DERIVES DE LA MELAMINE	79
I) CONCEPTION, SYNTHESE DES SONDES FLUORESCENTES ET MODELISATION MOLECULAIRE	79
1.1) Conception et synthèses des sondes	79
1.1.1) Conception et synthèse du dérivé MaleOMe.....	79
1.1.2) Conception et synthèse des composés de la famille des naphthalimides	82
1.1.3) Conception et synthèse des dérivés de l'acide barbiturique	90
1.1.4) Synthèse des dérivés de la mélamine	95
1.2) Modélisation moléculaire des sondes	96
1.2.1) Optimisation de la géométrie	97
1.2.2) Représentation des orbitales moléculaires.....	98
1.2.3) Interaction avec l'atrazine.....	101
II) PROPRIETES PHOTOPHYSIQUES DES SONDES FLUORESCENTES ET ETUDE DE L'INTERACTION AVEC LES ANALYTES PAR FLUORESCENCE.....	105
2.1) Etudes photophysiques des sondes	105
2.1.1) Propriétés photophysiques des sondes MaleOMe, Naphth-NHBU et Naphth-AlcyneOMe.....	105
2.1.2) Propriétés photophysiques de la sonde Naphth-TriazoleOMe	116
2.1.3) Effet du pH sur la fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe.....	124
2.1.4) Propriétés photophysiques des sondes TPA-BARB et DMAP-BARB	126
2.1.5) Effet du sel TBAF sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB.....	132
2.2) Etudes avec les analytes	133
2.2.1) Etude de détection des analytes par la sonde MaleOMe	134
2.2.2) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-NHBU	138
2.2.3) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-AlcyneOMe	140
2.2.4) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-TriazoleOMe	141
2.2.5) Etude RMN de l'interaction avec l'atrazine	142
2.2.6) Etude de détection des analytes par la sonde DMAP-BARB	145
2.2.7) Etude de détection des analytes par la sonde TPA-BARB	148
2.2.8) Etude de surface avec la sonde TPA-BARB	157
III) INTEGRATION DES SONDES DANS UN CALIX[4]ARENE	161
3.1) Conception, synthèse et étude de la sonde modèle	162
3.1.1) Synthèse de la sonde modèle Naphth-AlcyneOH	162
3.1.2) Etude photophysique des sondes modèles.....	169
3.2) Synthèse des calix[4]arènes.....	171
3.2.1) Synthèse du calix[4]arène-couronne-5-iodé (composé 88)	172
3.2.2) Synthèse du calix[4]arène-couronne-6-iodé.....	174
3.2.3) Couplages avec les calix[4]arènes iodés	174
3.2.4) Synthèse de Butyl-Naphth-AlcyneH.....	176
3.2.5) Couplage de Butyl-Naphth-AlcyneH avec le calix[4]arène-couronne-6 iodé	177
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	179

Chapitre 2 : Conception et synthèse de sondes fluorescentes pour la détection de l'atrazine et des dérivés de la mélamine

I) Conception, synthèse des sondes fluorescentes et modélisation moléculaire

1.1) Conception et synthèses des sondes

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, notre objectif est de synthétiser des fluorophores à transfert de charge comportant un motif imide. La figure 2-1 rappelle la stratégie adoptée à savoir la modulation du transfert de charge après l'interaction par liaisons hydrogène avec les analytes. Nous avons choisi de développer des fluorophores à partir de la molécule de maléimide, de naphthalimide et d'acide barbiturique.

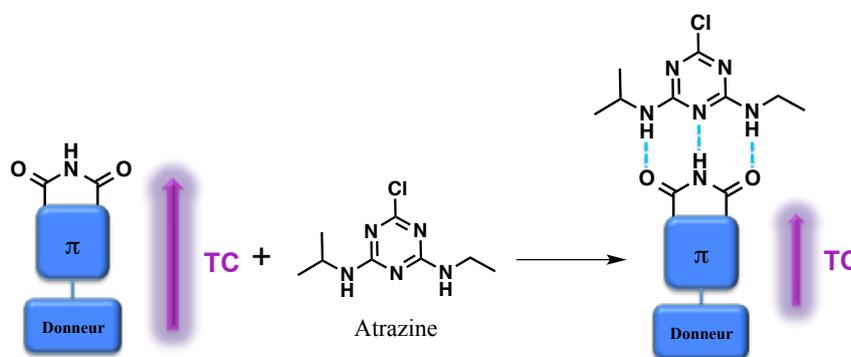


Figure 2- 1 : Concept de détection de molécules neutres à l'aide de sonde fluorescente à transfert de charge (TC = Transfert de charge).

1.1.1) Conception et synthèse du dérivé MaleOMe

La molécule de maléimide nous a servi de synthon pour la conception de la première sonde. Elle est constituée d'un cycle à cinq chaînons qui comporte un imide insaturé. Il est possible de fonctionnaliser ce maléimide par des groupements aryles. Il s'avère que les maléimides substitués par deux groupements aryles ont des propriétés photophysiques intéressantes telles que des rendements quantiques et des déplacements de Stokes élevés¹.

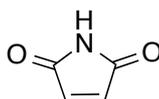


Figure 2- 2 : Structure de la molécule de maléimide.

De plus, la fonctionnalisation de la double liaison du maléimide par deux groupements donneurs influe grandement sur la fluorescence de la sonde². En effet, elle induit un décalage vers le rouge de l'émission de fluorescence et conduit à des composés très émissifs à l'état solide. Il est alors notamment possible de faire varier la couleur d'émission du vert ($\lambda_{\max} = 527$

nm) à l'orange ($\lambda_{\max} = 609$ nm) en fonction de la nature des substituants et de l'agencement à l'état solide.

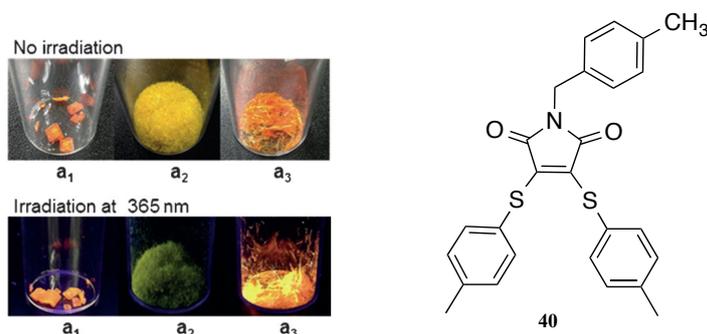


Figure 2- 3 : Photographies des trois formes polymorphes a_1 – a_3 du dérivé de maléimide **40** sous irradiation UV à 365 nm. Figure adaptée de la référence 2.

Le dérivé de maléimide **41** substitué par deux groupements thiophènes a montré également des propriétés de fluorescence intéressantes à l'état solide³. La longueur d'onde d'émission de fluorescence et le rendement quantique sont notamment dépendants de la structure que ce dérivé adopte à l'état solide.

La cible choisie est une molécule de maléimide substituée par des groupements méthoxy, renommée dans ce manuscrit MaleOMe, car selon la littérature, cette molécule possède des propriétés photophysiques conformes à ce que nous attendons d'une sonde fluorescente capable de détecter des molécules neutres.

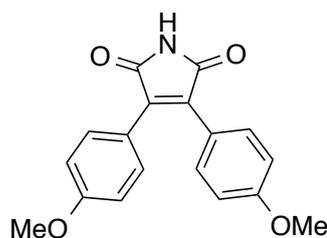


Figure 2- 4 : Structure de la molécule cible : le 3,4-bis(4-méthoxyphényl)maléimide (MaleOMe).

Il existe plusieurs voies de synthèse possibles pour obtenir cette sonde fluorescente. En 2014, Marcelo Henrique Gehlen¹ a utilisé l'acide fumarique comme substrat de la réaction de Heck-Matsuda pour obtenir le composé monoarylé **44** avec de bons rendements. Ce dernier est ensuite engagé dans une deuxième réaction d'arylation. Il aurait fallu une troisième étape de substitution nucléophile par de l'ammoniaque aqueux pour accéder à la sonde MaleOMe ; cette voie n'a donc pas été retenue.

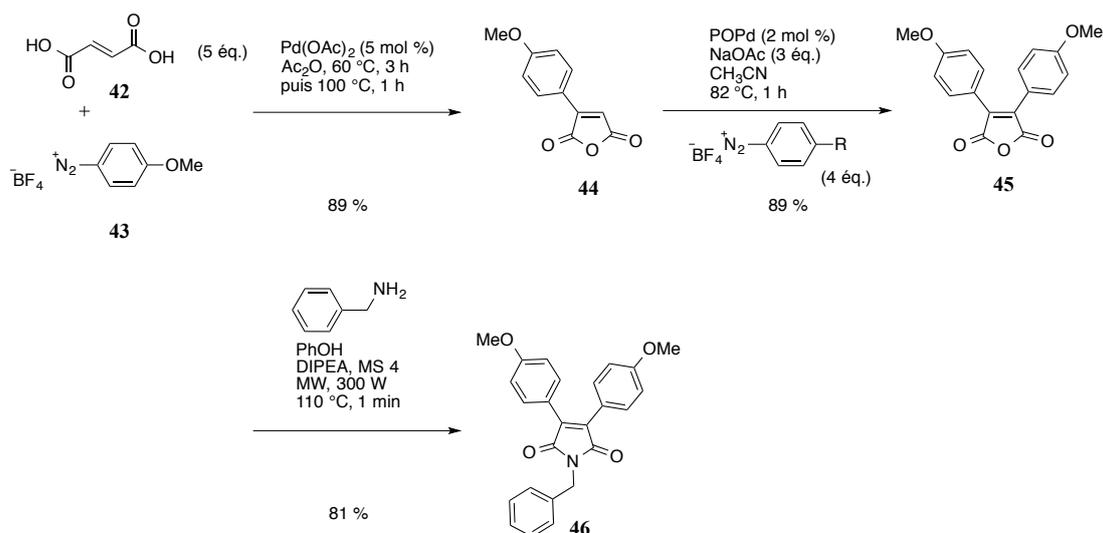


Schéma 2- 1 : Voie de synthèse via une arylation de Heck proposée par Marcelo Henrique Gehlen.

Marie-Claude Viaud-Massuard⁴ en 2005 a quant à elle mis au point un couplage pallado-catalysé de Suzuki entre le maléimide diiodé **49** et les acides boroniques **48**. Les rendements se situent entre 62 et 93 %. Nous aurions pu synthétiser notre cible en utilisant cette méthode avec l'acide boronique commercial approprié mais elle aurait nécessité une étape finale de déprotection de l'imide relativement délicate à réaliser.

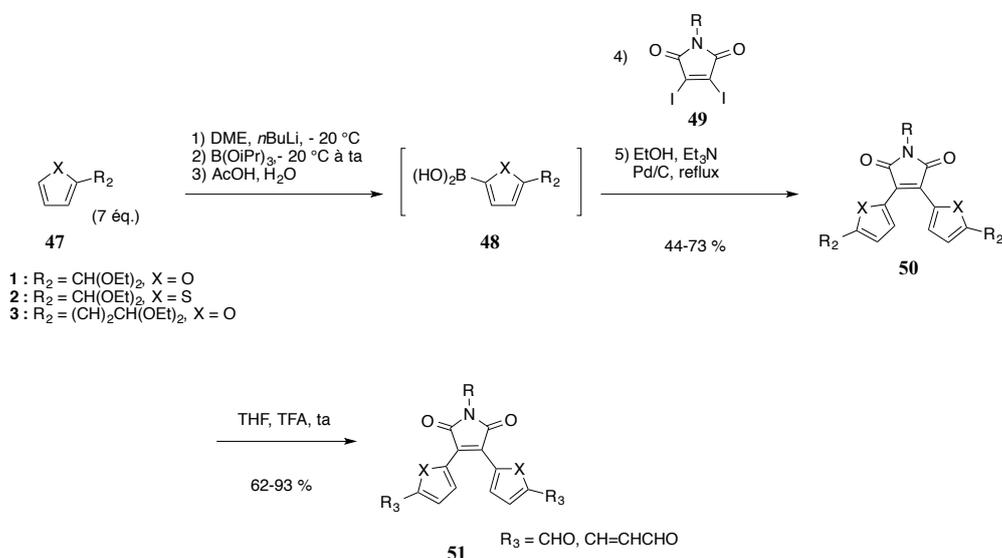


Schéma 2- 2 : Voie de synthèse des dérivés de maléimide proposée par Marie-Claude Viaud-Massuard.

Nous avons ainsi choisi de reproduire la synthèse du 3,4-bis(4-methoxyphenyl)maléimide décrite dans la littérature^{5,6} par Chin-Ti Chen en 2004 en augmentant le temps de réaction.

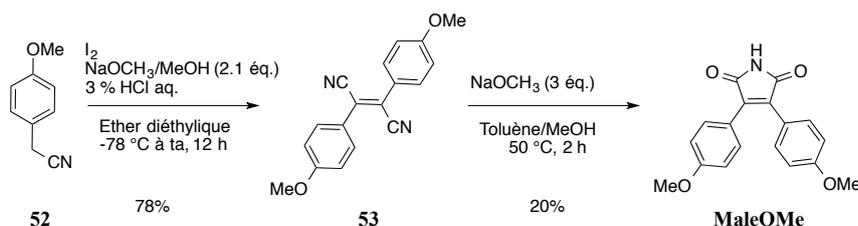


Schéma 2-3 : Synthèse réalisée de MaleOMe.

La première étape est une réaction de condensation à basse température à partir de la molécule de (*p*-méthoxyphényl)acétonitrile **52** en présence de 2,1 éq. d'une solution méthanolique de méthanolate de sodium. La réaction est « quenchée » par l'ajout d'acide chlorhydrique et conduit au fumaronitrile **53** avec un rendement de 78 %. L'ajout de trois équivalents de méthanolate de sodium à 50 °C permet de former la molécule de MaleOMe avec un rendement de 20 %. La quantité introduite de méthanolate de sodium et la concentration des réactifs sont des paramètres primordiaux pour le succès de la synthèse.

Bien que la dernière étape soit délicate à mettre en œuvre, cette méthode de synthèse permet de synthétiser le dérivé du maléimide désiré en deux étapes.

1.1.2) Conception et synthèse des composés de la famille des naphthalimides

Nous avons choisi de synthétiser des dérivés de la molécule de 1,8-naphthalimide substitués en position 4. Ces derniers possèdent une fluorescence beaucoup plus forte que la molécule initiale de 1,8-naphthalimide⁷ et une grande photostabilité, d'où leur utilisation en tant que sondes moléculaires fluorescentes. Les naphthalimides présentent également un fort solvatochromisme⁸.



Figure 2-5 : Structure d'un dérivé du 1,8-naphthalimide.

Parmi ces dérivés, les 4-amino-1,8-naphthalimides et 4-alkylamino-1,8-naphthalimides⁹ dont les déplacements de Stokes sont élevés font partie des plus étudiés. L'incorporation d'un substituant donneur d'électron tel qu'une amine à la position 4 offre des avantages tels qu'un rendement quantique plus élevé et une émission de fluorescence décalée vers le rouge. Ces dérivés sont notamment caractérisés par un transfert de charge intramoléculaire (ICT), ce qui les rend particulièrement sensibles aux changements de leur microenvironnement. Les

naphthalimides apparaissent ainsi adaptés à la détection d'ions métalliques, d'anions inorganiques ou de molécules organiques, comme le montrent les exemples suivants que nous allons détailler.

Maria Rangel¹⁰ en 2013 s'est notamment intéressée à la détection de Fe^{3+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} à l'aide du naphthalimide fluorescent **N-3,4-HPO** soluble dans l'eau. **N-3,4-HPO** est fonctionnalisé par une pyridinone bidentate à la position 4 et un groupement diméthylamine au niveau de l'imide.

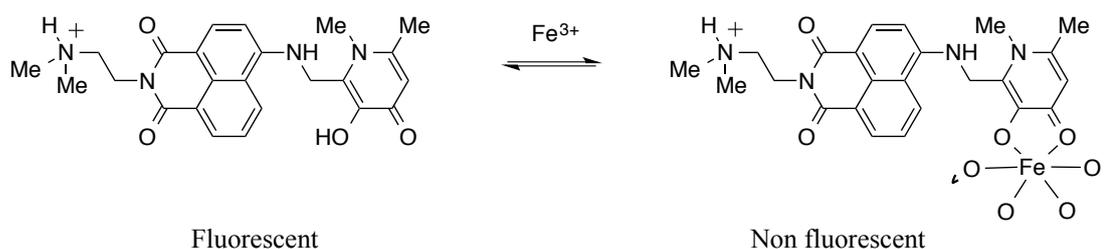


Schéma 2- 4 : Réponse de la sonde naphthalimide N-3,4-HPO après coordination de Fe^{3+} .

Ses propriétés spectroscopiques dépendent du pH : la fluorescence de la sonde à 525 nm diminue quand le pH dépasse la valeur de 9 car on observe un transfert d'électron photoinduit à partir du groupement ammonium déprotoné. De plus, la fluorescence est éteinte de manière non sélective par les ions Fe^{3+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} en raison de la formation de complexes métalliques pour des concentrations de l'ordre du micromolaire.

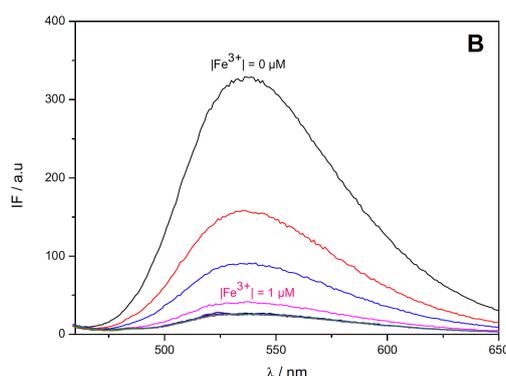


Figure 2- 6 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde N-3,4-HPO en présence de concentrations croissantes de Fe^{3+} ($\lambda_{\text{exc}} = 439 \text{ nm}$). [Sonde] = $3,0 \mu\text{M}$, tampon MOPS, $I = 0,1 \text{ M NaCl}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7,4$. Figure issue de la référence 10.

Quant à Enqin Fu, il a mis au point en 2008 la sonde naphthalimide **54** pour laquelle la fluorescence est exaltée en présence de l'anion pyrophosphate PPi^{11} . Un groupement guanidinium et un groupement pyrrole ont été greffés à la position 4 du naphthalimide.

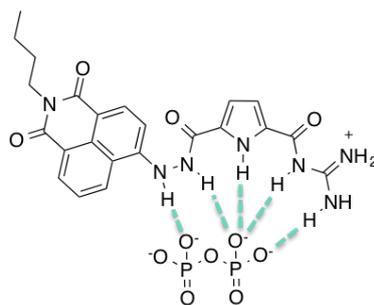


Figure 2- 7 : Détection sélective de l'anion pyrophosphate à l'aide du naphthalimide 54. Figure adaptée de la référence 11.

Cette exaltation est sélective et ne se produit pas en présence d'autres anions analogues tels que l'ATP ou l'AMP. Elle est due à une augmentation du transfert de charge intramoléculaire suite à la formation de liaisons hydrogène entre les différents groupements amines et le pyrophosphate dans un milieu constitué à 90 % d'eau et 10 % de DMSO. La bande d'émission de fluorescence est déplacée de 510 nm à 514 nm. Elle atteint son maximum pour 2000 éq. de PPi soit une concentration de 0,02 M.

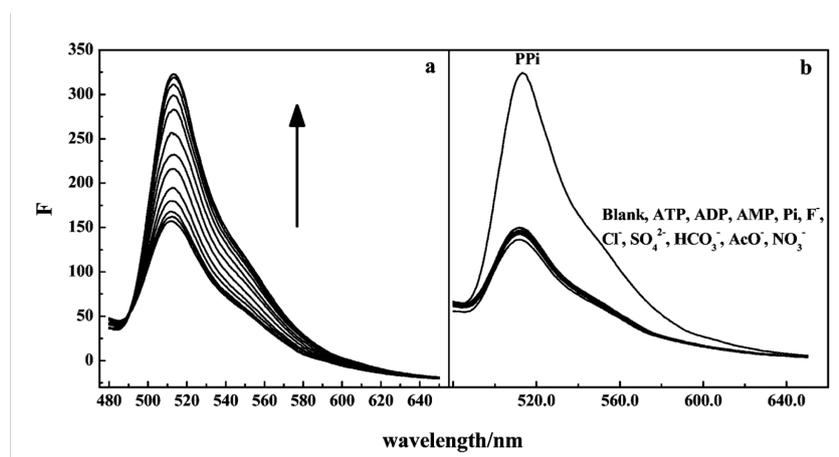


Figure 2- 8 : *A gauche* : Spectres d'émission fluorescence de la sonde naphthalimide 54 (10 μ m) avec PPi (2000 éq.) dans le milieu eau /DMSO = 90 : 10 (v/v) (pH = 7,4, 10 mM tampon HEPES), *à droite* : Spectres d'émission fluorescence de la sonde naphthalimide (10 μ m) après ajouts de sels de sodium de PPi, ATP, ADP, AMP, Pi, F⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, HCO₃³⁻, AcO⁻ et de NO₃⁻ (0 – 2000 éq.) dans le milieu eau /DMSO = 90 : 10 (v/v) (pH = 7.4, 10 mM HEPES buffer). Figure issue de la référence 11.

Les membres de ce laboratoire ont également travaillé sur la détection d'acides aliphatiques¹². Ils ont greffé un naphthalimide fluorescent *via* une éthylènediamine sur une β -cyclodextrine, macromolécule pouvant former des complexes d'inclusion en solution aqueuse (comme nous l'avons vu dans le chapitre 1).

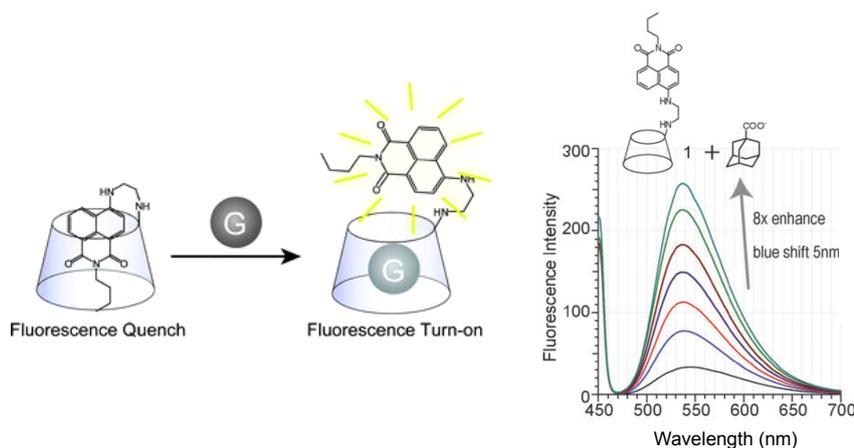


Figure 2-9 : A gauche : Principe de détection d'acides aliphatiques, à droite : spectres d'émission de fluorescence de la sonde naphthalimide 55 (10 mM) en présence de différentes concentrations d'adamantane-1-carboxylate de sodium dans le tampon Tris-HCl (20 mM, pH = 7,4) à 283 K. Figure adaptée de la référence 12.

Cette β -cyclodextrine **55** voit sa fluorescence exaltée quand elle encapsule les acides aliphatiques selon un mécanisme différent de celui reporté dans la littérature. En effet, usuellement pour les cyclodextrines fluorescentes, le chromophore fluoresce à l'intérieur de la cavité en l'absence de molécule invitée. L'encapsulation de l'analyte déloge le chromophore de la cavité hydrophobe. Il se retrouve alors dans un milieu aqueux polaire qui conduit à une diminution et à un déplacement vers le rouge de sa fluorescence.

Ici, le naphthalimide seul « s'auto-inclut » dans la cavité et fluoresce très peu à 540 nm. La cavité de la cyclodextrine est responsable de l'extinction de fluorescence du naphthalimide. En présence de l'acide adamantane-1-carboxylique, le naphthalimide est exclu de la cavité, l'intensité de fluorescence est multipliée par 8 et la bande d'émission est décalée de 5 nm vers le bleu (voir figure 2-9). La concentration de l'acide aliphatique est de l'ordre de 10^{-4} M.

Il est à noter que dans les cas mentionnés, l'unité naphthalimide sert uniquement d'entité fluorescente mais intervient peu ou pas du tout dans la reconnaissance des molécules cibles. Cependant, l'interaction peut se faire *via* le groupement imide non substitué, ce qui nous intéresse particulièrement car nous souhaitons nous servir de cette fonction pour la détection des analytes neutres comme l'atrazine. C'est le cas du dérivé **56** de la molécule de 1,8-naphthalimide développé par Di-hua Shangguan¹³ en 2011. Une éthanolamine a été greffée à la position 4 de ce composé qui fluoresce à 550 nm. Il interagit avec l'ion Hg^{2+} selon un processus d'échange proton-métal qui implique le proton de l'imide. Cet échange explique l'extinction de 90 % de la fluorescence du naphthalimide en solution aqueuse.

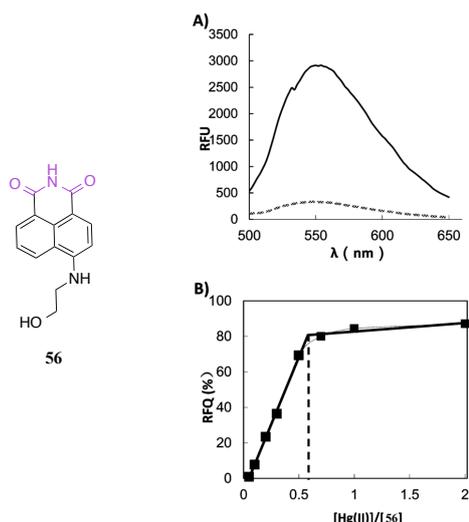


Figure 2- 10 : A gauche : Structure de la sonde naphthalimide 56, à droite : A) Spectre d'émission de la sonde 56 seule ou en présence de l'ion Hg²⁺ (en pointillé) dans le tampon phosphate à pH = 7,5 (λ_{exc} = 440 nm), B) profil de titration de 56 (5 μ M) avec Hg²⁺. RFQ (relative fluorescence quenching) = extinction relative de la fluorescence. Figure adaptée de la référence 13.

Le schéma 2-5 suivant rend compte de la formation réversible du complexe imide-Hg²⁺-imide en présence de l'ion mercure (environ 0,5 éq.). Cette détection est sélective vis-à-vis des autres cations.

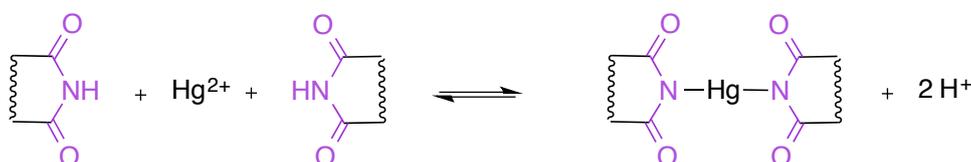


Schéma 2- 5 : Formation du complexe imide-Hg-imide. Figure adaptée de la référence 13.

Les exemples cités précédemment portaient sur des naphthalimides substitués en position 4 par des groupements amine, éthanolamine ou allylamine mais d'autres groupements donneurs d'électrons peuvent être ainsi ajoutés à la molécule de 1,8-naphthalimide afin de moduler le caractère « *push-pull* » du transfert de charge intramoléculaire. Il est notamment possible d'obtenir un naphthalimide hautement solvatochromique et sensible à la polarité en greffant en position 4 un phénylacétylène substitué⁸ à l'aide d'un couplage de Sonogashira (voir figure 2-11). Ce dérivé 57 est caractérisé par un rendement quantique de 79 % dans l'hexane.

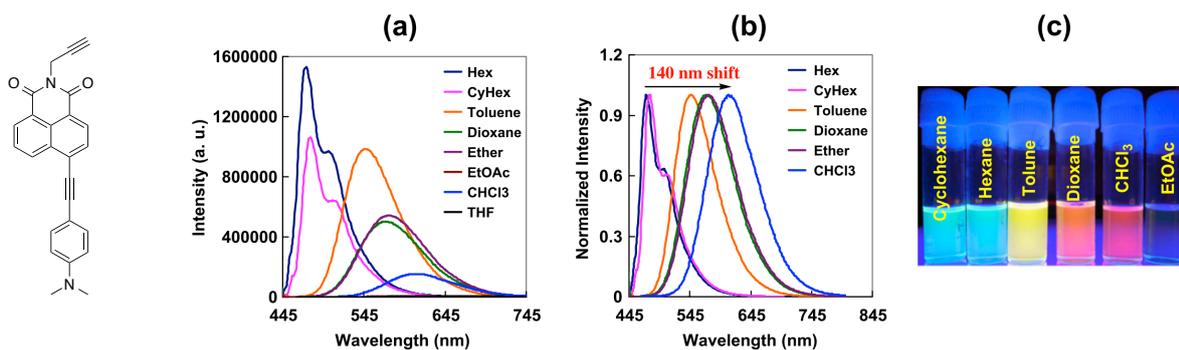


Figure 2- 11 : Dérivé 57 fortement solvatochromique. Figure adaptée de la référence 8.

Par ailleurs, il est également possible de greffer des groupements donneurs ou des groupements complexants grâce à la chimie « click ». Le capteur fluorescent **58** de l'ion Zn^{2+} a ainsi été conçu par Michael Watkinson en 2010 à partir d'un naphthalimide¹⁴.

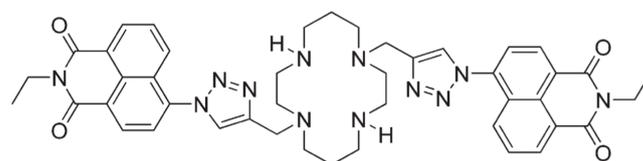


Figure 2- 12 : Structure de la sonde 58 pour la complexation du zinc.

Plus précisément, la sonde est constituée de deux naphthalimides liés au macrocycle par un pont triazole. Le zinc (1 éq.) complexé par le macrocycle dans une solution tampon HEPES /CH₃CN induit une augmentation de l'intensité de fluorescence à 416 nm par un facteur deux. La complexation du zinc bloque le transfert d'électron photoinduit depuis le doublet de l'azote du macrocycle et entraîne ainsi une exaltation de la fluorescence (voir figure 2-13).

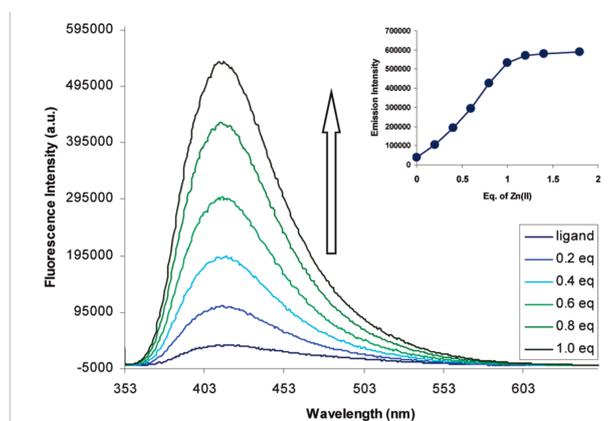


Figure 2- 13 : Spectres d'émission de fluorescence de 58 ($c_{\text{sonde}} = 10 \mu\text{M}$) dans une solution tampon HEPES /CH₃CN = 7 : 3 (pH = 7) en présence de Zn(ClO₄)₂ dans l'eau après 25 minutes. Encart : intensité de fluorescence en fonction de $[Zn^{2+}]$, $\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$. Figure issue de la référence 14.

Nous avons ainsi constaté la capacité des fluorophores naphthalimides à agir en tant que sondes fluorescentes. C'est pourquoi nous nous sommes orientés vers ce type de composés. Nous avons ciblé la synthèse de trois naphthalimides dont la molécule de 4-*n*-butylamino-1,8-naphthalimide déjà reportée dans la littérature¹⁵ ; les deux autres étant deux nouveaux membres de la famille des naphthalimides. Nous avons varié la nature du groupement donneur afin d'évaluer l'influence de ce dernier sur les propriétés de solvatochromisme et sur l'interaction par liaisons hydrogène avec les divers analytes. Nous avons ainsi conservé l'imide libre afin qu'elle puisse interagir avec l'atrazine, ses produits de dégradation et les dérivés de la mélamine. La figure 2-14 présente leur structure.



Figure 2- 14 : Structures des dérivés de naphthalimide synthétisés

Pour le 4-*n*-butylamino-1,8-naphthalimide que nous avons renommé Naphth-NHBu, la butylamine joue le rôle de substituant donneur d'électrons et son doublet est conjugué avec les cycles aromatiques adjacents. Les deux autres naphthalimides Naphth-TriazoleOMe et Naphth-AlcyneOMe comportent un groupement methoxybenzyle donneur d'électrons conjugué à l'unité imide acceptrice d'électron *via* un pont triazole ou un lien alcyne.

Ces composés ont été construits pour qu'il y ait un fort transfert de charge intramoléculaire. De plus, l'extension de la conjugaison permet d'augmenter la mobilité des électrons π ce qui devrait conduire à des molécules plus absorbantes.

La molécule commerciale d'anhydride 4-bromo-1,8-naphthalique **59** est le point de départ des trois synthèses. Pour la synthèse de Naphth-NHBu, cette molécule subit une réaction d'addition-élimination qui requiert l'utilisation de l'ammoniaque aqueux. Cette réaction se fait dans l'éthanol au reflux et conduit au 4-bromo-1,8-naphthalimide **60** avec un rendement de 96 %. La deuxième et dernière étape est une substitution nucléophile par la *n*-butylamine sur le naphthalimide bromé à 85 °C pendant 29 h. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, le rendement de cette étape est de 74 %.

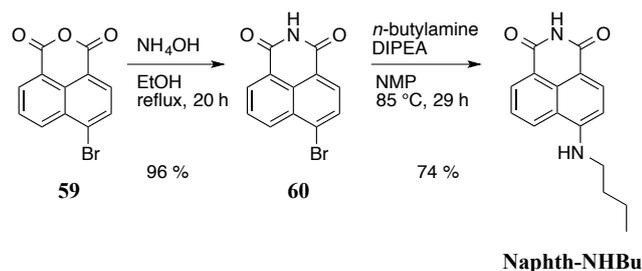


Schéma 2- 6 : Synthèse de Naphth-NHBu.

Concernant la synthèse de Naphth-TriazoleOMe, la première étape consiste à greffer un groupement azoture $-N_3$ sur la position 4 de l'anhydride 1,8-naphthalique¹⁶. L'azoture de sodium (3,7 éq.) est utilisé pour la substitution nucléophile aromatique sur le brome. Après 6 h, à température ambiante, l'anhydride 4-azido-1,8-naphthalique **61** est formé avec un rendement de 95 %. Il s'ensuit une réaction de chimie click en présence de sulfate de cuivre et d'ascorbate de sodium. Le 4-éthynylanisole réagit à 110 °C pendant 14 h avec l'azoture pour former un pont triazole avec un rendement de 68 %. La dernière étape est la réaction d'addition-élimination quantitative en présence d'ammoniaque aqueux pour former le naphthalimide.

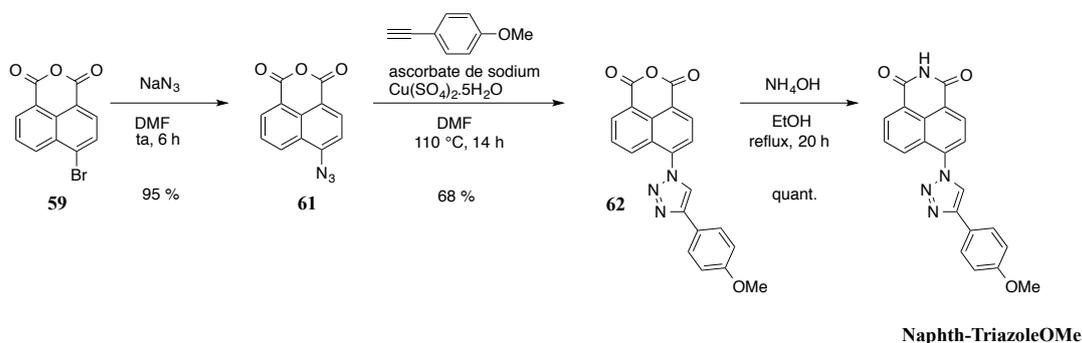


Schéma 2- 7 : Synthèse de Naphth-TriazoleOMe.

Le 4-éthynylanisole intervient aussi dans la synthèse de Naphth-AlcyneOMe pour la première étape¹⁷. Il s'agit d'un couplage de Sonogashira pallado-catalysé qui nécessite 4 h de réaction à 80 °C. Le composé obtenu **63** avec un rendement de 77 % subit ensuite une réaction d'addition-élimination en présence d'ammoniaque aqueux dans des conditions similaires aux précédentes synthèses.

Les structures des nouveaux naphthalimides Naphth-AlcyneOMe et Naphth-TriazoleOMe ont été confirmées ; ces derniers ont été caractérisés par RMN ¹H, RMN ¹³C et par spectrométrie de masse.

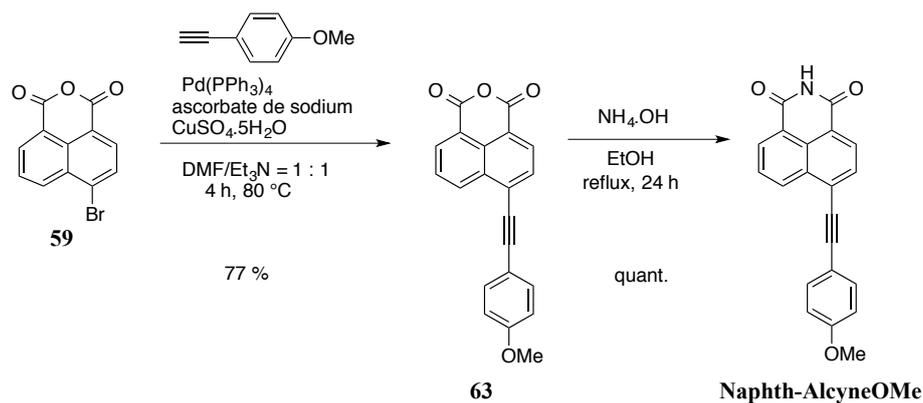


Schéma 2- 8 : Synthèse de Naphth-AlcyneOMe.

1.1.3) Conception et synthèse des dérivés de l'acide barbiturique

Après les dérivés du maléimide et du 1,8-naphthalimide, nous avons décidé de concevoir une nouvelle sonde dérivée de l'acide barbiturique. Ce composé possède une fonction malonylurée, c'est-à-dire une fonction urée associée à une sous-structure malonyle, ce qui le rend particulièrement électroattracteur (voir figure 2-15).

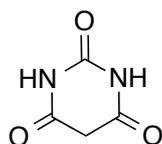


Figure 2- 15 : Structure de l'acide barbiturique.

De plus, les protons en position *alpha* des deux carbonyles présentent une forte acidité ce qui permet d'engager l'acide barbiturique nucléophile dans une réaction de condensation telle que la condensation de Knœvenagel. Il est alors possible d'y greffer un groupement électrodonneur afin de construire une sonde fluorescente à transfert de charge.

Les dérivés de l'acide barbiturique sont sensibles à la présence d'ions chargés négativement ou positivement. En effet, le dérivé d'acide barbiturique **64** à transfert de charge ci-dessous s'expose à des changements de fluorescence en présence de l'ion fluorure¹⁸. Ce dérivé permet la détection spécifique et sélective de l'ion F⁻ vis-à-vis d'autres anions inorganiques dans le DMSO.

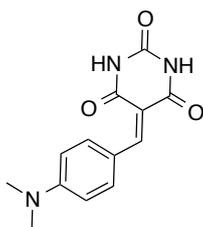


Figure 2- 16 : Structure du dérivé de l'acide barbiturique 64 capable de détecter l'ion fluorure.

La concentration de ce dernier est un paramètre important pour la détection. Quand la concentration en ions F^- est faible, la déprotonation d'une molécule d'eau suivie de la réaction de rétro-Knœvenagel survient (voir schéma 2-9). Cela induit alors un déplacement de 48 nm vers le bleu de la bande d'absorption correspondant au transfert de charge. La fluorescence, quant à elle, diminue à 518 nm et un petit épaulement apparaît à 493 nm (voir figure 2-17).

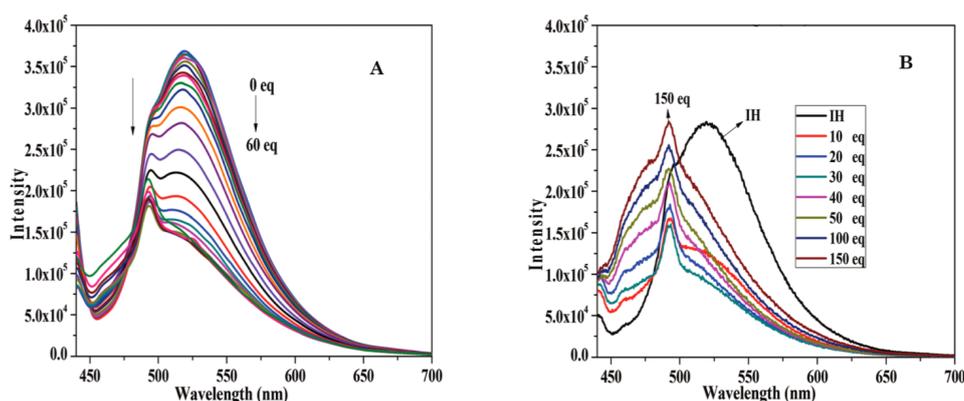


Figure 2- 17 : Spectres d'émission de fluorescence du dérivé 64 ($9,2 \times 10^{-6}$ M) dans le DMSO A) après ajouts successifs de F^- et B) après ajouts de F^- en une seule fois. Figure issue de la référence 18.

En revanche, à forte concentration en ion fluorure la force de la liaison hydrogène avec le proton N-H de la malonylurée est grande. La fluorescence à 518 nm diminue, le pic à 493 nm est observé directement et devient de plus en plus intense.

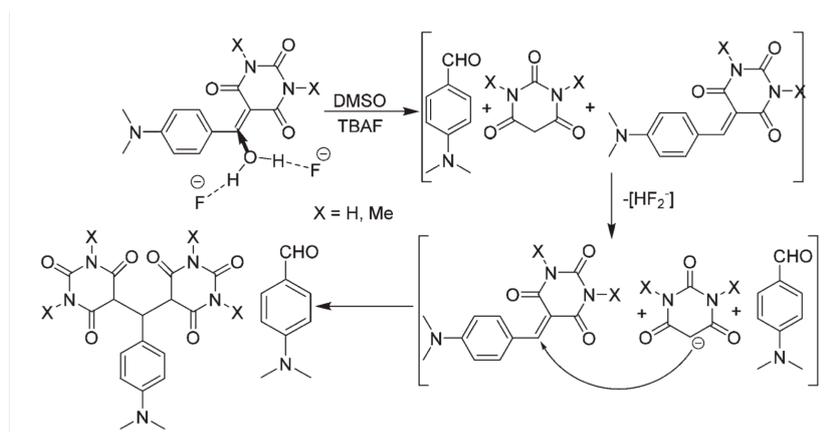


Schéma 2- 9 : Mécanisme proposé pour l'obtention du nouveau composé en présence de l'ion fluorure en faible concentration.

Quant au dérivé d'acide barbiturique **65** portant un groupement anthracène¹⁹, il est capable de coordonner cette fois-ci le cation Hg^{2+} (de façon analogue au dérivé naphthalimide précédemment décrit). La coordination de l'ion mercure favorise la formation d'excimères de l'anthracène. Une détection ratiométrique est rendue possible en mesurant le rapport de

l'intensité de l'excimère sur celle du monomère dans une solution tampon $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3$ ($\text{pH} = 9,0$). Le fluorophore s'agrège en solution aqueuse comme en témoignent, d'une part, la large bande d'absorption à des longueurs d'onde élevées comprises entre 420 nm et 540 nm et, d'autre part, la bande d'émission correspondant aux fluorophores agrégés à 515 nm (en plus de l'émission du monomère à 395 nm, 417 nm et 441 nm).

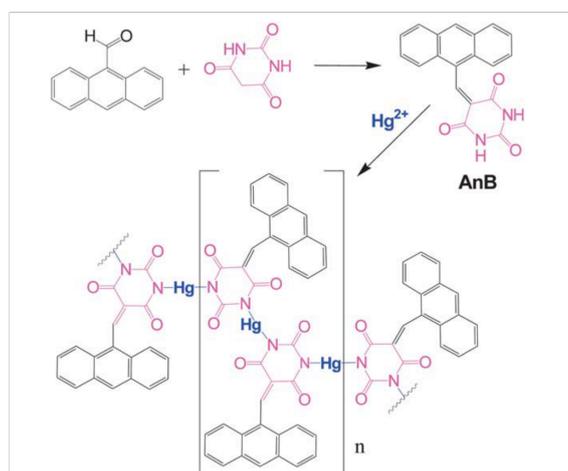


Schéma 2- 10 : Synthèse du dérivé de l'acide barbiturique 65 et formation des complexes avec l'ion Hg^{2+} . Schéma issu de la référence 19.

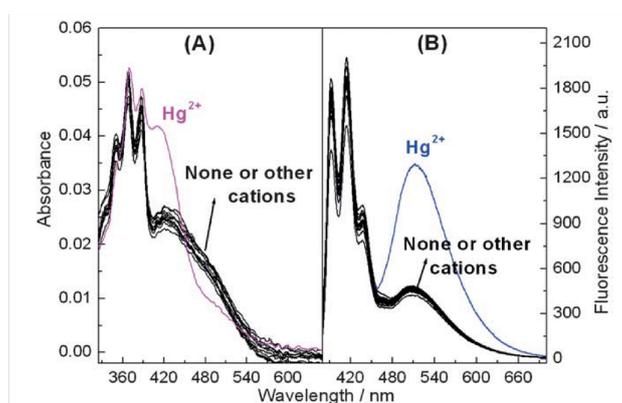


Figure 2- 18 : A) Spectres d'absorption de B) d'émission de fluorescence du dérivé 65 ($1,00 \times 10^{-5}$ M) en présence de 10 éq. de Hg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Cd^{2+} , Ag^+ , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} et de Cr^{3+} , respectivement ($\text{pH} = 9,0$, solution tampon $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3$, $C = 0,02$ M, $\lambda_{\text{exc}} = 367$ nm). Figure issue de la référence 19.

Par ailleurs, les dérivés d'acide barbiturique ont la faculté de former des polymères supramoléculaires grâce à un réseau de liaisons hydrogène. C'est ce qui a été réalisé à partir d'une mérocyanine fonctionnalisée par un acide barbiturique en 2011 par Frank Würthner²⁰. Ce composé 66 s'auto-assemble dans une disposition tête-bêche à l'aide de six liaisons hydrogène. Fortement concentrés dans des mélanges de solvants non polaires chloroforme/*n*-hexane, des gels relativement fluorescents ($\Phi = 17$ %) se forment tandis que le fluorophore monomérique ($\lambda_{\text{em}} = 408$ nm) et le polymère ($\lambda_{\text{em}} = 489$ nm) dans le chloroforme fluorescent

peu ($\Phi = 3 \%$ et 7% , respectivement). La formation de polymères supramoléculaires de manière très étendue s'obtient en effet à des concentrations en monomère élevées dans le chloroforme. En revanche, le gel se prépare en dissolvant dans un volume précis de chloroforme la mérocyanine puis en y ajoutant un volume précis de *n*-hexane.

Le rendement quantique du fluorophore est faible en raison de la mobilité conformationnelle de la double liaison qui constitue une voie de désexcitation non radiative. L'auto-assemblage rigidifie alors la structure ce qui bloque la voie de désexcitation non radiative et entraîne une exaltation de la fluorescence.

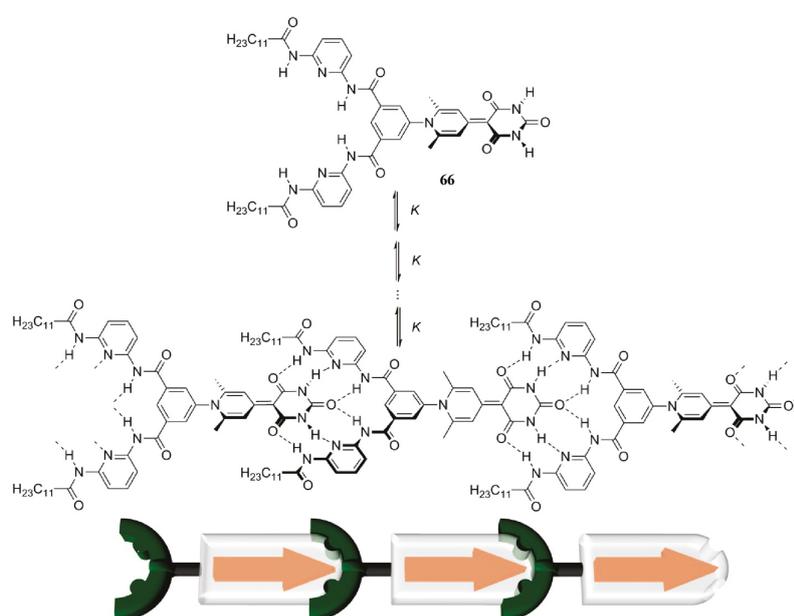


Figure 2- 19 : Formation du polymère supramoléculaire à partir de dérivés de mérocyanine 66 disposés tête-bêche et orientation schématique des moments dipolaires après l'auto-assemblage. Figure issue de la référence 20.

De plus, le fluorophore présente une forte bande d'absorption attribuée au transfert de charge et se caractérise par un solvatochromisme négatif ; un déplacement hypsochrome est observé quand la polarité du solvant augmente. Ce solvatochromisme est dû à une stabilisation différente de l'état fondamental et de l'état excité par le solvant et à une modification du moment dipolaire après l'excitation.

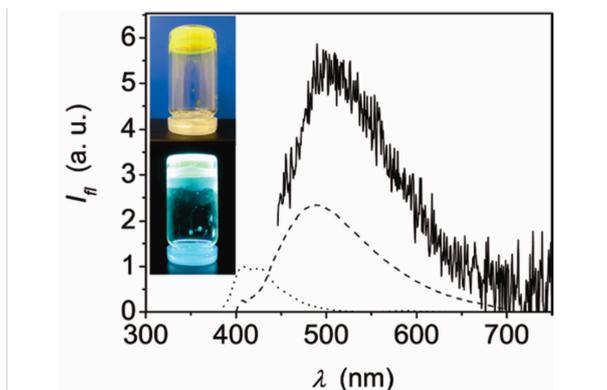


Figure 2- 20 : Spectre de fluorescence du gel préparé à partir du dérivé de mérocyanine 66 dans le mélange $\text{CHCl}_3/n\text{-hexane} = 40 : 60$ vol %, ($c = 88$ mM, $\lambda_{\text{exc}} = 370$ nm, trait plein), du monomère ($c = 1,4 \times 10^{-7}$ M, 328 K, $\lambda_{\text{exc}} = 370$ nm, en pointillé) et de l'auto-assemblage dans le chloroforme du dérivé de mérocyanine ($c = 0,7 \times 10^{-4}$ M, $\lambda_{\text{exc}} = 370$ nm, trait discontinu). Encart : Photographies du gel fluorescent à température ambiante après irradiation sous lampe UV ($\lambda_{\text{exc}} = 366$ nm). Figure issue de la référence 20.

Les dérivés de l'acide barbiturique décrits précédemment se révèlent donc solvatochromes et voient leur fluorescence modifiée par l'interaction avec des ions ou par la formation de polymères supramoléculaires. Nous avons opté pour la synthèse de deux dérivés de l'acide barbiturique comportant un groupement triphénylamine ou un groupement diméthylamine pour évaluer l'influence du groupement donneur sur la fluorescence. Nous obtenons ainsi les sondes que nous avons nommées TPA-BARB et DMAP-BARB (voir figure 2-21). De plus, les dérivés de la triphénylamine sont connus pour être fluorescents.

DMAP-BARB a été conçu de manière à ce que la conjugaison soit plus étendue entre le groupement attracteur d'électron que constitue le cycle de l'acide barbiturique et le groupement donneur d'électron à savoir le diméthylaminophényle. Ce dernier a déjà été reporté dans la littérature^{21,22}. La présence d'une double liaison supplémentaire devrait conduire à des propriétés différentes d'absorption et de fluorescence. Par ailleurs, la synthèse de ces dérivés d'acide barbiturique présente l'avantage de recourir à des aldéhydes commerciaux.

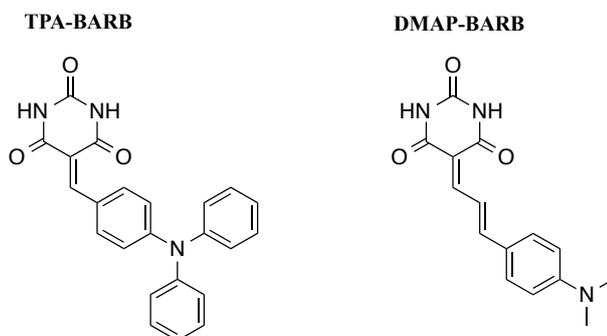


Figure 2- 21 : Structure des dérivés de l'acide barbiturique synthétisés.

En engageant dans une réaction de Knoevenagel la molécule d'acide barbiturique avec celle de 4-(diphénylamino)benzaldehyde en quantité stoechiométrique, la sonde TPA-BARB est obtenue avec un rendement de 75 %. Le nouveau composé TPA-BARB a été caractérisé par RMN ^1H , RMN ^{13}C et par spectrométrie de masse.

DMAP-BARB a été obtenu après la réaction de condensation de Knoevenagel entre l'acide barbiturique et la molécule de (*E*)-3-(4-(diméthylamino)phényl)acrylaldehyde introduits en quantité stoechiométrique dans le DMF pendant trente minutes à 140 °C. Le rendement pour cette réaction est de 72 %.

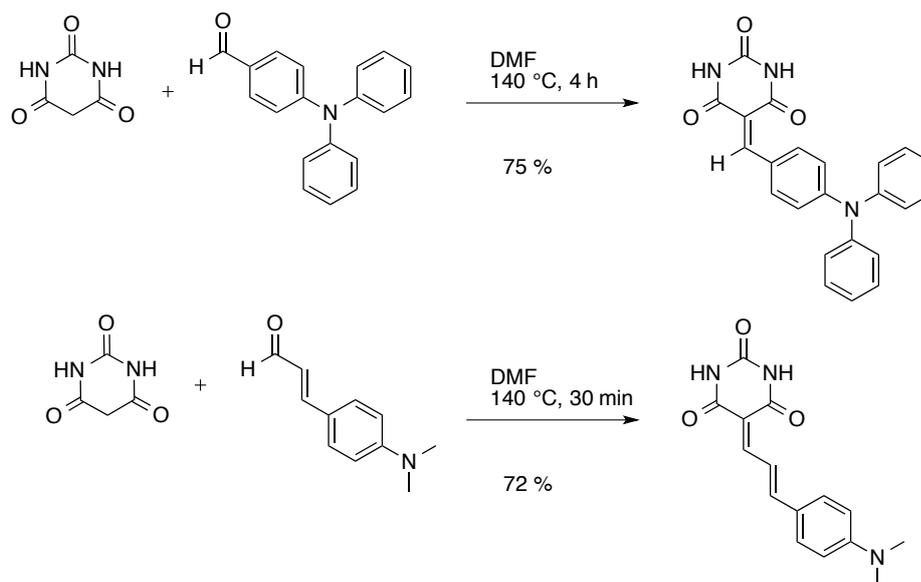


Schéma 2- 11 : *En haut* : Synthèse de TPA-BARB, *en bas* : synthèse de DMAP-BARB.

1.1.4) Synthèse des dérivés de la mélamine

L'alkylation de la mélamine est nécessaire pour nous permettre d'étudier l'interaction par liaisons hydrogène de cette triazine avec les diverses sondes fluorescentes que nous avons synthétisées. En effet, la mélamine est très peu soluble dans les solvants organiques et l'ajout de groupements alkyles à longues chaînes tels que le groupement éthylhexylamine permettent de la solubiliser. Deux dérivés de la mélamine nommés MA1 et MA2 ont ainsi été synthétisés au cours de cette thèse. Les dérivés de mélamine MA1 et MA2 présentent le motif donneur-accepteur-donneur de liaisons hydrogène. MA1 contient deux amines primaires pouvant donner des liaisons hydrogène. Le groupement (bis)éthylhexylamine ne peut pas être impliqué dans la liaison car le doublet libre de l'azote est trop encombré d'un point de vue stérique. Quant à MA2, les deux groupements éthylhexylamines et le groupement $-\text{NH}_2$ donnent des liaisons hydrogène, ce qui laisse apparaître deux sites de liaison potentiels.

La synthèse de la mélamine alkylée MA1 s'effectue à partir du chlorure cyanurique qui subit deux substitutions nucléophiles de la part de l'ammoniaque aqueux dans un mélange acétone/eau. Nous commençons la réaction exothermique à 0 °C avant de laisser agiter 14 heures à température ambiante pour obtenir le dérivé monochloré selon un protocole publié dans la littérature²³. Enfin, la substitution nucléophile avec la (bis)éthylhexylamine dans le DMF au reflux permet de remplacer le dernier atome de chlore et de former MA1 avec un bon rendement similaire à celui de la littérature²⁴.

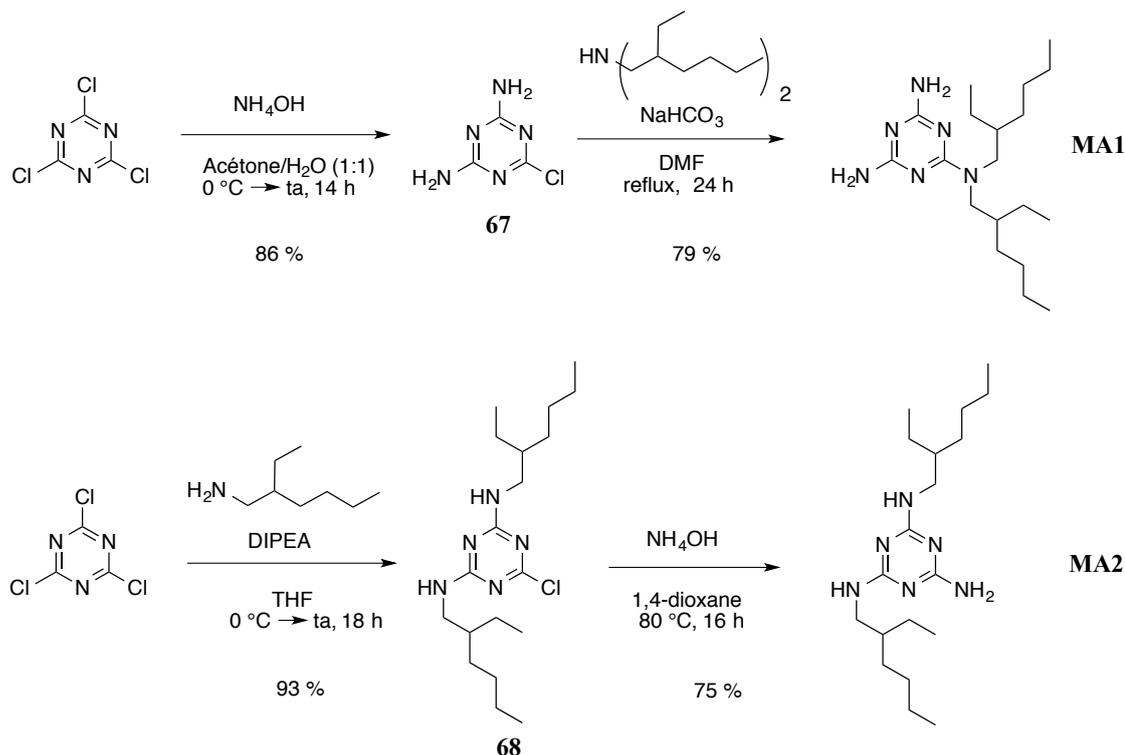


Figure 2- 22 : Synthèse des dérivés de mélamine MA1 et MA2.

La synthèse de MA2 requiert dans un premier temps le chlorure cyanurique qui réagit avec 2,1 équivalents d'éthylhexylamine lors d'une substitution nucléophile pendant 18 heures dans le THF²⁵. Le chlore restant est ensuite substitué par l'ammoniaque aqueux après 16 heures dans le 1,4-dioxane à 80°C en utilisant un protocole publié dans la littérature²⁶. Ce deuxième dérivé n'a pas été décrit dans la littérature.

1.2) Modélisation moléculaire des sondes

La modélisation moléculaire a été utilisée pour étudier dans un premier temps, l'efficacité du transfert de charge intramoléculaire des diverses sondes fluorescentes puis dans un second temps, la force de l'interaction par liaisons hydrogène entre les sondes et les analytes. En effet, les calculs ont été réalisés en supposant que l'interaction se fait par liaisons

hydrogène à l'aide des deux motifs conçus pour être complémentaires. La théorie de la fonctionnelle de la densité (*Density Functional Theory* ou DFT) est la méthode de calcul quantique la plus utilisée en chimie théorique pour étudier les propriétés chimiques des molécules et leur structure électronique. Elle repose sur la notion de densité qui représente la probabilité de présence d'un électron en connaissance de la position de tous les autres²⁷.

Quatre fonctionnelles ont été comparées pour les calculs de modélisation : la fonctionnelle B3LYP, la CAM-B3LYP, la ω B97XD et la fonctionnelle PBE0^{28,30}. La fonctionnelle WB97XD permet d'étudier les interactions non covalentes avec une grande fiabilité²⁹. Elle est ainsi bien adaptée pour tenir compte des liaisons hydrogène dans lesquelles les sondes fluorescentes pourraient être impliquées. Elle est donc utilisée pour optimiser la géométrie des molécules et évaluer l'énergie d'interaction entre les sondes et les analytes. Les fonctionnelles PBE0 et CAM-B3LYP sont, quant à elles, bien adaptées aux molécules à transfert de charge³⁰. Les calculs ont été réalisés dans le vide.

Nous présentons ici les résultats obtenus avec les sondes MaleOMe, Naphth-NHBU, Naphth-TriazoleOMe, Naphth-AlcyneOMe et TPA-BARB à partir de calculs DFT à l'aide du logiciel Gaussian.

1.2.1) Optimisation de la géométrie

La première étape de ces calculs théoriques consiste à modéliser la géométrie des diverses sondes synthétisées. Les résultats sont présentés ci-dessous. La molécule de MaleOMe n'est pas plane et les plans définis par les deux groupements méthoxyphényles forment respectivement un angle de 37,24° et de 40,74° avec le cycle à 5 chaînons.

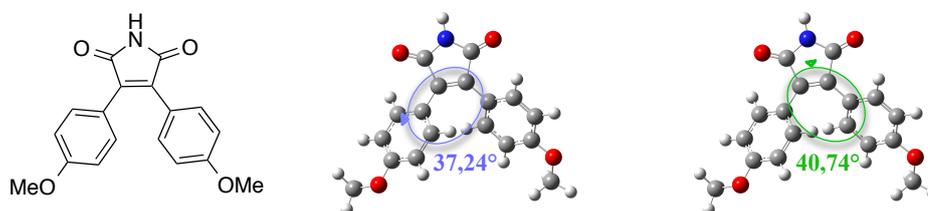


Figure 2- 23 : Géométrie optimisée de MaleOMe.

Pour la sonde Naphth-TriazoleOMe, nous trouvons un angle de 11,63° entre le plan formé par le groupement méthoxyphényle et celui du cycle triazole. Un angle de 57,86° sépare le plan du cycle triazole et celui de l'unité naphthalimide. D'autres fluorophores contenant un groupement triazole sont caractérisés par une conformation non-plane et des angles dièdres assez considérables à l'état fondamental³¹. De plus, même si les calculs de TD-DFT (Théorie

de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps ou en anglais Time-dependent density functional theory) permettant de modéliser l'état excité sont relativement complexes pour ce type de composé, il a été mis en évidence que la structure de la molécule s'aplanit après l'excitation³¹.

La structure du Naphth-AlcyneOMe n'est pas entièrement plane, on trouve un angle de 8,85° entre le groupement méthoxyphényle et l'unité naphthalimide.

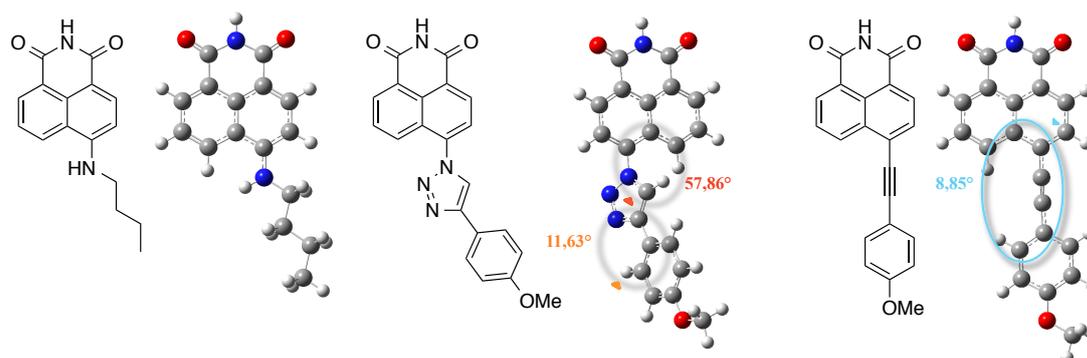


Figure 2- 24 : De gauche à droite : géométries optimisées des sondes Naphth-NHBu, Naphth-TriazoleOMe et Naphth-AlcyneOMe.

La sonde TPA-BARB présente quant à elle une forme hélicoïdale. Les trois cycles aromatiques portés par l'atome d'azote sont inclinés les uns par rapport aux autres. Un angle de 2,6° a été trouvé entre l'unité malonylurée et le cycle aromatique en *alpha* de la double liaison.

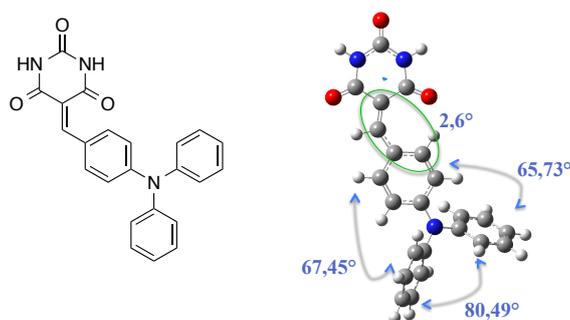


Figure 2- 25 : Géométrie optimisée de la sonde TPA-BARB.

1.2.2) Représentation des orbitales moléculaires

Les figures 2-26 et 2-27 ci-dessous rassemblent les données obtenues pour les diverses sondes concernant l'allure des orbitales moléculaires orbitales HO, HO-1, HO-2, BV et BV+1, leur localisation et leur niveau d'énergie avec la fonctionnelle PBE0. Il est à noter que l'allure des orbitales est quasi-indépendante des fonctionnelles alors que ces dernières ont une forte influence sur l'écart énergétique entre les orbitales. Pour un composé à transfert de

charge, les orbitales HO (orbitale occupée de plus haute énergie) et BV (orbitale vacante de plus basse énergie) devraient être localisées majoritairement sur les groupements donneurs et accepteurs d'électrons. De plus, l'énergie nécessaire au passage d'un électron de la HO vers la BV doit être suffisamment basse pour faciliter le transfert.

Pour la sonde MaleOMe, l'orbitale BV est plutôt centrée sur le groupement imide attracteur d'électrons tandis que l'orbitale HO est assez étendue sur toute la molécule. La localisation des orbitales devrait permettre néanmoins un transfert de charge satisfaisant. Concernant la sonde TPA-BARB, l'orbitale HO se situe principalement sur le groupement triphénylamine riche en électrons même si celle-ci remonte jusqu'à la double liaison. L'orbitale BV quant à elle, commence à l'atome d'azote du groupement triphénylamine se poursuit jusqu'à l'unité malonylurée.

Les orbitales BV et HO de la sonde Naphth-NHBu se recouvrent et sont toutes deux réparties uniformément sur l'unité naphthalimide et l'atome d'azote du groupement butylamine. En revanche, on remarque une nette séparation spatiale des orbitales frontières pour Naphth-TriazoleOMe. En effet, l'orbitale HO est située sur le cycle méthoxyphényle et le pont triazole tandis que l'orbitale BV est principalement concentrée sur l'unité naphthalimide. Cette absence de recouvrement entre les orbitales frontières est à mettre en relation avec le faible rendement quantique mesuré pour cette sonde (voir partie **2.1.2 Propriétés photophysiques de la sonde Naphth-TriazoleOMe**). De plus, cette caractéristique a été reportée dans la littérature pour des fluorophores naphthalimides comportant un pont triazole³². L'orbitale HO de la sonde Naphth-AlcyneOMe est cependant répartie sur l'ensemble de la structure alors que l'orbitale BV est localisée majoritairement sur l'unité naphthalimide.

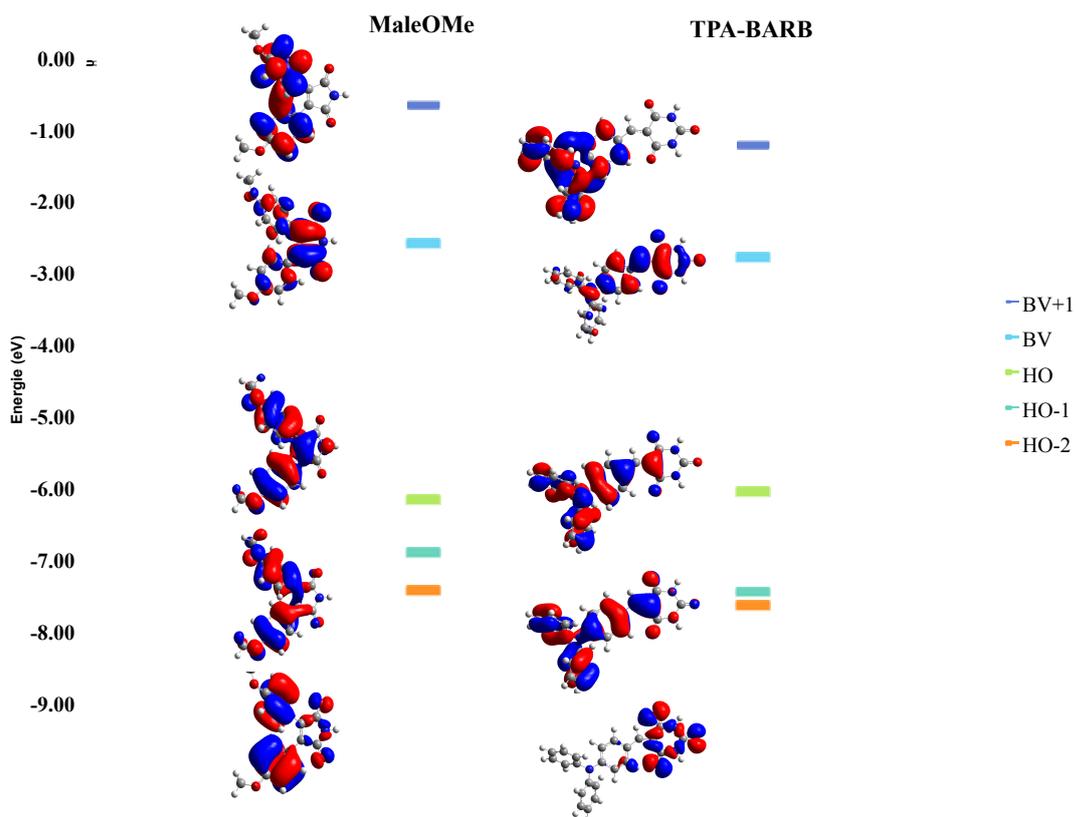


Figure 2- 26 : Niveaux d'énergie et représentation des orbitales moléculaires des sondes MaleOMe et TPA-BARB.

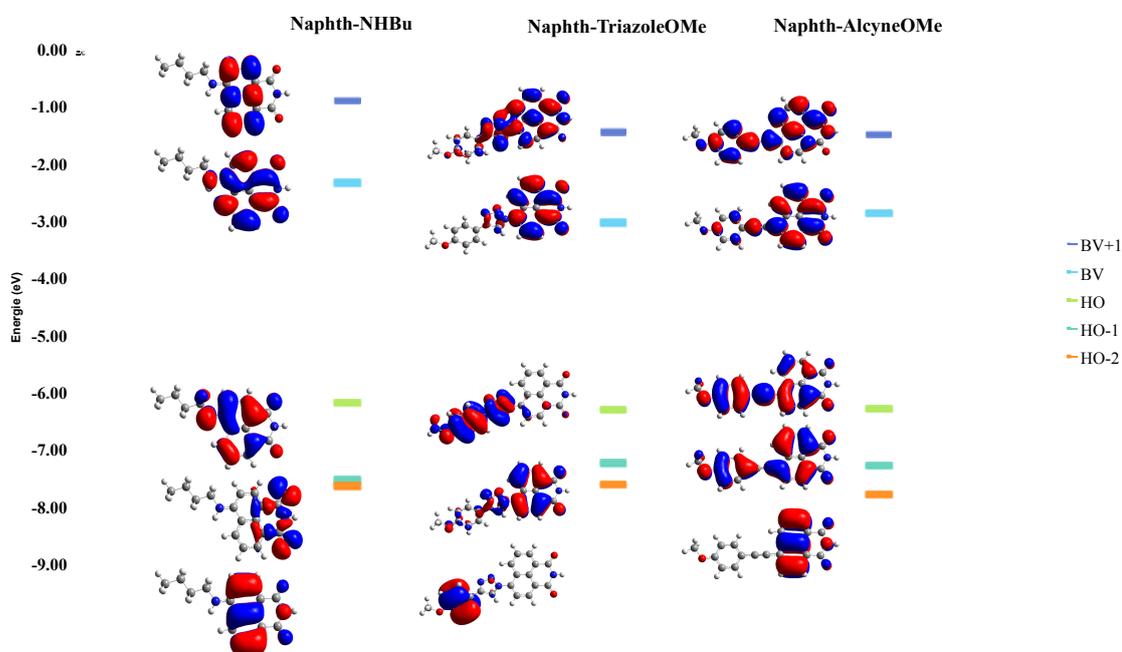


Figure 2- 27 :Niveaux d'énergie et représentation des orbitales moléculaires des sondes Naphth-NHBu, Naphth-TriazoleOMe et Naphth-AlcyneOMe.

Un recouvrement entre les deux orbitales frontières est observé pour la majorité des fluorophores synthétisés à l'exception de la sonde Naphth-TriazoleOMe. En effet, cette sonde se caractérise par l'absence quasi totale de recouvrement entre l'orbitale HO et BV, ce qui est cohérent avec les composés à transfert de charge de structure similaire publiés dans la littérature³².

1.2.3) Interaction avec l'atrazine

Les calculs théoriques nous ont aussi permis d'évaluer la constante d'association entre les sondes et l'atrazine en utilisant la base 6-31G++(d,p) et en optimisant au préalable la géométrie du pesticide. Nous supposons que l'interaction entre les deux molécules se fait *via* un système de trois liaisons hydrogène. Nous avons voulu comparer l'influence d'un cycle à cinq ou à six chaînons sur cette interaction.

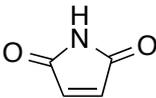
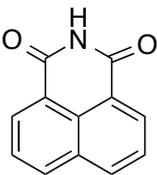
➤ Propriétés de la liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une interaction attractive unidirectionnelle entre un atome d'hydrogène lié de façon covalente à un atome donneur fortement électronégatif tels que l'azote (électronégativité : $\chi = 3$) ou l'oxygène ($\chi = 3,5$) et un atome accepteur similaire faisant partie ou non de la même molécule que celle du donneur. La longueur de la liaison hydrogène est définie comme la distance entre les centres de ces deux atomes. Plus la liaison hydrogène est courte, plus elle est forte. Le tableau ci-dessous indique l'énergie de liaison en fonction de la force de l'interaction³³.

Tableau 2- 1 : Propriétés et caractéristiques de la liaison hydrogène.

Force de la liaison	Faible	Forte	Très forte
- Energie (kJ/mol)	<17	17 - 62	62 - 167
Distance H---X (Å)	2-3	1,5-2,2	1,2-1,5
Plus courte que la somme des rayons de van der Waals	30-80 %	≈ 100 %	100 %

Tableau 2- 2 : Longueurs des liaisons hydrogène impliquées dans l'interaction avec les sondes fluorescentes synthétisées.

Longueur (en Å)	Unité maléimide	Unité naphthalimide ^a
		
NH _{isopropylamine} - O _{sonde}	2,14	1,92
NH _{éthylamine} - O _{sonde}	2,12	1,92
N _{atrazine} - NH _{sonde}	1,73	1,89

^a Longueur de liaison moyenne

Si nous considérons l'exemple de la sonde MaleOMe, les deux atomes d'hydrogène des deux groupements éthylamine et isopropylamine de l'atrazine se placent en face des deux atomes d'oxygène de l'imide pour une longueur de liaison moyenne N-H_{atrazine}-----O_{sonde} de 2,13 Å (voir tableau 2-2). De plus, l'hydrogène de cet imide semble bien interagir avec l'azote du cycle de l'atrazine car on trouve pour la liaison N_{atrazine}-----HN_{sonde} une distance de 1,73 Å. La distance entre l'atome d'hydrogène des amines de l'atrazine et l'atome d'oxygène de la sonde MaleOMe est plus petite que ne le permet la somme des rayons de van der Waals ce qui prouve l'existence de l'interaction. En effet, la somme des rayons de van der Waals des atomes d'hydrogène et d'oxygène est de 2,6 Å tandis que celle des atomes d'hydrogène et d'azote est de 2,74 Å. Nous retrouvons des longueurs de liaisons plus courtes pour les sondes naphthalimides. Le motif naphthalimide à six chaînons permet de rapprocher les atomes d'oxygène des groupements amines de l'atrazine.

➤ Energie de l'interaction

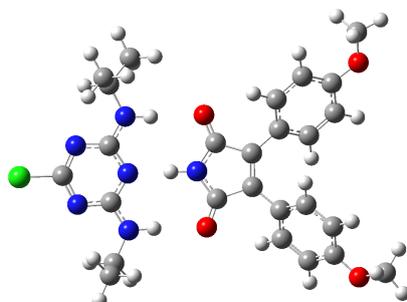


Figure 2- 28 : Interaction entre la sonde MaleOMe et l'atrazine

Ces résultats confirment notre hypothèse. En effet, la sonde fluorescente et l'atrazine se mettent préférentiellement dans le même plan de manière à présenter leurs groupements accepteurs et donateurs de liaisons hydrogène l'un en face de l'autre. Nous constatons une stabilisation de l'énergie dans cette configuration autour de 80 kJ/mol pour les sondes naphthalimides. L'interaction se révèle un peu plus faible pour la sonde MaleOMe avec $-E = 75,61$ kJ/mol.

Tableau 2- 3 : Energies d'interaction avec l'atrazine et les diverses sondes MaleOMe, Naphth-NHBu, Naphth-AlcyneOMe.

	MaleOMe	Naphth- AlcyneOMe	Naphth- NHBu
- Energie de l'interaction avec l'atrazine (en kJ/mol)	75,61	82,16	83,75

Nous avons aussi voulu estimer les associations avec les deux produits de dégradation de l'atrazine : la déséthyl-atrazine (DEAT) et la déisopropyl-atrazine (DIAT) (voir tableau 2-4). Nous avons pris la sonde maléimide MaleOMe comme référence. Ces deux molécules ont des constantes d'associations légèrement plus favorables qu'avec l'atrazine. Cette différence est sûrement due à la modification de la structure électronique suite à la désalkylation et à la présence d'un groupement $-NH_2$ libre qui augmente les possibilités d'interaction par liaisons hydrogène.

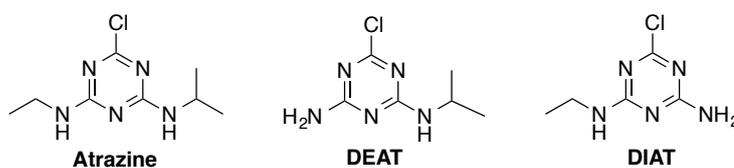


Figure 2- 29 : Structures de l'atrazine, de DEAT et de DIAT.

Entre 17 et 62 kJ/mol, une liaison hydrogène est considérée comme forte. Par conséquent, nous pouvons en conclure que l'interaction par trois liaisons hydrogène entre les diverses sondes et l'atrazine (et ses produits de dégradation) est relativement forte.

Tableau 2- 4 : Energies de l'interaction entre la sonde MaleOMe et l'atrazine ou ses produits de dégradation.

Base 6,31G++d,p Fonctionnelle WB97XD	Sonde MaleOMe + Atrazine	Sonde MaleOMe + DEAT	Sonde MaleOMe + DIAT
- E (kJ/mol)	75,61	76,57	76,72

Nous avons donc synthétisé un dérivé du maléimide, trois dérivés du naphthalimide et deux dérivés d'acide barbiturique. Les rendements des différentes synthèses sont satisfaisants, même si la synthèse de MaleOMe présente quelques difficultés. De plus, les synthèses des sondes naphthalimides et des dérivés d'acide barbiturique sont modulables et il est relativement aisé de changer le groupement électrodonneur. Nous avons également réalisé des calculs DFT qui ont confirmé le transfert de charge de ces molécules et mis en évidence l'interaction par liaisons hydrogène avec l'atrazine.

II) Propriétés photophysiques des sondes fluorescentes et étude de l'interaction avec les analytes par fluorescence

2.1) Etudes photophysiques des sondes

Après avoir étudié les orbitales moléculaires des sondes fluorescentes et leur interaction avec les analytes, nous nous intéressons à leurs propriétés de fluorescence.

2.1.1) Propriétés photophysiques des sondes MaleOMe, Naphth-NHBU et Naphth-AlcyneOMe

➤ Propriétés photophysiques en solution

Les propriétés photophysiques des sondes MaleOMe, Naphth-NHBU, Naphth-TriazoleOMe et Naphth-AlcyneOMe synthétisées sont rassemblées dans le tableau 2-5 ci-dessous et ont été déterminées dans le chloroforme.

Tableau 2-5 : Propriétés photophysiques des sondes dans le chloroforme : longueur d'onde d'absorption maximale λ_{abs} , coefficient d'extinction molaire ϵ , longueur d'onde d'émission maximale λ_{em} , rendement quantique de fluorescence Φ .

	$\lambda_{\text{abs max}}$ (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	$\lambda_{\text{em max}}$ (nm)	Φ
MaleOMe	400	8,1E+03	569	0,45 ^a
Naphth-NHBU	431	1,3E+04	500	0,57 ^b
Naphth-AlcyneOMe	402	1,4E+04	494	0,90 ^c
Naphth-TriazoleOMe	343	8,9E+03	557	0,034 ^b

^a réf Coumarine 6 dans l'acétonitrile ; ^b réf sulfate de quinine dans l'acide sulfurique ; ^c réf Coumarine 153 dans l'éthanol

Les propriétés photophysiques mesurées de la sonde MaleOMe sont en accord avec celles publiées dans la littérature³⁴. Elle absorbe dans le chloroforme à 400 nm et émet à 569 nm, ce qui donne un déplacement de Stokes important de 169 nm (voir figure 2-31). La molécule possède ainsi une fluorescence jaune caractérisée par un rendement quantique $\Phi = 45\%$. Le coefficient d'extinction molaire de la sonde MaleOMe est plus faible que ceux mesurés pour les sondes naphthalimides, ce qui est en accord avec la littérature^{35,36}. Les fluorophores naphthalimides possèdent en effet pour leur bande d'absorption maximale des coefficients d'extinction molaire de l'ordre de 10 000 L.mol⁻¹.cm⁻¹ tandis que ceux des dérivés

de maléimide substitués par deux groupements aryles avoisinent généralement $6000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

La fluorescence des sondes naphthalimides portant des amines dialkylées à la position 4 dépend fortement de la nature de l'amine et de la polarité du milieu, comme l'attestent les travaux de Anunay Samanta en 2002³⁷. Leurs structures sont présentées ci-dessous (figure 2-30). Dans le THF, les rendements quantiques sont élevés et varient entre 15 % et 86 %. Le naphthalimide HNP est ainsi très fluorescent comme Naphth-NHBu. En revanche, ENP est peu fluorescent.

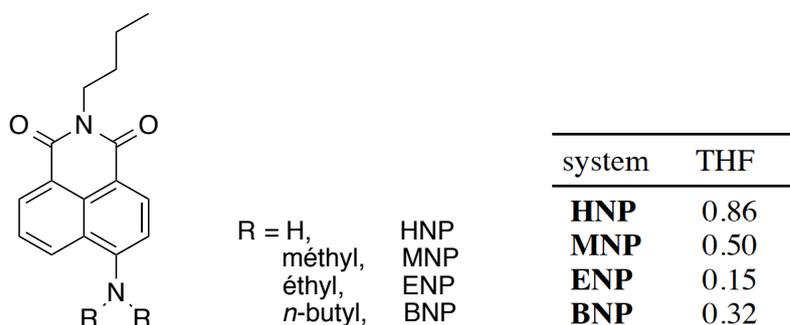


Figure 2- 30 : Structure des 4-amino-1,8-naphthalimides synthétisés par Anunay Samanta et rendements quantiques des aminonaphthalimides à température ambiante. Figure adaptée de la référence 37.

Les sondes naphthalimides synthétisées au cours de cette thèse absorbent entre 343 nm et 430 nm et émettent de la fluorescence entre 490 nm et 540 nm, ce qui leur confère une fluorescence entre le vert et le jaune.

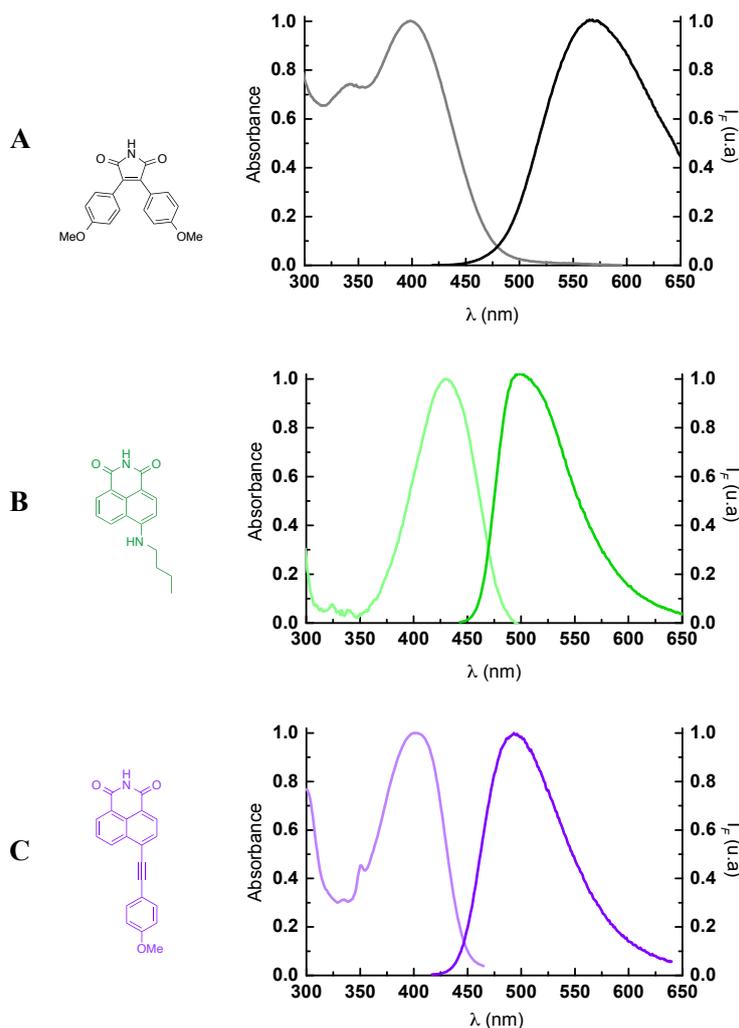


Figure 2- 31 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence normalisés A) de la sonde MaleOMe ($\lambda_{exc} = 400$ nm), B) de la sonde Naphth-NHBu ($\lambda_{exc} = 430$ nm) et C) de la sonde Naphth-AlcyneOMe ($\lambda_{exc} = 402$ nm) dans le chloroforme.

Le groupement amine de Naphth-NHBu est responsable du décalage de l'absorption vers le rouge car il favorise le transfert de charge. Les sondes Naphth-NHBu et Naphth-AlcyneOMe sont caractérisées par de très bons rendements quantiques dans le chloroforme, respectivement 57 % et 90 %. Le naphthalimide synthétisé par Bag et fonctionnalisé par un groupement phénylacétylène se caractérise quant à lui par un rendement plus faible de 14 % dans le chloroforme⁸. Ce dernier porte un groupement diméthylamine et absorbe à 467 nm. En comparaison, l'absorption de Naphth-AlcyneOMe est décalée vers le bleu car le groupement méthoxy est moins riche en électrons que le groupement diméthylamine.

➤ TD-DFT

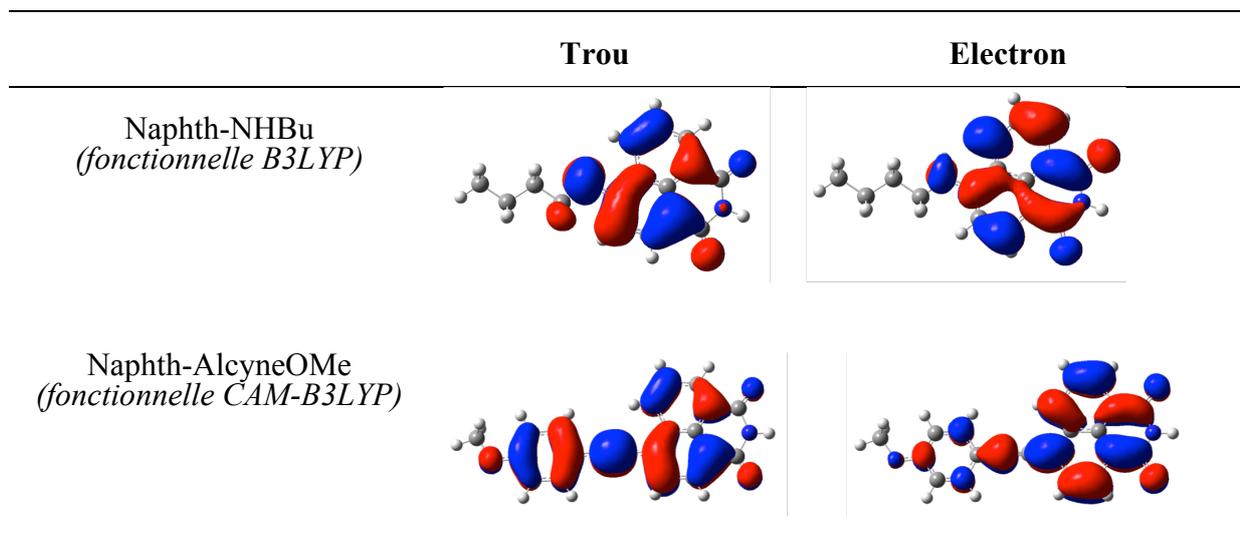
Des calculs de TD-DFT ont été effectués avec les 4 fonctionnelles B3LYP, CAM-B3LYP, ω B97XD et PBE0 afin de modéliser les spectres d'absorption de Naphth-NHBu et Naphth-AlcyneOMe. La position de la première transition électronique verticale est comparée avec le maximum de la bande d'absorption du spectre expérimental. Pour Naphth-NHBu, les résultats obtenus avec B3LYP et dans une moindre mesure avec PBE0 sont en accord avec le spectre d'absorption expérimental. Les fonctionnelles CAM-B3LYP et ω B97XD aboutissent quant à elles à une transition trop haute en énergie.

En revanche, pour Naphth-AlcyneOMe, CAM-B3LYP donne un résultat plus proche puis vient ensuite la fonctionnelle ω B97XD (voir tableau 2-6). B3LYP et PBE0 prédisent une transition d'énergie plus faible qui n'est pas observée expérimentalement.

Pour Naphth-AlcyneOMe, plusieurs orbitales sont mobilisées lors de la transition électronique. C'est pourquoi nous faisons appel aux orbitales de transition naturelles naturelles³⁸ (NTO en anglais pour *Natural transition orbitals*) en prenant la fonctionnelle la plus adaptée pour Naphth-AlcyneOMe. L'utilisation de ces orbitales permet en effet de trouver le trou et l'électron (qui sont associés à des orbitales moléculaires) entre lesquels la transition va s'effectuer et de faciliter ainsi la caractérisation des transitions électroniques verticales calculées par TD-DFT. Elles ont permis de mettre en évidence un fort transfert de charge photoinduit pour Naphth-AlcyneOMe. Pour Naphth-NHBu, les orbitales impliquées étant la HO et la BV, il n'est pas nécessaire de calculer les orbitales de transition.

Tableau 2- 6 : Propriétés calculées par TD-DFT de la première transition électronique de Naphth-NHBu et Naphth-AlcyneOMe.

Sonde	Fonctionnelle	$\lambda(S_1 \leftarrow S_0)$ (nm) (f)	Orbitales impliquées
Naphth-NHBu	B3LYP	403 (0,21)	HOMO - LUMO
	PBE0	387 (0,23)	HOMO - LUMO
	CAM-B3LYP	352 (0,32)	HOMO - LUMO
	ω B97XD	350 (0,32)	HOMO - LUMO
	Exp. (CHCl ₃)	431	
Naphth-AlcyneOMe	B3LYP	439 (0,65)	HOMO - LUMO
	PBE0	421 (0,71)	HOMO - LUMO
	CAM-B3LYP	360 (0,87)	HOMO - LUMO
	ω B97XD	353 (0,88)	HOMO-1 - LUMO HOMO - LUMO
	Exp. (CHCl ₃)	402	HOMO-1 - LUMO

Tableau 2- 7 : Densité électronique du trou et de l'électron calculées en phase gaz pour Naphth-NHBu et Naphth-AlcyneOMe.

➤ Déclin de fluorescence

Les caractéristiques de l'émission de fluorescence dans le chloroforme des sondes MaleOMe, Naphth-NHBu et Naphth-AlcyneOMe sont rassemblées dans le tableau 2-8 ci-dessous. Ces trois sondes fluorescentes possèdent chacune un déclin de fluorescence monoexponentiel.

Tableau 2- 8 : Caractéristiques de l'émission de fluorescence dans le chloroforme : durée de vie de fluorescence τ , constante de vitesse radiative k_r , constante de vitesse non radiative k_{nr} .

	τ (ns)	k_r (10^7 s^{-1})	k_{nr} (10^7 s^{-1})	χ^2
MaleOMe ^a	11	4,1	5,0	1,17
Naphth-NHBu ^b	9,71	5,9	4,4	1,07
Naphth-AlcyneOMe ^a	3,29	27,3	3,0	1,07

^a $\lambda_{\text{exc}} = 367 \text{ nm}$; ^b $\lambda_{\text{exc}} = 450 \text{ nm}$

La sonde MaleOMe possède un temps de vie τ de 11 ns (voir figure 2-32), ce qui est très proche des durées de vie d'autres maléimides disubstitués par des groupements aryles calculées dans le 1,4-dioxane³⁹. Pour les autres maléimides, une deuxième composante a été

obtenue dans des solvants plus polaires tels que le DMSO et le DMF et a été attribuée à la formation d'un complexe avec le solvant.

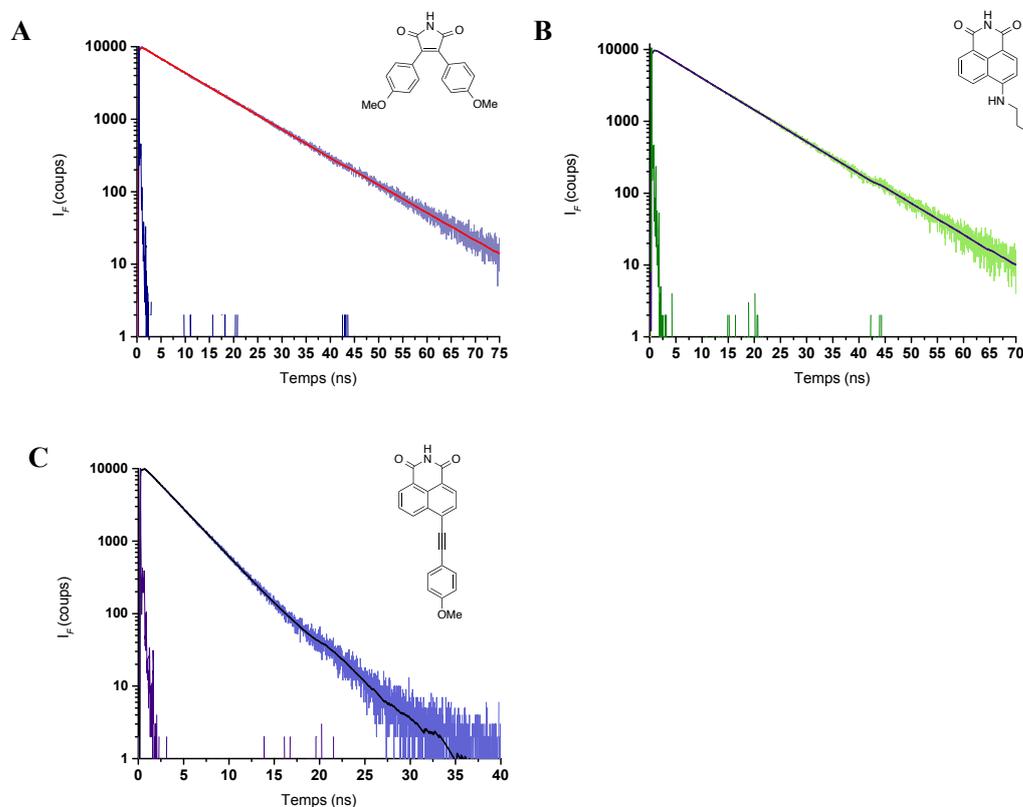


Figure 2- 32 : Déclins de fluorescence A) de la sonde MaleOMe ($\lambda_{exc} = 367$ nm), B) de la sonde Naphth-NHBu ($\lambda_{exc} = 450$ nm) et C) de la sonde Naphth-AlcyneOMe ($\lambda_{exc} = 367$ nm) dans le chloroforme.

La fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe est caractérisée par un temps de vie τ de 3,29 ns. La durée de vie de la sonde Naphth-NHBu est plus longue et atteint 9,71 ns, ce qui est du même ordre de grandeur que celle de la molécule de 4-*n*-butylamino-9-*n*-1,8-naphthalimide de structure similaire⁴⁰. Pour la sonde Naphth-AlcyneOMe fortement fluorescente, la constante de vitesse radiative est du même ordre de grandeur que celle obtenue pour un naphthalimide de structure similaire décrit dans la littérature⁸.

➤ Propriétés photophysiques à l'état solide

Certaines sondes se sont révélées fluorescentes à l'état solide telles que MaleOMe et Naphth-AlcyneOMe qui émettent respectivement à 592 nm et 571 nm (voir tableau 2-9).

Tableau 2- 9 : Longueurs d'ondes d'émission λ_{em} en solution dans le chloroforme et à l'état solide et rendement quantique Φ associé pour les sondes MaleOMe et Naphth-AlcyneOMe.

	Solution		Poudre	
	λ_{em} max (nm)	Φ	λ_{em} max (nm)	Φ
MaleOMe	569	0,45	592	0,15
Naphth-AlcyneOMe	494	0,90	571	0,17

Un écart positif de 23 nm est observé pour la sonde MaleOMe entre la bande d'émission de fluorescence sous forme de poudre et celle en solution dans le chloroforme. Cet écart est beaucoup plus grand (+ 77 nm) pour la sonde Naphth-AlcyneOMe. Comme ces sondes sont solvatochromes, ce décalage vers le rouge pourrait être dû à un changement de polarité en raison d'un environnement différent à l'état condensé. Il pourrait s'agir également d'interactions intermoléculaires⁴¹ telles que des interactions π - π . Ces interactions sont favorisées lorsque les molécules sont planes⁴², ce qui est cohérent avec le fait que l'émission est moins décalée à l'état solide pour la molécule de MaleOMe.

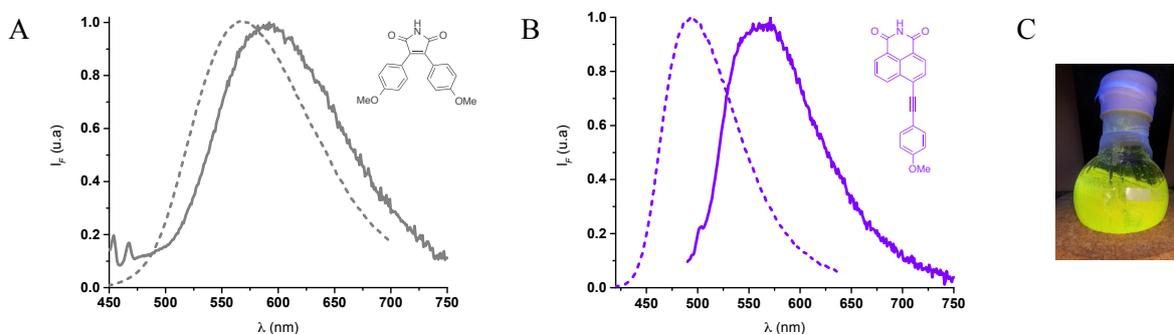


Figure 2- 33 : Spectres d'émission de fluorescence en solution dans le chloroforme (en pointillé) et à l'état solide (en ligne continue) A) de la sonde MaleOMe ($\lambda_{exc} = 440$ nm), B) de la sonde Naphth-AlcyneOMe ($\lambda_{exc} = 470$ nm), C) photographie de la sonde Naphth-AlcyneOMe à l'état solide ($\lambda_{exc} = 365$ nm).

Les sondes MaleOMe et Naphth-AlcyneOMe présentent des rendements quantiques à l'état solide plus faibles qu'en solution. En effet, le rendement quantique à l'état solide atteint 17 % pour la sonde Naphth-AlcyneOMe tandis que celui de la sonde MaleOMe est de 15 %. Ils sont malgré tout satisfaisants et relativement élevés comparés aux autres fluorophores reportés dans la littérature. Des rendements quantiques compris entre 10 % et 12,7 % ont notamment été attribués à des dérivés de 1,8-naphthalimides pour lesquels le phénomène

d'AIEE a été démontré⁴¹. Concernant ces derniers, un écart d'environ + 35 nm a été reporté entre la longueur d'onde d'émission à l'état solide et celle en solution dans le THF.

Les molécules MaleOMe et Naphth-AlcyneOMe n'étant pas planes (voir **1.2 Modélisation moléculaire des sondes**), il est possible qu'elles aient moins de liberté de rotation à l'état solide ce qui les rend assez fluorescentes. L'obtention de leur structure cristalline permettrait de mieux comprendre la photophysique de ces sondes à l'état solide.

➤ Solvatochromisme

Le solvatochromisme des sondes MaleOMe, Naphth-AlcyneOMe et Naphth-NHBu a été étudié pour évaluer l'influence de la polarité du solvant sur la fluorescence. Une sonde solvatochrome devrait présenter un fort transfert de charge lors de l'excitation. Les longueurs d'absorption et d'émission de fluorescence mesurées pour la sonde MaleOMe dans les différents solvants sont indiquées dans le tableau **2-10** ci-dessous.

Tableau 2- 10 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacement de Stokes $\Delta\nu$ pour la sonde MaleOMe.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Méthylcyclohexane	389	518	6402
Toluène	400	539	6447
1,4-Dioxane	394	541	6896
Butyronitrile	393	555	7427
<i>N,N</i> -Diméthylformamide	393	556	7460
Acétonitrile	389	561	7882
Dichloroéthane	402	564	7145
Dichlorométhane	400	567	7363
Diméthylsulfoxyde	395	569	7742
Chloroforme	400	569	7425

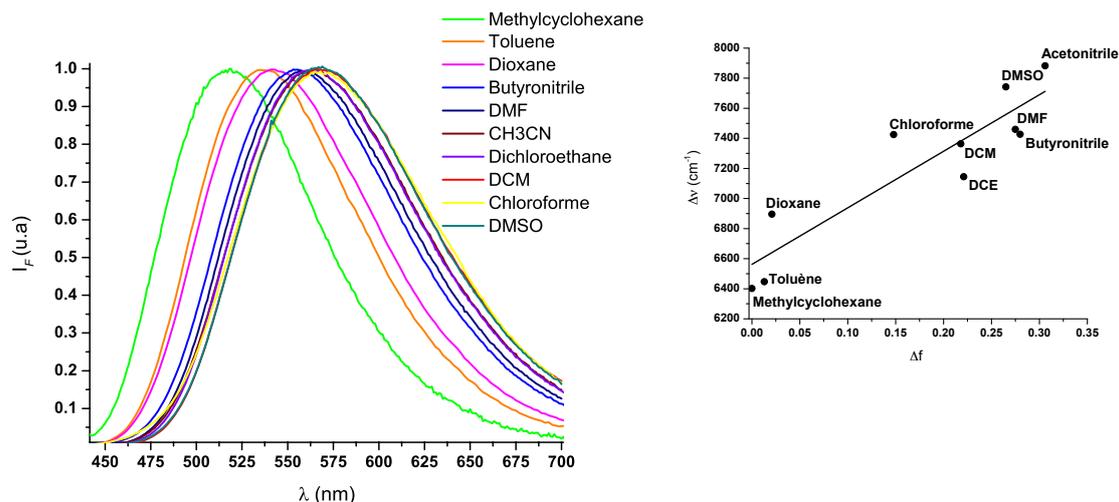


Figure 2-34 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe et diagramme de Lippert-Mataga dans les différents solvants.

La sonde émet une fluorescence décalée vers le bleu pour les solvants apolaires. Un déplacement bathochrome de 51 nm est observé en passant du cyclohexane au DMSO. La pente $\Delta\mu/a^3$ de l'équation de Lippert-Mataga informe sur l'exaltation du moment dipolaire à l'état excité. Il est alors possible de caractériser le transfert de charge intramoléculaire se produisant pendant l'excitation ; la taille et la forme des chromophores étudiés sont alors considérées comme similaires ($a = \text{constante}$). De plus, il a été démontré que la force des groupements donneurs d'électrons influait de manière significative sur la polarité de l'état excité^{43,44}. La corrélation entre les données expérimentales et le modèle de Lippert-Mataga pour MaleOMe est assez satisfaisante

Pour MaleOMe, la pente obtenue pour le diagramme de Lippert-Mataga est égale à $3,76 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ ce qui est faible comparée aux pentes de $20 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ pour les sondes à transfert de charge publiées dans la littérature⁴³ ; toutefois ceci demeure cohérent avec la pente de $6,6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ pour un maléimide alkylé de structure similaire³⁹. Nous pouvons noter que les déplacements de Stokes sont très grands quel que soit le solvant. Cela indique que la stabilisation de l'état excité est grande.

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et d'émission dans les différents solvants pour la sonde Naphth-AlcyneOMe sont reportées dans le tableau 2-11 ci-dessous. Plus le solvant est polaire, plus la bande d'émission de fluorescence est décalée vers le rouge. Il y a ainsi une bonne corrélation avec le modèle de Lippert-Mataga. Ce fluorophore à transfert de charge est donc sensible à la polarité de son environnement. Nous pouvons noter

une différence de 111 nm entre la longueur d'onde d'émission dans le toluène et celle dans le méthanol.

Tableau 2- 11 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacement de Stokes $\Delta\nu$ pour la sonde Naphth-AlcyneOMe.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Toluène	408	457	2628
1,4-Dioxane	402	459	3089
Chloroforme	402	494	4633
Dichlorométhane	400	504	5159
Acétonitrile	392	536	6853
Diméthylsulfoxyde	399	552	6947
Ethanol	396	554	7202
Méthanol	394	568	7775

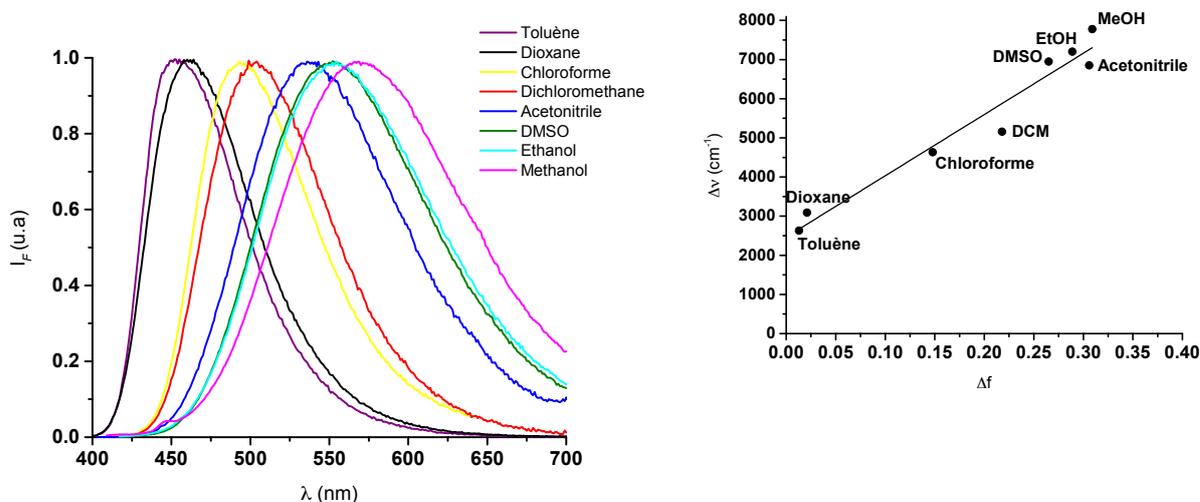


Figure 2- 35 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe et diagramme de Lippert-Mataga dans les différents solvants.

La pente obtenue pour la sonde Naphth-AlcyneOMe pour le diagramme de Lippert-Mataga est égale à $15,6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ ce qui est relativement élevé comparé à d'autres naphthalimides fonctionnalisés par un groupement alcyne⁴⁵, pour lesquels les valeurs de pente s'échelonnent entre $5,11 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ et $17,4 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$. Ceci indique que l'état excité de Naphth-AlcyneOMe est fortement polaire et prouve l'existence d'un état de transfert de charge intramoléculaire.

La pente de $17,4 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ pour le dérivé de naphthalimide comprenant un lien alcyne publié dans la littérature est plus élevée que celle obtenue pour la sonde Naphth-AlcyneOMe car le groupement diméthylamine présent sur la molécule est beaucoup plus électrodonneur que le groupement méthoxy ; il induit ainsi des déplacements solvatochromes plus importants. De plus, la plus faible pente pourrait être due à la formation de liaisons hydrogène intermoléculaires. L'azote de l'imide est alkylé pour le naphthalimide auquel nous faisons référence, ce qui limite sa capacité à former des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Le solvatochromisme de la sonde Naphth-NBu a également été étudié. Les longueurs d'onde maximales d'absorption et d'émission dans les différents solvants pour cette sonde sont indiquées dans le tableau 2-12 ci-dessous. Un décalage de 53 nm est observé entre la longueur d'onde d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-NHBu dans l'éthanol ($\lambda_{em} = 537 \text{ nm}$) et celle dans le toluène ($\lambda_{em} = 484 \text{ nm}$).

Tableau 2- 12 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacements de Stokes $\Delta\nu$ pour la sonde Naphth-NHBu.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Toluène	419	484	3205
Tétrahydrofurane	426	499	3434
Chloroforme	431	500	2877
1,4-dioxane	420	501	3849
Dichloroéthane	416	499	3998
Dichlorométhane	425	505	3727
Butyronitrile	430	517	3913
Acétonitrile	431	529	4298
Ethanol	441	537	4054

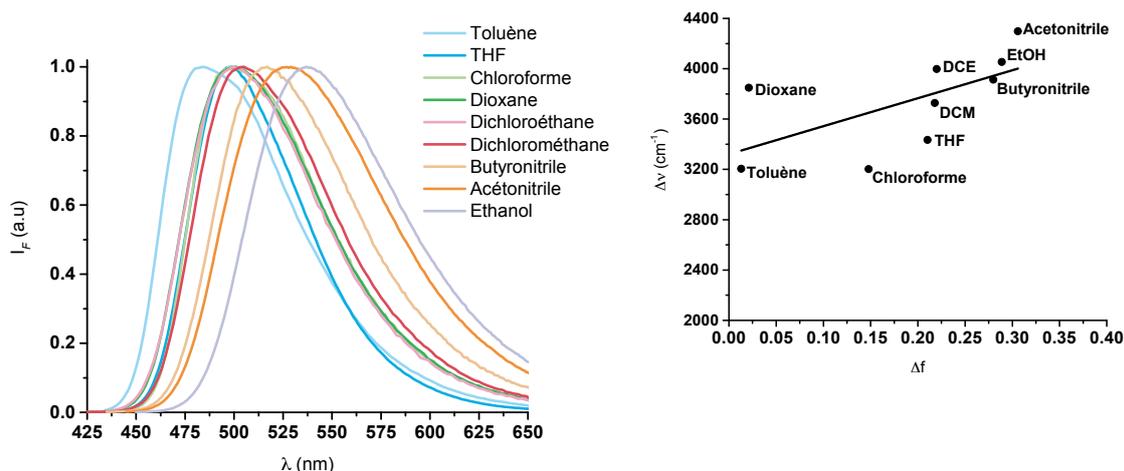


Figure 2- 36 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-NHBu et diagramme de Lippert-Mataga dans les différents solvants.

La corrélation est relativement correcte avec le modèle de Lippert-Mataga. La pente obtenue pour la sonde Naphth-NHBu est de $2,22 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, ce qui est beaucoup plus faible que celle de Naphth-AlcyneOMe. Toutefois, cette valeur est en accord avec les fluorophores aminonaphthalimides **69** et **70** fonctionnalisés en position 4 par des allylamines⁴⁶ pour lesquels la pente est comprise entre $1,6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ et $3,8 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$. La figure 2-37 présente leur structure.

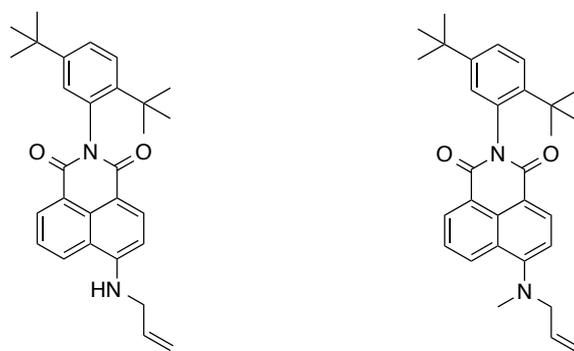


Figure 2- 37 : Structure des aminonaphthalimides solvatochromes 69 et 70.

2.1.2) Propriétés photophysiques de la sonde Naphth-TriazoleOMe

Le groupement triazole s'est montré très prometteur pour construire des composés à transfert de charge⁴⁷. Une étude a été réalisée sur des composés 1,2,3-triazoles comportant un groupement donneur diméthylamine et un groupement accepteur dicyanovinyle⁴⁸. Le transfert de charge entre ces deux groupements est plus ou moins important en fonction de leurs positions sur le cycle triazole. Les spectres d'absorption des composés 1,2,3-triazoles dans le dichlorométhane montrent effectivement des intensités différentes pour la bande de transfert

de charge avec un maximum s'échelonnant de 400 nm pour le composé **71** à 453 nm pour le composé **74**, soit un déplacement de 53 nm vers le rouge.

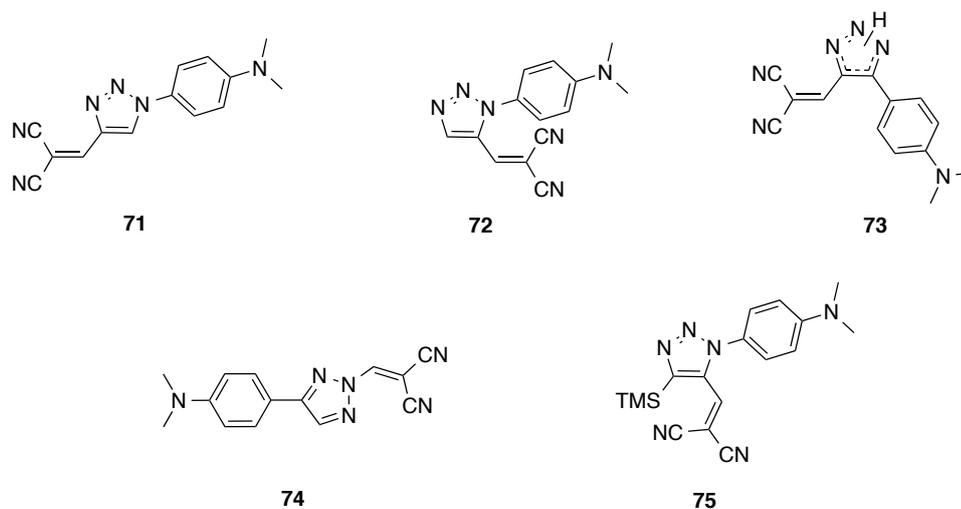


Figure 2- 38 : Structure des 1,2,3-triazoles substitués par des groupements donneur et accepteur.

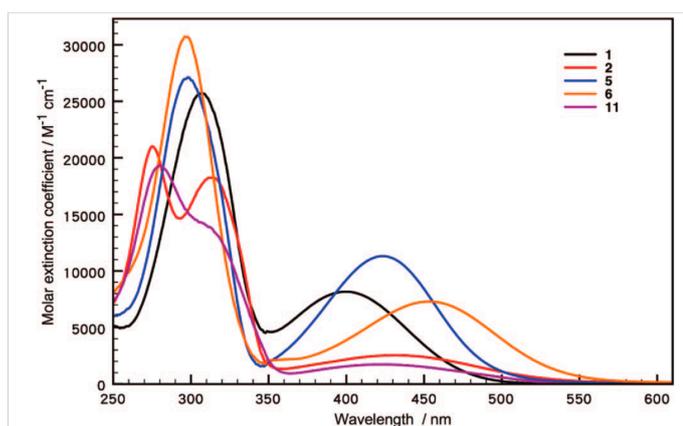


Figure 2- 39 : Spectres d'absorption des 1,2,3-triazoles (1,2,5,6,11) substitués par des groupements donneur et accepteur dans le dichlorométhane ($c = 5,0 \times 10^{-5}$ M). Figure issue de la référence 48.

De même, le transfert de charge intramoléculaire a été étudié sur des dérivés de fluorène conjugués avec un cycle phényle *via* un pont triazole⁴⁹. Leurs rendements quantiques sont faibles (entre 0,2 % et 2,0 %). La structure moléculaire influence grandement le transfert de charge depuis le cycle fluorène : l'émission de fluorescence provient soit de l'état localement excité LE soit de l'état de transfert de charge intramoléculaire relaxé (ICT). Le cycle phényle non substitué émet depuis l'état ICT, ceux fonctionnalisés par un groupement donneur d'électrons méthyle $-CH_3$ ou méthoxy $-OCH_3$ émettent depuis les deux états alors que celui contenant un groupement nitro $-NO_2$ accepteur d'électrons est caractérisé par une émission depuis l'état LE.

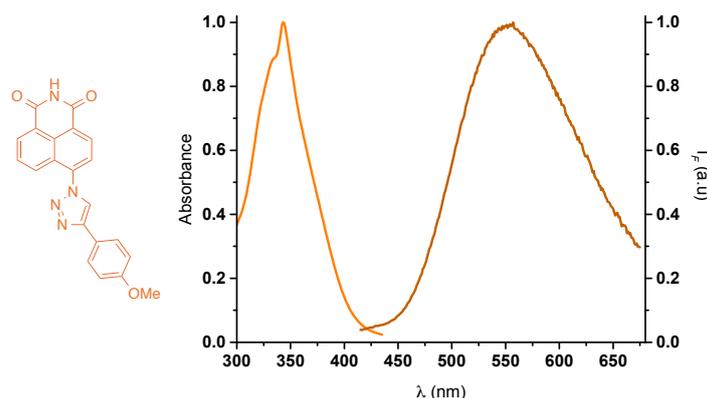


Figure 2- 40 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence dans le chloroforme de la sonde Naphth-TriazoleOMe ($\lambda_{exc} = 343$ nm).

Concernant la sonde Naphth-TriazoleOMe, celle-ci absorbe à 343 nm et émet à 557 nm dans le chloroforme. L'absorption est décalée vers le bleu par rapport aux autres sondes naphthalimides, ce qui indique un transfert de charge moins important comparé à Naphth-AlcyneOMe. La valeur élevée du déplacement de Stokes de 214 nm dans le chloroforme indique que l'exaltation du moment dipolaire à l'état excité est grande.

Naphth-TriazoleOMe est très peu fluorescente dans le chloroforme ($\Phi = 0,034$) et sa photophysique est relativement complexe. D'autres sondes naphthalimides comportant un pont triazole se sont également révélées très peu fluorescentes dont celles publiées par Hans-Jürgen Hold⁵⁰ en 2013. Ces dernières se distinguent par une forte localisation des charges et par un recouvrement orbitalaire très faible entre les orbitales frontières, ce qui est généralement observé pour des systèmes terphényles présentant un fort caractère donneur-accepteur⁵¹. Le très faible rendement quantique de ce type de composé est dû au fait que la molécule adopte une géométrie « twistée » à l'état excité ce qui conduit à une voie de désexcitation non radiative.

La sonde Naphth-TriazoleOMe possède des caractéristiques similaires comme l'attestent les mesures expérimentales de rendement quantique et les calculs de modélisation moléculaire (à savoir une séparation marquée entre les orbitales HO et BV). Le passage à une géométrie « twistée » pourrait expliquer la faible fluorescence de notre sonde.

➤ TD-DFT

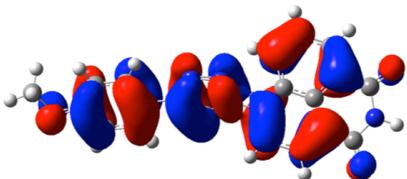
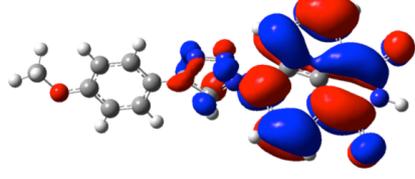
Des calculs de TD-DFT ont ensuite été réalisés pour modéliser l'absorption de Naphth-TriazoleOMe avec la méthodologie décrite précédemment. Pour Naphth-

TriazoleOMe, CAM-B3LYP et ω B97XD prédisent de manière plus précise la première transition électronique verticale. Les orbitales de transition naturelles démontrent un fort transfert de charge photoinduit pour ce fluorophore.

Tableau 2- 13 : Propriétés calculées par TD-DFT de la première transition électronique de Naphth-TriazoleOMe.

Sonde	Fonctionnelle	$\lambda(S_1 \leftarrow S_0)$ (nm) (f)	Orbitales impliquées
Naphth-TriazoleOMe	B3LYP	480 (0,089)	HOMO - LUMO
	PBE0	447 (0,11)	HOMO - LUMO
	CAM-B3LYP	326 (0,40)	HOMO - LUMO
	ω B97XD	316 (0,48)	HOMO - 1-LUMO HOMO - LUMO
	<i>Exp. (CHCl₃)</i>	343	HOMO-1 - LUMO

Tableau 2- 14 : Densité électronique de trou et de l'électron calculées en phase gaz pour Naphth-TriazoleOMe.

	Trou	Electron
Naphth-TriazoleOMe (fonctionnelle CAM-B3LYP)		

De plus, la TD-DFT permet d'établir que l'écart énergétique entre l'état singulet et l'état triplet est seulement de 0,26 eV (2090 cm⁻¹), ce qui est en accord avec les valeurs publiées dans la littérature⁵⁰. Ce faible écart favorise le croisement inter-système qui constitue alors une autre voie de désexcitation non-radiative permettant d'élucider le faible rendement quantique de Naphth-TriazoleOMe.

➤ Déclin de fluorescence

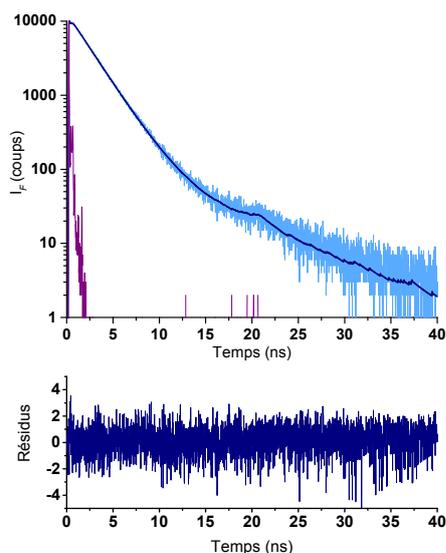


Figure 2- 41 : Déclins de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe ($\lambda_{exc} = 367$ nm) dans le chloroforme.

Par ailleurs, le déclin de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe dans le chloroforme est triexponentiel. Plusieurs composantes de temps entre 7 ps et 8,37 ns sont en effet nécessaires pour ajuster le déclin de fluorescence. Cela implique soit la présence de plusieurs espèces émissives, soit une seule espèce qui émet à partir d'états excités différents. La durée de vie moyenne τ est de 2,53 ns.

Tableau 2- 15 : Caractéristiques de l'émission de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe dans le chloroforme : durée de vie de fluorescence τ , poids relatif des durées de vie α , constante de vitesse radiative k_r , constante de vitesse non radiative k_{nr} .

	τ (ns)	α (%)	k_r (10^7 s $^{-1}$)	k_{nr} (10^7 s $^{-1}$)	χ^2
Naphth-TriazoleOMe ^a	0,007	51,8	1,35	38,3	1,14
	0,4	1,3			
	2,24	46,3			
	8,37	0,6			

^a $\lambda_{exc} = 367$ nm

Nous avons également mesuré le déclin de Naphth-TriazoleOMe dans un solvant apolaire, à savoir le toluène afin d'obtenir plus d'informations sur l'état excité. Trois

longueurs d'onde d'émission différentes (440 nm, 484 nm, 540 nm) ont été choisies et l'excitation a été effectuée à 369 nm (voir tableau 2-16).

Les composés à transfert de charge émettent généralement depuis l'état localement émissif LE ou depuis l'état de transfert de charge intramoléculaire ICT. Dans le bord bleu à 440 nm, l'état LE devrait être favorisé et devrait apporter ainsi une plus forte contribution à l'émission de fluorescence. Par conséquent, le poids α associé à la durée de vie de l'état LE devrait être plus grand. *A contrario*, l'émission depuis l'état ICT devrait être majoritairement observée en se déplaçant vers le rouge.

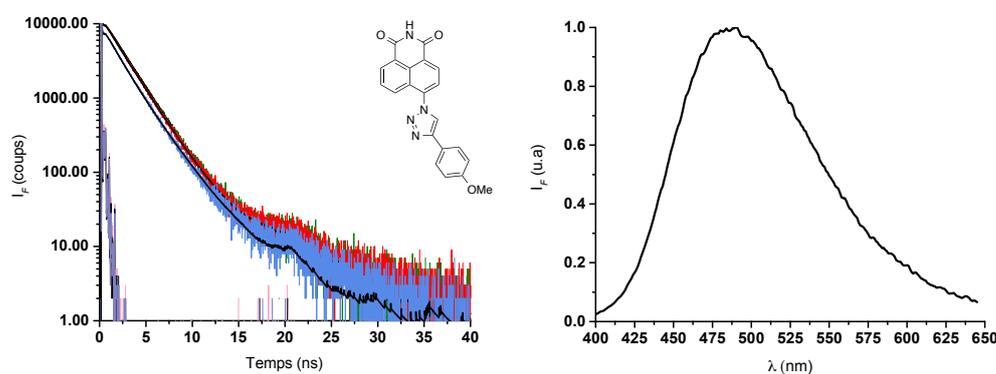


Figure 2- 42 : *A gauche* : Déclins de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe ($\lambda_{exc} = 369$ nm) dans le toluène à différentes longueurs d'onde d'émission : *en bleu* : 440 nm ; *en rouge* : 484 nm ; *en vert* : 540 nm, *à droite* : spectre d'émission de fluorescence de Naphth-TriazoleOMe dans le toluène.

A 440 nm, une composante de temps très courte à 6 ps est observée. Celle-ci résulte du phénomène de diffusion ; nous l'observons en raison de la faible fluorescence de Naphth-TriazoleOMe. Cette composante a donc été négligée par la suite. Trois autres composantes de temps de 0,53 ns ($\alpha = 17,7\%$), de 2,14 ns ($\alpha = 80,4\%$) et de 5,12 ns ($\alpha = 1,90\%$) ont en outre été mesurées.

A 484 nm au niveau du maximum de la bande d'émission, la composante de temps de 2,19 ns apporte une plus forte contribution (84,5 %). Une composante longue de 6,38 ns et une courte de 0,52 ns permettent de représenter la durée de vie de la sonde Naphth-TriazoleOMe. A 540 nm au niveau du bord rouge de la bande d'émission, nous retrouvons les mêmes composantes de temps qu'à 484 nm mais les poids relatifs diffèrent.

La composante entre 2,14 ns et 2,19 ns qui apporte la plus forte contribution est attribuée à l'émission depuis l'état ICT ce qui explique que sa contribution augmente quand la longueur d'onde d'émission se déplace vers le rouge. La durée de vie entre 0,52 ns et 0,53 ns est celle de l'état LE ; sa contribution est ainsi plus importante à 440 nm qu'à 540 nm. La longue composante de temps autour de 6 ns pourrait être associée à l'émission depuis l'état

triplet proche de l'état singulet, comme l'attestent les travaux existants sur les systèmes de type *push-pull* dotés d'un pont triazole⁵².

Tableau 2- 16 : Caractéristiques de l'émission de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe^a dans le toluène : durée de vie de fluorescence τ , poids relatif des durées de vie α .

λ_{em} (nm)	τ_1 (ns)	α (%)	τ_2 (ns)	α (%)	τ_3 (ns)	α (%)	τ_4 (ns)	α (%)	χ^2
440	0,006	68,4	0,53	5,6	2,14	25,4	5,12	0,6	1,07
	-	-		(17,7) ^b		(80,4) ^b		(1,90) ^b	
484	-	-	0,52	14,6	2,19	84,5	6,38	0,9	1,15
540	-	-	0,52	6,3	2,19	92,7	6,38	1,0	1,09

^a $\lambda_{exc} = 369$ nm ^b le phénomène de diffusion n'a pas été pris en compte

➤ Solvatochromisme

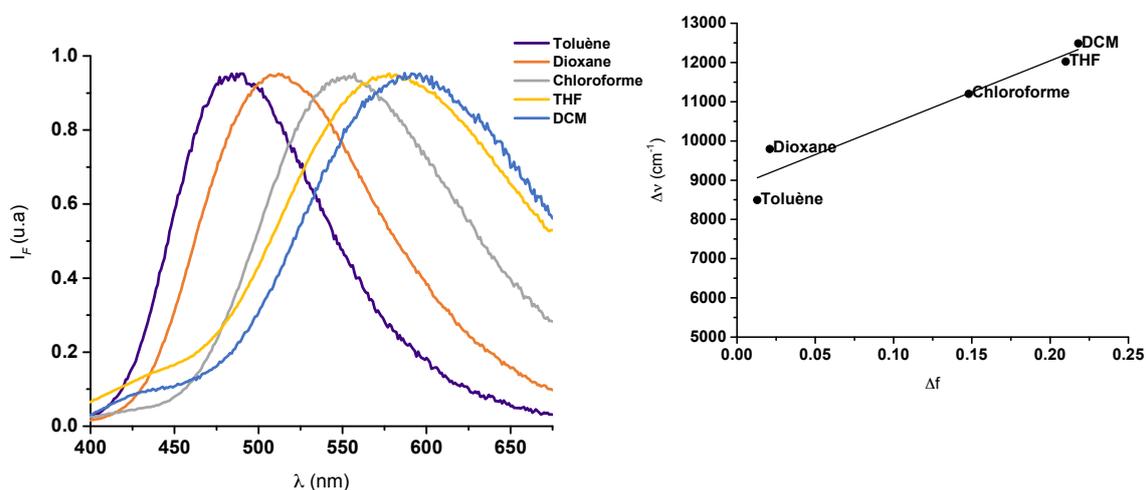
La longueur d'onde d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe varie entre 484 nm pour le toluène et 600 nm pour le dichlorométhane, soit un déplacement spectral de 101 nm (voir tableau 2-17). Cette sonde n'est pas fluorescente dans les solvants très polaires tels que le DMSO, l'éthanol et l'acétonitrile. Les déplacements de Stokes sont aussi remarquablement grands pour tous les solvants.

Cette extinction de fluorescence se produit dans les solvants polaires protiques tels que l'éthanol car des liaisons hydrogène se forment entre les molécules de fluorophores et celles de solvant⁵³. Un transfert de proton photoinduit entre le soluté et le solvant peut par exemple se produire en passant par un état excité dans lequel le réseau de liaisons hydrogène intermoléculaire est renforcé. Ce processus est d'autant plus rapide que la faculté du solvant à donner des liaisons hydrogène est grande. La solvation des molécules de fluorophores conduit également à des voies de désexcitation non radiative. Les spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe dans les différents solvants sont rassemblés ci-dessous ainsi que le diagramme de Lippert-Mataga associé.

Tableau 2- 17 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacement de Stokes $\Delta\nu$ pour la sonde Naphth-TriazoleOMe.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Toluène	343	484	8493
1,4-Dioxane	341	512	9794
Chloroforme	343	557	11201
Tétrahydrofurane	341	578	12024
Dichlorométhane	343	600	12488
Ethanol	341	-	-
Acétonitrile	341	-	-
<i>N,N</i> -Diméthylformamide	343	-	-
Diméthylsulfoxyde	344	-	-

La pente obtenue pour le diagramme de Lippert-Mataga est égale à $15,9 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$. Elle est ainsi très proche de celle de la sonde Naphth-AlcyneOMe, ce qui signifie que l'état excité est fortement stabilisé après réorganisation quel que soit le solvant. Le solvatochromisme de cette sonde est ainsi relativement important.

**Figure 2- 43 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe et diagramme de Lippert-Mataga dans les différents solvants.**

La figure 2-44 suivante rassemble toutes les mesures de solvatochromisme pour les sondes MaleOMe, Naphth-AlcyneOMe, Naphth-NHBU et Naphth-TriazoleOMe tandis que le tableau 2-18 ci-dessous réunit les valeurs de pente des régressions linéaires correspondantes.

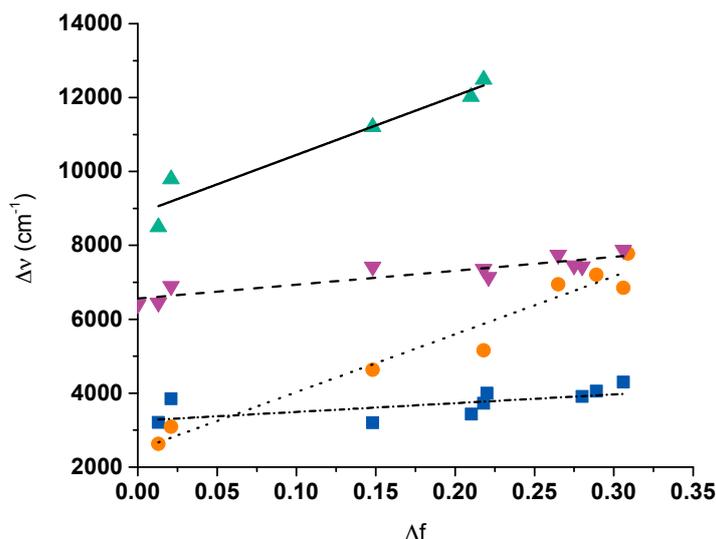


Figure 2- 44 : Pentas obtenues pour le diagramme de Lippert-Mataga pour les sondes MaleOMe (▼), Naphth-AlcyneOMe (●), Naphth-NHBu (■) et Naphth-TriazoleOMe (▲).

Tableau 2- 18 : Valeur de la pente a obtenue pour la relation linéaire entre les déplacements de Stokes et la polarisabilité pour les différentes sondes.

	MaleOMe	Naphth-NHBu	Naphth-AlcyneOMe	Naphth-TriazoleOMe
a (10^3 cm^{-1})	3,76	2,22	15,6	15,9

La sonde Naphth-AlcyneOMe se distingue ainsi par un solvatochromisme très important. Elle est par conséquent potentiellement plus sensible que les sondes MaleOMe et Naphth-NHBu à la formation de liaisons hydrogènes avec les divers analytes que nous souhaitons détecter.

2.1.3) Effet du pH sur la fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe

La formation de liaisons hydrogène avec l'imide d'une sonde naphthalimide consiste à la priver d'une partie de la densité électronique. Il est ainsi intéressant de voir l'effet de la déprotonation sur la fluorescence des sondes. Nous avons réalisé l'étude dans un mélange acétonitrile/eau (6/4) afin de pouvoir mesurer le pH et solubiliser la sonde et la base.

La sonde Naphth-AlcyneOMe a été placée à une concentration de 6,74 μM dans ce milieu. La sonde absorbe alors à 398 nm et émet à 590 nm. Nous avons ensuite ajouté une solution concentrée de soude de 0,11 M. Un déplacement hypsochrome de 10 nm de la bande d'absorption est observé tandis qu'une nouvelle bande fluorescente beaucoup plus intense à

546 nm apparaît, soit un déplacement de 44 nm vers le bleu. Ce dernier est dû au fait que l'état excité de l'espèce déprotonée est moins stabilisé, ce qui augmente l'énergie nécessaire au transfert de charge.

De plus, les travaux de Martí Rosés ont permis d'établir qu'il est possible de mesurer un pK_a dans des mélanges acétonitrile/eau⁵⁴. Ce dernier a ainsi été évalué à 10,7 pour la sonde Naphth-AlcyneOMe à l'aide du logiciel Specfit.

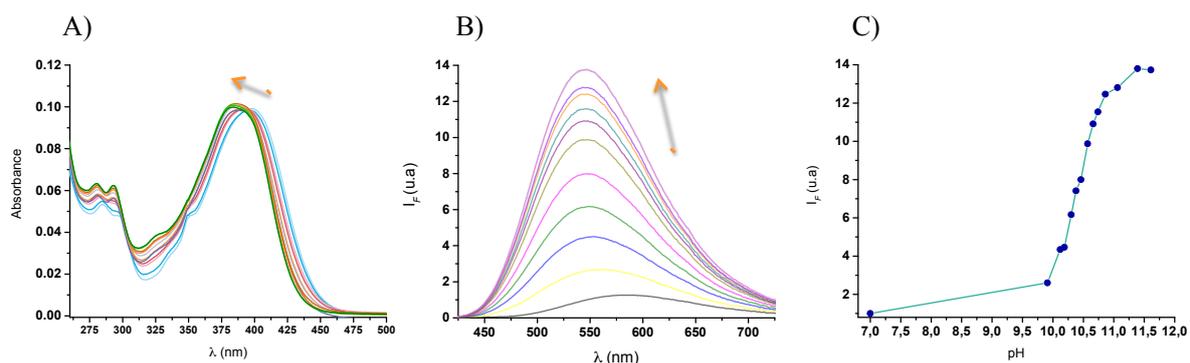


Figure 2- 45 : A) Spectres d'absorption de la sonde Naphth-AlcyneOMe en milieu basique dans CH_3CN/H_2O (6/4), $[Naphth-AlcyneOMe] = 6,74 \mu M$, B) Spectres d'émission de fluorescence non corrigés de la sonde Naphth-AlcyneOMe en milieu basique dans CH_3CN/H_2O (6/4), $[Naphth-AlcyneOMe] = 6,74 \mu M$, $\lambda_{exc} = 399 nm$, C) Evolution de l'intensité de fluorescence à 547 nm en fonction du pH (mesuré avec une sonde spécifique adaptée au milieu fortement basique).

La déprotonation influence grandement sur la photophysique de la sonde Naphth-AlcyneOMe. En effet, les déclin de fluorescence de l'espèce protonée et de l'espèce déprotonée ont ensuite été mesurés (voir le tableau 2-19 ci-dessous). Ils sont tous deux biexponentiels. La première composante de temps augmente après la déprotonation alors que la deuxième n'évolue pas. Les poids relatifs des deux durées de vie sont très différents pour les deux espèces.

Tableau 2- 19 : Comparaison des durées de vie de fluorescence τ de la sonde Naphth-AlcyneOMe sous forme protonée et déprotonée dans le mélange acétonitrile/eau : 60/40 avec α le poids relatif des composantes.

	τ (ns)	α (%)	χ^2
Naphth-AlcyneOMe	0,71	0,02	1,44
	0,15	0,98	
Naphth-AlcyneOMe + 600 eq NaOH	1,14	0,73	1,10
	0,15	0,27	

Nous avons ensuite réalisé la même expérience avec la sonde Naphth-TriazoleOMe. Celle-ci absorbe à 344 nm dans le milieu acétonitrile/eau (6/4) mais ne fluoresce presque plus. En déprotonant la sonde avec une solution de soude de 0,22 M, la fluorescence augmente alors très légèrement. Nous n'obtenons donc pas la même exaltation de la fluorescence à une longueur d'onde plus courte.

La déprotonation du groupement imide de la sonde Naphth-AlcyneOMe influe beaucoup sur la fluorescence, ce qui semble prometteur quant à sa capacité à détecter des analytes par liaisons hydrogène. En effet, la formation de liaisons hydrogène entre la sonde et l'analyte devrait de la même façon modifier la photophysique de la sonde.

De plus, certains fluorophores à transfert de charge ont montré des propriétés de fluorescence intéressantes en fonction du pH : ils émettent très intensément dans le cyan en milieu très basique⁵⁵. Quand le pH évolue entre 8 et 13, la fluorescence est exaltée d'un facteur 8 et est décalée vers le rouge d'environ 20 nm. Cette augmentation a été attribuée à la rupture de la liaison hydrogène intramoléculaire du fluorophore ce qui bloque le processus de transfert de proton intramoléculaire à l'état excité (en anglais *Excited State Intramolecular Proton Transfer* ou ESIPT) et renforce dans le même temps le transfert de charge intramoléculaire.

Les effets sur la fluorescence que nous avons obtenus avec la sonde Naphth-AlcyneOMe sont encore plus importants car l'exaltation de la fluorescence correspond à un facteur 13,5 et le décalage de l'émission vers le bleu est de 44 nm. Ainsi le comportement de la sonde Naphth-AlcyneOMe laisse-t-il présager une utilisation future en tant que sonde à pH en milieu fortement basique, d'autant plus que peu d'exemples de sonde de ce type sont reportés dans la littérature.

2.1.4) Propriétés photophysiques des sondes TPA-BARB et DMAP-BARB

➤ **Propriétés photophysiques en solution**

Les propriétés des sondes TPA-BARB et DMAP-BARB dans le chloroforme sont présentées dans le tableau **2-20** ci-dessous.

Tableau 2- 20 : Propriétés photophysiques des sondes dans le chloroforme : longueur d'onde d'absorption maximale λ_{abs} , coefficient d'extinction molaire ϵ , longueur d'onde d'émission maximale λ_{em} , rendement quantique de fluorescence Φ .

	$\lambda_{\text{abs max}}$ (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	$\lambda_{\text{em max}}$ (nm)	Φ
TPA-BARB	484	5,4E+04	677	0,007 ^a
DMAP-BARB	542	8,2E+04	605	0,091 ^a

^a réf violet de Crésyl dans le méthanol

Les sondes dérivées de l'acide barbiturique DMAP-BARB et TPA-BARB émettent respectivement à 605 nm et 677 nm, soit une émission de fluorescence dans le rouge. Le déplacement de Stokes dans le chloroforme de la sonde TPA-BARB est presque trois fois plus grand que celui de DMAP-BARB, à savoir 184 nm au lieu de 63 nm. La sonde TPA-BARB se révèle très peu fluorescente. L'extension de la conjugaison *via* une seconde double liaison pour la molécule de DMAP-BARB lui confère une fluorescence plus élevée. Les coefficients d'extinction molaire de ces sondes ainsi que les rendements quantiques sont de même ordre de grandeur que les fluorophores de structure similaire reportés dans la littérature²⁰.

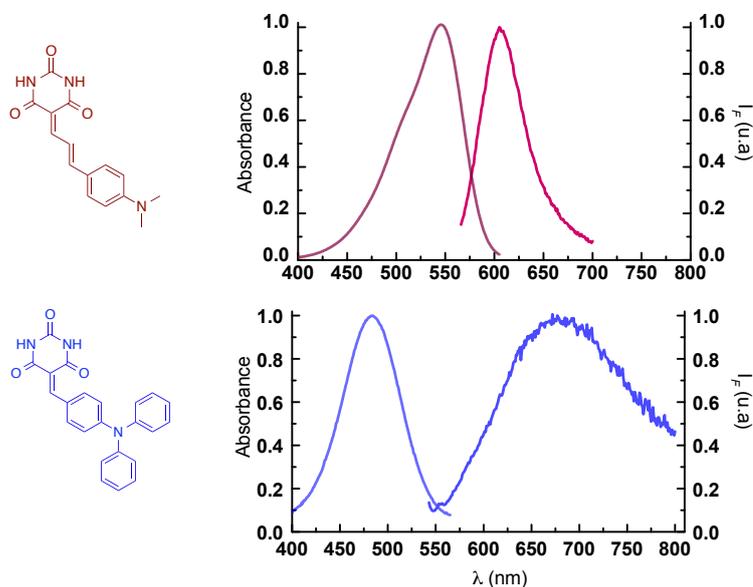


Figure 2- 46 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence des sondes TPA-BARB (en bleu, $\lambda_{\text{exc}} = 484$ nm) et DMAP-BARB (en rose, $\lambda_{\text{exc}} = 542$ nm) dans le chloroforme.

➤ **Déclin de fluorescence**

Les mesures de durées de vie des sondes TPA-BARB et DMAP-BARB ont été réalisées dans le chloroforme. En raison de la très faible fluorescence de la sonde TPA-BARB ($\Phi = 0,7\%$), la durée de vie a seulement pu être estimée inférieure à 0,03 ns. Celle-ci est plus petite que celle de l'ordre de 4 ns observée pour un dérivé d'acide barbiturique de structure similaire car ce dernier possède un groupement anthracène⁵⁶. Quant à la sonde DMAP-BARB, le déclin de fluorescence est monoexponentiel et sa durée de vie a été estimée à 0,438 ns.

Tableau 2- 21 : Caractéristiques de l'émission de fluorescence dans le chloroforme : durée de vie de fluorescence τ , constante de vitesse radiative k_r , constante de vitesse non radiative k_{nr} .

	τ (ns)	k_r (10^7 s^{-1})	k_{nr} (10^7 s^{-1})	χ^2
DMAP-BARB ^a	0,438	20,8	207,5	1,65

^a $\lambda_{exc} = 450 \text{ nm}$

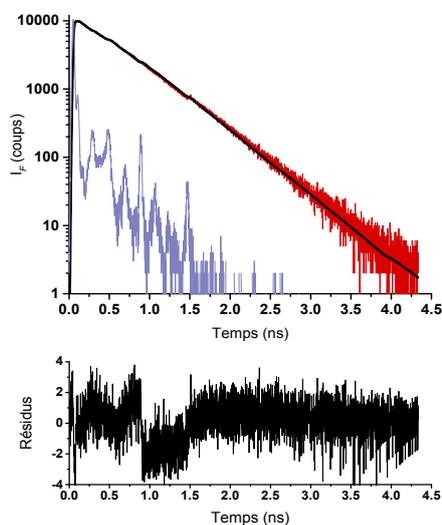


Figure 2- 47 : Déclins de fluorescence de la sonde DMAP-BARB ($\lambda_{exc} = 450 \text{ nm}$) dans le chloroforme.

➤ Propriétés photophysiques à l'état solide

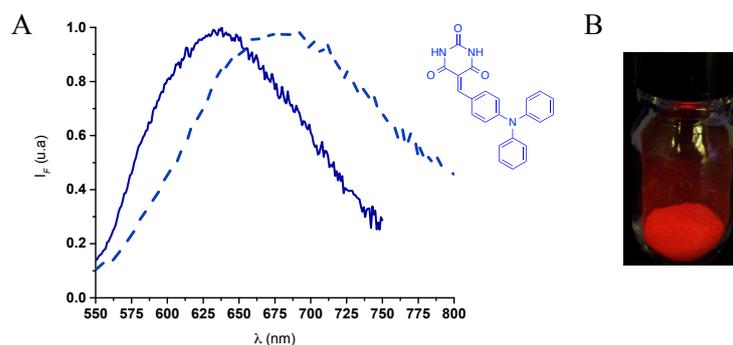


Figure 2- 48 : A) Spectres d'émission de fluorescence en solution dans le chloroforme (*en pointillé*) et à l'état solide (*en ligne continue*) de la sonde TPA-BARB ($\lambda_{exc} = 484$ nm), B) photographie de la sonde TPA-BARB à l'état solide ($\lambda_{exc} = 365$ nm).

La sonde TPA-BARB est également fluorescente à l'état solide. La bande d'émission se situe alors à 638 nm, ce qui conduit à un décalage de 39 nm vers le bleu (voir figure 2-48). Deux hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette différence qui pourrait provenir d'un changement de polarité ou des liaisons hydrogène intermoléculaires. Nous rappelons que pour la sonde Naphth-AlcyneOMe, il s'agit avant tout d'interactions π - π . Le rendement quantique à l'état solide a été mesuré et vaut 6,9 %, ce qui est satisfaisant pour une molécule organique émettant dans le rouge. Ce rendement est toutefois plus faible que celui de 37 % reporté dans la littérature pour un dérivé d'acide barbiturique couplé à un groupement tétraphényléthène⁵⁷.

Tableau 2- 22 : Longueurs d'ondes d'émission λ_{em} en solution dans le chloroforme et à l'état solide et rendement quantique Φ associé pour la sonde TPA-BARB.

	Solution		Poudre	
	λ_{em} max (nm)	Φ	λ_{em} max (nm)	Φ
TPA-BARB	677	0,007	638	0,069

➤ Solvatochromisme

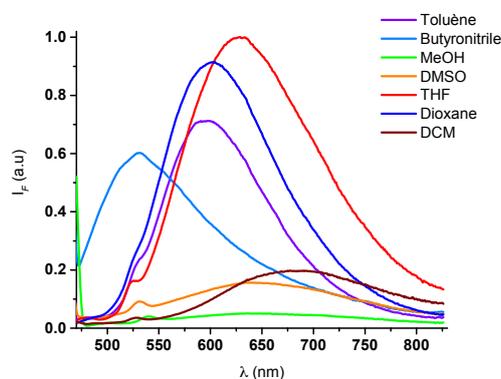
Des études de solvatochromisme ont été réalisées sur les sondes que nous avons synthétisées à savoir TPA-BARB et DMAP-BARB.

Tableau 2- 23 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacement de Stokes $\Delta\nu$, pour la sonde TPA-BARB.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Butyronitrile	459	531	2954
Toluène	469	597	4572
1,4-Dioxane	455	604	5422
Tétrahydrofurane	453	629	6177
Méthanol	465	634	5733
DMSO	458	635	6086
Chloroforme	484	677	5890
Dichlorométhane	478	692	6470
Acétonitrile	460	-	-
Ethanol	464	-	-

Un fort déplacement hypsochrome est observé pour l'émission de fluorescence dans le butyronitrile tandis que le composé TPA-BARB n'est pas fluorescent dans l'éthanol et l'acétonitrile. Une différence de + 161 nm est à noter entre l'émission dans le dichlorométhane et celle dans le butyronitrile.

Les spectres d'émission de fluorescence dans les différents solvants ont été mesurés dans les mêmes conditions d'excitation et ont été corrigés. Etant donné que la sonde TPA-BARB est très peu fluorescente surtout dans le méthanol et le DMSO, les spectres n'ont pas été normalisés. La figure 2-49 ci-dessous reflète ainsi la différence de rendement quantique de la sonde en fonction du solvant.

**Figure 2- 49 : Spectres d'émission de fluorescence corrigés de la sonde TPA-BARB**

Les données expérimentales que nous avons mesurées pour la sonde DMAP-BARB correspondent à celles publiées précédemment dans la littérature⁵⁸. Celle-ci se caractérise par

un coefficient d'absorption molaire élevé. Une différence de + 47 nm est observée entre la longueur d'onde d'émission de fluorescence dans le DMSO et celle dans le toluène.

En augmentant la polarité entre le 1,4-dioxane et le méthanol, l'émission de fluorescence est décalée vers le rouge de + 30 nm pour la sonde TPA-BARB et de + 38 nm pour la sonde DMAP-BARB. Cet écart est plus faible (+ 18 nm) pour un dérivé de l'acide barbiturique spirocyclique décrit dans la littérature⁵⁹.

Tableau 2- 24 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacement de Stokes $\Delta\nu$, pour la sonde DMAP-BARB.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Toluène	520	576	1870
1,4-Dioxane	495	578	2901
Tétrahydrofurane	500	593	3137
Chloroforme	545	600	1682
Dichlorométhane	542	607	1976
Butyronitrile	519	609	2847
Acétonitrile	521	613	2881
Méthanol	533	616	2528
DMSO	527	623	2924

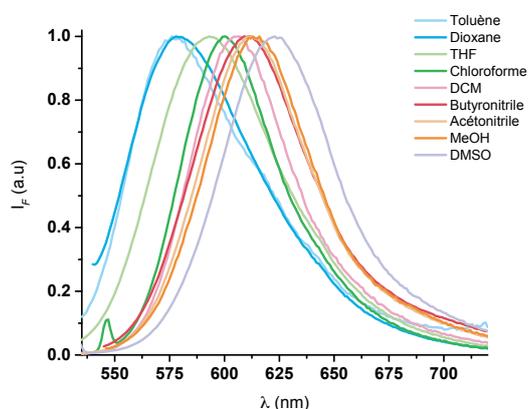


Figure 2- 50 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde DMAP-BARB dans les différents solvants

Le modèle de Lippert-Mataga ne permet pas cette fois-ci d'expliquer la stabilisation de l'état excité de ces fluorophores. Des interactions spécifiques entre les sondes et le solvant telles que les liaisons hydrogène doivent alors contribuer à la modification du moment dipolaire entre l'état fondamental et l'état excité.

L'échelle de polarité créée par Javier Catalàn⁶⁰ permet aussi d'analyser le solvatochromisme des fluorophores et prend en compte quatre paramètres : l'acidité, la basicité, la polarisabilité et la dipolarité du solvant. Les premiers résultats ne sont pas concluants. En effet, il n'a pas été possible d'ajuster correctement les données expérimentales avec ce modèle théorique. Cela confirme la présence d'interactions spécifiques entre les molécules fluorescentes et le solvant environnant ; elles ont déjà été mises en évidence pour ce type de composés⁶¹.

Les diverses sondes fluorescentes synthétisées présentent ainsi des solvatochromismes plus ou moins prononcés, ce qui pourrait conduire à des réponses fluorescentes variées avec les analytes.

2.1.5) Effet du sel TBAF sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB

Etant donné que la sonde TPA-BARB n'est pas stable dans un milieu acétonitrile/eau, l'effet de l'ion fluorure F⁻ dans le chloroforme a permis d'évaluer l'influence de la déprotonation de la sonde sur la fluorescence. Cette base est en effet susceptible d'interagir avec le groupement malonyluréé et plus particulièrement avec l'hydrogène de l'atome d'azote. La concentration de la sonde est de 2 µM. L'absorption subit un déplacement hypochromique et hypsochromique en présence de l'ion fluorure. En effet, elle diminue à 484 nm au fur et à mesure des ajouts jusqu'à atteindre un plateau. La bande d'absorption est alors décalée de 43 nm et se situe à 441 nm (voir figure 2-51). Concernant la fluorescence de la sonde en présence l'ion F⁻, elle diminue fortement à 677 nm pour être quasiment éteinte à la fin des ajouts.

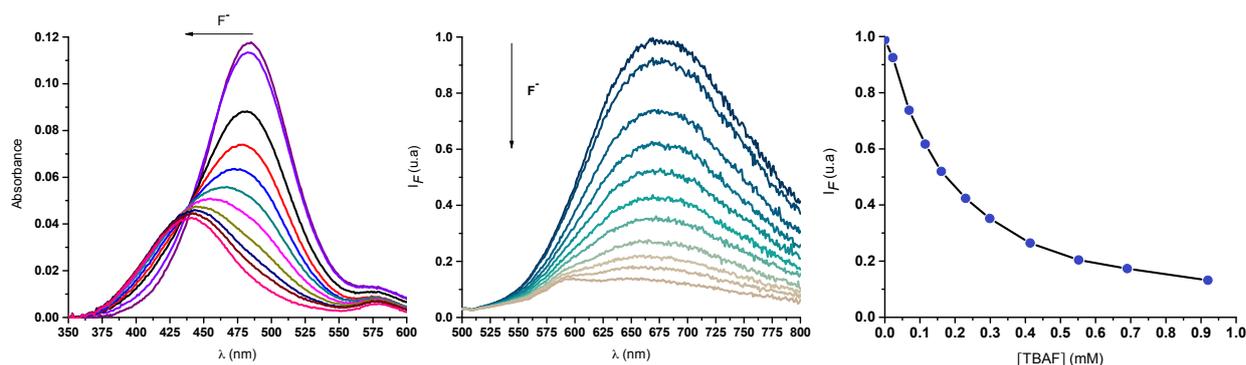


Figure 2- 51 : A gauche : Spectres d'absorption de la sonde TPA-BARB dans le chloroforme en présence de TBAF, à droite : spectres d'émission de fluorescence correspondants de la sonde TPA-BARB et évolution de l'intensité de la fluorescence à 677 nm en fonction de la concentration en TBAF, [TPA-BARB] = 2 μ M, λ_{exc} = 484 nm.

L'interaction de la sonde avec la base TBAF induit ainsi des modifications importantes que ce soit au niveau de l'absorption ou de la fluorescence. L'ion fluorure peut entraîner deux réactions, soit la déprotonation du groupement malonylurée, soit la réaction de rétro-Knoevenagel¹⁸. Si cette réaction se produit, la liaison C=C est clivée libérant l'acide barbiturique et l'aldéhyde initialement utilisé pour synthétiser la sonde.

Nous n'observons pas l'émission de l'aldéhyde commercial, pourtant très fluorescent, autour de 500 nm ce qui nous permet d'écarter l'hypothèse de la réaction de rétro-Knoevenagel. De plus, le point isobestique observé pour les spectres d'absorption indique un équilibre entre deux espèces. La modification de la fluorescence résulte ainsi de la déprotonation de TPA-BARB, ce qui est encourageant pour la détection d'analytes par liaisons hydrogène.

La réaction de déprotonation se produit également pour la sonde DMAP-BARB selon une étude réalisée dans le dichlorométhane⁵⁸. Pour cette sonde, il y a bien un déplacement hypochrome et hypsochrome de la bande d'absorption ainsi que la présence d'un point isobestique. Des études RMN ont permis de mettre en évidence et de confirmer la déprotonation de la sonde.

2.2) Etudes avec les analytes

Les propriétés photophysiques des sondes MaleOMe, Naphth-NHBu, Naphth-TriazoleOMe, Naphth-AlcyneOMe, TPA-BARB et DMAP-BARB ont été étudiées de manière approfondie. Les sondes MaleOMe, Naphth-NHBu et Naphth-AlcyneOMe se sont révélées très fluorescentes dans le chloroforme tandis que les sondes Naphth-TriazoleOMe, TPA-BARB et DMAP-BARB fluorescent très peu. MaleOMe, Naphth-AlcyneOMe et

Naphth-TriazoleOMe présentent également un fort solvatochromisme. Comme elles sont sensibles à la polarité de leur environnement, elles sont potentiellement sensibles à la présence des analytes.

La partie suivante expose les résultats les plus significatifs des différentes études qui ont été menées afin d'évaluer la capacité des sondes à détecter l'atrazine ou les dérivés de mélamine. La figure 2-52 récapitule la structure des différentes sondes fluorescentes synthétisées et des analytes.

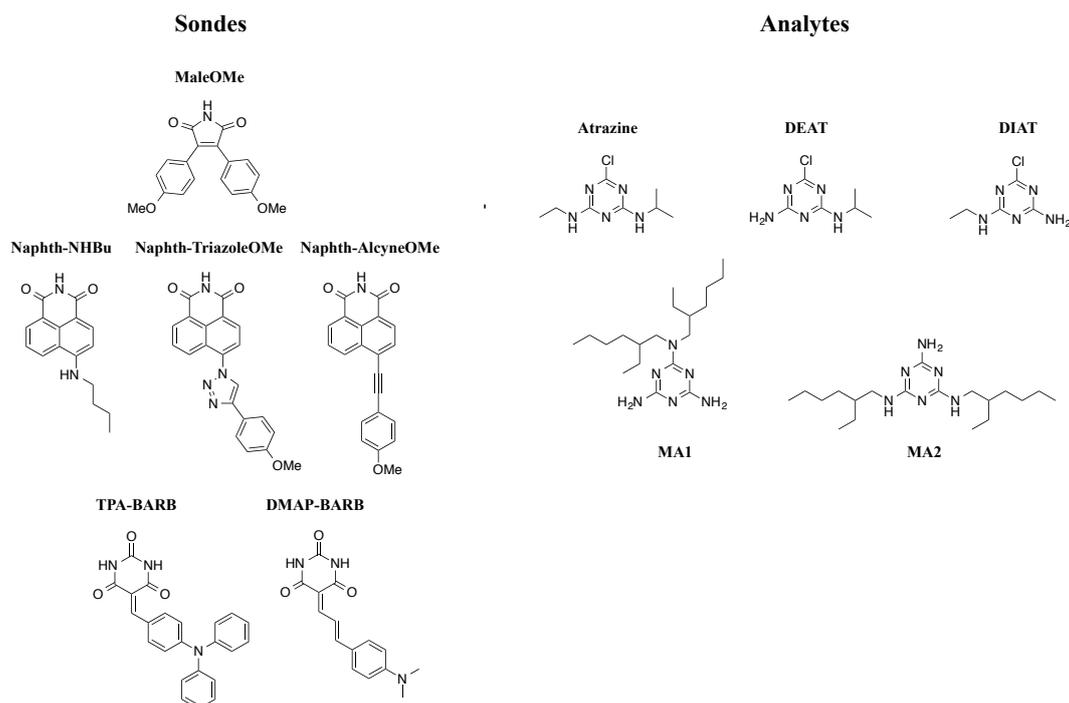


Figure 2- 52 : Structure des sondes fluorescentes et des analytes à détecter.

2.2.1) Etude de détection des analytes par la sonde MaleOMe

➤ Etude avec l'atrazine et ses produits de dégradation

L'étude doit se faire dans un solvant non protique pour éviter toute compétition avec la molécule cible. Toute trace d'eau est par ailleurs dommageable pour l'expérience. L'acétonitrile étant hygroscopique, il ne peut pas être utilisé pour notre étude, tout comme le toluène et le méthylcyclohexane qui ne permettent pas de solubiliser l'atrazine et la sonde respectivement. Nous avons donc choisi de mener les études dans le dichlorométhane ou le dichloroéthane. L'atrazine a été introduite en large excès dans une solution de dichloroéthane contenant la sonde MaleOMe (voir figure 2-53). A une concentration de 2,3 mM, l'atrazine n'affecte pas suffisamment les caractéristiques photophysiques de la sonde.

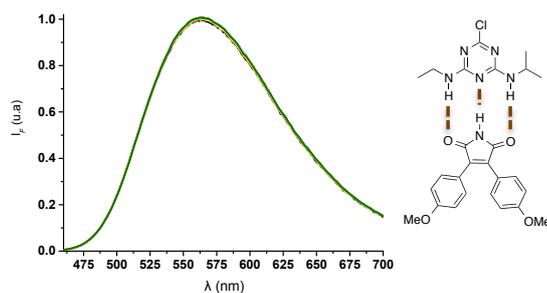


Figure 2- 53 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe (*en noir*) ([MaleOMe] = 11 μ M) en présence d'atrazine dans le dichloroéthane ([Atrazine] = 2,3 mM, λ_{exc} = 400 nm).

En revanche, une légère perturbation de la fluorescence est mesurée en présence des produits de dégradation DEAT et DIAT dans le dichlorométhane après excitation à 402 nm. L'émission est dans les deux cas un peu décalée vers le rouge (+ 7 nm pour DEAT, + 3 nm pour DIAT), ce qui indique une petite augmentation du transfert de charge.

Le fait d'avoir un groupement $-NH_2$ libre sur ces composés favorise l'interaction par liaison hydrogène avec la sonde, ce qui perturbe un peu plus la fluorescence de cette dernière. En effet, l'atrazine doit dans un premier temps présenter ses deux atomes d'hydrogène des groupements amines dans la direction appropriée afin de former le système à trois liaisons hydrogène avec MaleOMe.

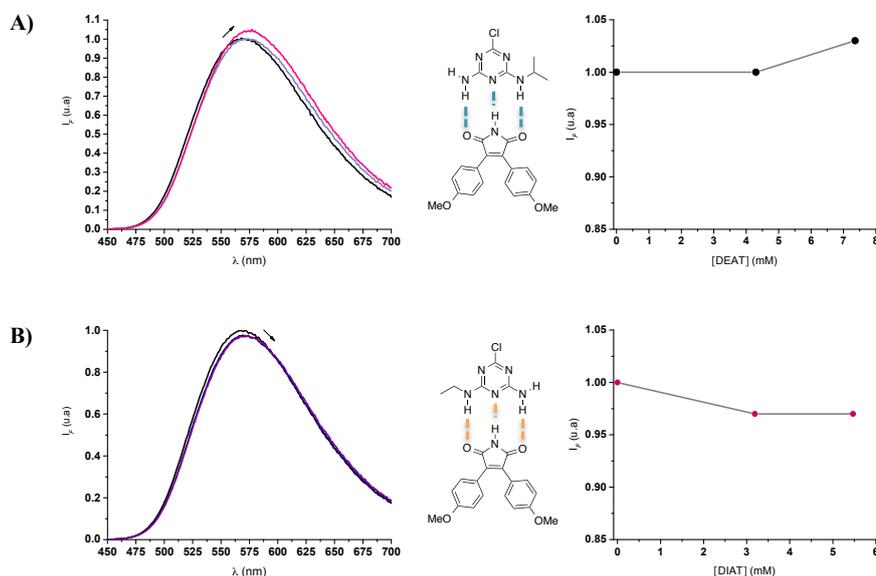


Figure 2- 54 : A) Spectres d'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe (*en noir*) ([MaleOMe] = 9,66 μ M) après ajouts d'une solution de DEAT dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 567 nm en fonction de la concentration de DEAT, λ_{exc} = 402 nm, B) spectres d'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe (*en noir*) ([MaleOMe] = 9,66 μ M) après ajouts d'une solution de DIAT dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 567 nm en fonction de la concentration de DIAT, λ_{exc} = 402 nm.

Les produits de désalkylation DEAT et DIAT ont toutefois une solubilité limitée dans le dichlorométhane ce qui empêche leur utilisation à une concentration beaucoup plus élevée.

➤ Etude avec les dérivés de la mélamine

Nous avons ensuite analysé l'influence que peuvent avoir les dérivés de mélamine MA1 et MA2 sur la fluorescence de la sonde MaleOMe en plaçant cette dernière à une concentration de 11,6 μM . La mélamine MA1 possède un site d'interaction potentiel avec la sonde tandis que la mélamine MA2 en possède deux, comme nous l'avons vu précédemment. Il est ainsi intéressant de voir si cette caractéristique a une influence sur l'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe.

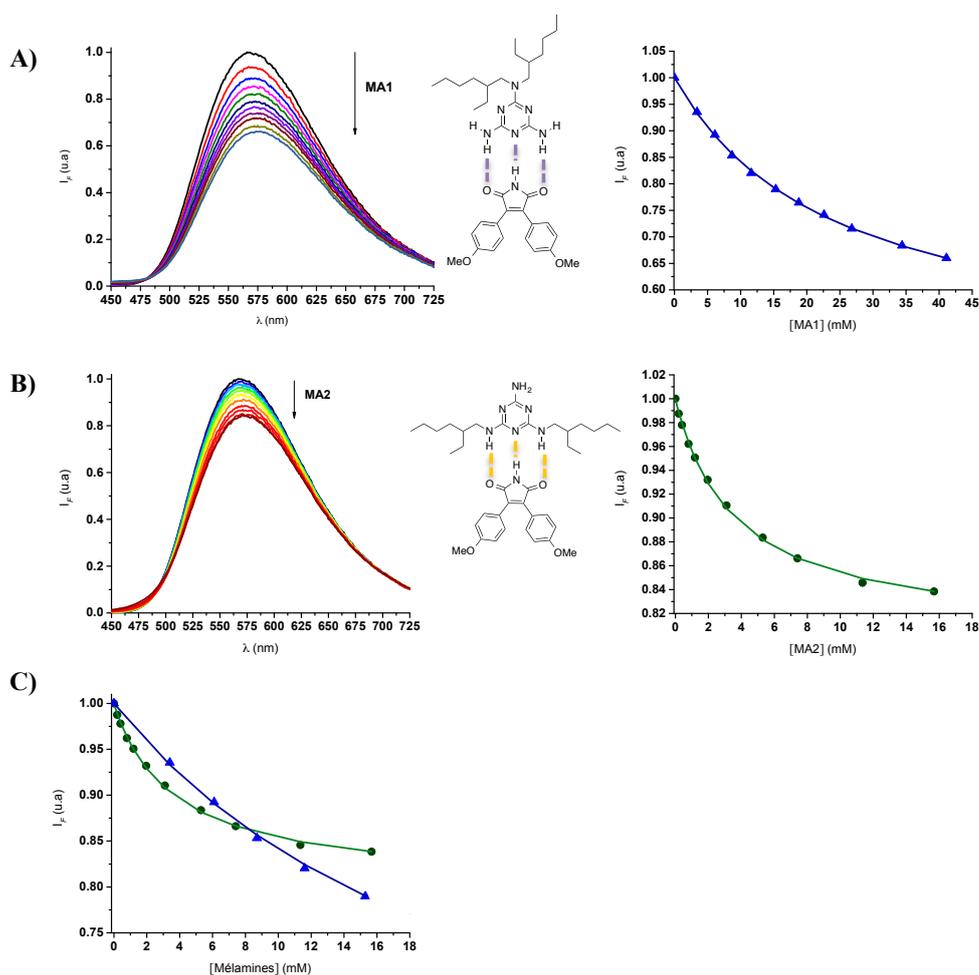


Figure 2- 55 : A) Spectres d'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe (*en noir*) ([MaleOMe] = 11,6 μM) après ajouts d'une solution de MA1 dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 569 nm en fonction de la concentration de MA1 (fit obtenu en ligne continue), $\lambda_{\text{exc}} = 402$ nm, B) spectres d'émission de fluorescence de la sonde MaleOMe (*en noir*) ([MaleOMe] = 11,6 μM) après ajouts d'une solution de MA2 dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 569 nm en fonction de la concentration de MA2 (fit obtenu en ligne continue), $\lambda_{\text{exc}} = 402$ nm, C) graphe comparant les effets sur la fluorescence de MA1 (*triangles bleus*) et de MA2 (*ronds verts*).

En présence de la mélamine MA1, la fluorescence de la sonde à 569 nm chute de 35 % pour une concentration en MA1 de 41,1 mM, après excitation à 402 nm (voir figure 2-55). L'interaction avec la mélamine MA1 est ainsi capable de modifier la photophysique de la sonde MaleOMe de manière significative, contrairement à l'atrazine et à ses dérivés. L'extinction de la fluorescence est beaucoup plus importante pour la mélamine MA1 que pour la mélamine MA2. En effet, l'émission de fluorescence à 569 nm diminue de 22 % pour une concentration en MA1 de 15,3 mM alors qu'elle atteint sa valeur maximale de 16 % pour une concentration en MA2 de 15,7 mM.

Des complexes de stœchiométrie 1 : 1 se forment avec la sonde MaleOMe, qu'il s'agisse de la mélamine MA1 ou de la mélamine MA2. Le deuxième site de liaison potentiel de MA2 n'est donc pas occupé, probablement en raison d'un encombrement stérique trop important. La constante d'association a pu être établie pour la mélamine MA1 :

$$\log K_{11} = 1,62 \pm 0,021$$

ainsi que pour la mélamine MA2 :

$$\log K_{11} = 2,44 \pm 0,035$$

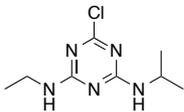
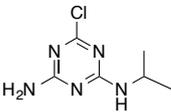
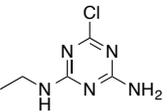
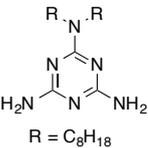
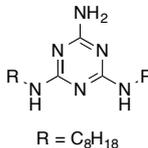
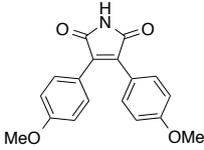
L'interaction par liaisons hydrogène entre un dérivé de naphthalène bisimide et un dérivé de mélamine a été caractérisée par une constante d'association de $130 \pm 20 \text{ L.mol}^{-1}$ dans le chloroforme⁶², ce qui est presque trois fois supérieur à celle obtenue entre MaleOMe et MA1 mais presque deux fois plus faible que celle calculée entre MaleOMe et MA2.

Ainsi la fluorescence de la sonde MaleOMe n'est-elle pas suffisamment modifiée en présence de l'atrazine ou de ses produits de dégradation mais d'importants changements se produisent en présence des dérivés de mélamine MA1 et MA2. Les triazines testées présentent des propriétés différentes qui peuvent expliquer l'aptitude des dérivés de la mélamine à modifier la fluorescence de MaleOMe, contrairement à l'atrazine :

- leur caractère hydrophobe est renforcé par la présence de longues chaînes alkyles comparé à l'atrazine
- leur cycle aromatique est substitué par un groupement $-\text{NH}_2$ au lieu d'un atome de chlore ce qui modifie leur configuration électronique et peut engendrer des perturbations de la fluorescence plus importante

Le tableau 2-25 résume les effets sur la fluorescence de la sonde MaleOMe des divers analytes.

Tableau 2- 25 : Effets des analytes sur la fluorescence de la sonde MaleOMe.

	Atrazine	DEAT	DIAT	MA1	MA2
					
MaleOMe 	X aucun effet pour 2,3 mM d'atrazine	$I_F \nearrow$ $\lambda_{em} \nearrow$ (+ 7 nm)	$I_F \searrow$ $\lambda_{em} \nearrow$ (+ 3 nm)	$I_F \searrow \searrow$ $\lambda_{em} \nearrow$ (+ 8 nm)	$I_F \searrow \searrow$ $\lambda_{em} \nearrow$ (+ 4 nm)

2.2.2) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-NHBu

➤ Etude avec l'atrazine et le produit de dégradation DIAT

Nous avons ensuite étudié l'influence que peut avoir l'atrazine sur la fluorescence de la sonde Naphth-NHBu dans le dichlorométhane.

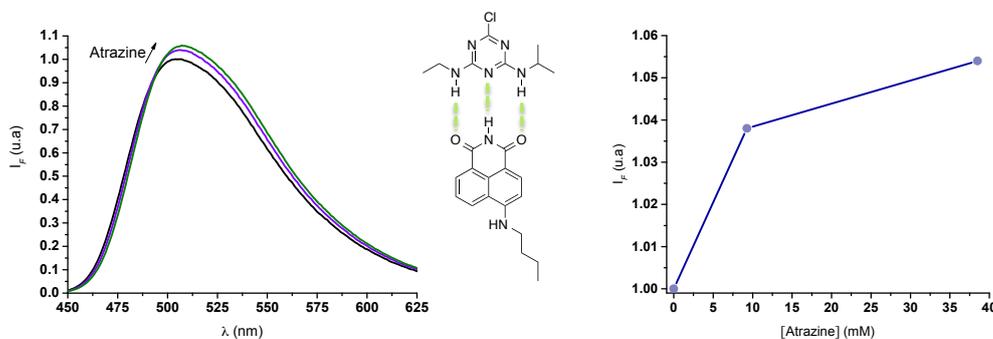


Figure 2- 56 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-NHBu (*en noir*) ([Naphth-NHBu] = 7,2 μ M) après ajouts d'atrazine dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 505 nm en fonction de la concentration d'atrazine, $\lambda_{exc} = 425$ nm.

Une faible augmentation de la fluorescence (+ 5,4 %) est observée à 505 nm pour une concentration en sonde de 7,2 μ M et d'atrazine de 38,5 mM. La bande d'émission de fluorescence se situe à 507 nm à la fin du dosage après excitation à 425 nm, soit un décalage vers le rouge de 2 nm. L'association par liaisons hydrogène étant par nature relativement faible, il est d'autant plus difficile d'observer des changements de fluorescence dans les

solutions diluées qu'imposent les études spectroscopiques. Nous pouvons ainsi supposer que l'association entre une molécule de sonde fluorescente et une molécule d'atrazine *via* la formation de trois liaisons hydrogène a lieu mais que cette dernière ne change pas suffisamment les propriétés photophysiques de la sonde.

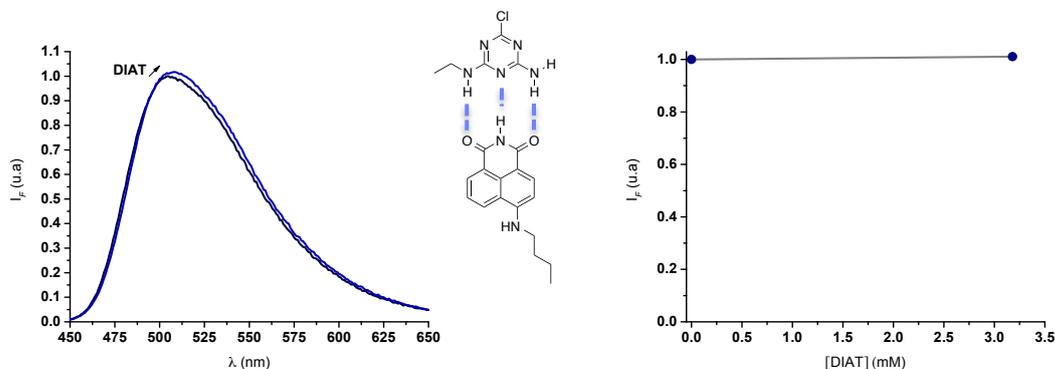
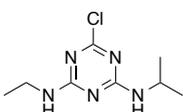
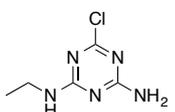
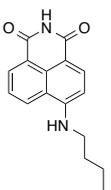


Figure 2- 57 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-NHBu (*en noir*) ([Naphth-NHBu] = 5,47 μ M) en présence de DIAT dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 505 nm en fonction de la concentration de DIAT, $\lambda_{exc} = 425$ nm.

De plus, la sonde Naphth-NHBu a été testée pour la détection de l'analyte DIAT également dans le dichlorométhane. L'émission de la sonde Naphth-NHBu à 505 nm est également très peu modifiée avec l'analyte DIAT. Une petite augmentation de l'émission de 1 % est mesurée. Notons un léger décalage de 3 nm vers les grandes longueurs d'onde pour une concentration en DIAT de 3,18 mM, ce qui révèle une augmentation du transfert de charge. En raison des faibles modifications de la fluorescence observées, l'analyte DEAT n'a pas été testé pour les sondes naphthalimides. Le tableau 2-26 rassemble les résultats obtenus pour l'atrazine et l'analyte DIAT.

Tableau 2- 26 : Effets des analytes sur la fluorescence de la sonde Naphth-NHBu.

	Atrazine	DIAT
		
Naphth-NHBu 	I_F ↗ λ_{em} ↗ (+ 2 nm)	I_F ↗ λ_{em} ↗ (+ 3 nm)

2.2.3) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-AlcyneOMe

➤ Etude avec l'atrazine et le produit de dégradation DIAT

La détection de l'atrazine par la sonde Naphth-AlcyneOMe a également été testée en solution plus concentrée dans le dichlorométhane ($[Naphth-AlcyneOMe] = 65 \mu M$). Pour une quantité d'atrazine de 21,3 mM, la fluorescence diminue de 5 %. Un décalage de + 3 nm est observé pour la bande d'émission de fluorescence qui est alors localisée à 507 nm. De plus, la sonde a été placée à une concentration 4,91 μM afin d'analyser les changements de fluorescence induits par l'analyte DIAT. Une diminution de 4 % de l'émission ainsi qu'un décalage de + 2 nm sont alors mesurés pour une concentration en analyte DIAT de 4,76 mM.

Ces modifications de la longueur d'onde d'émission en présence d'atrazine ou de DIAT attestent d'une augmentation du transfert de charge, comme nous l'avons observé pour Naphth-NHBu.

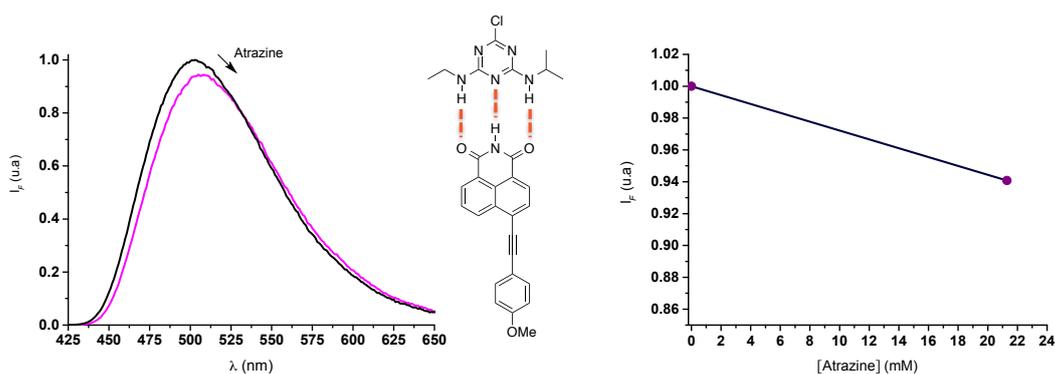


Figure 2- 58 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe (*en noir*) ($[Naphth-AlcyneOMe] = 65 \mu M$) en présence d'atrazine dans le DCM évolution de l'intensité de fluorescence à 504 nm en fonction de la concentration en atrazine, $\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$.

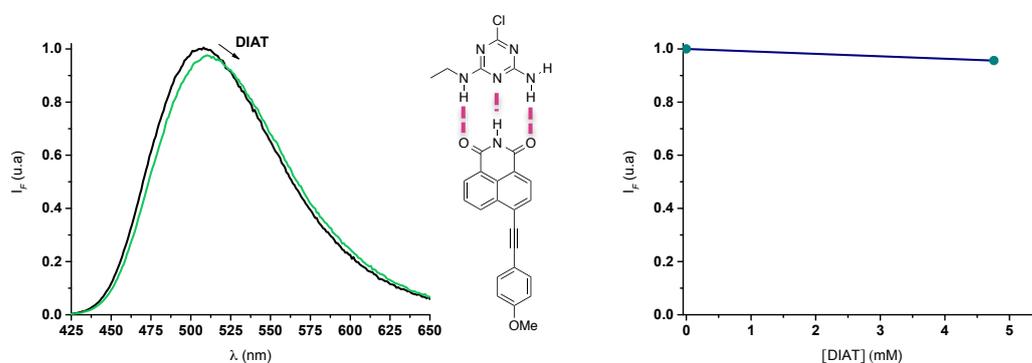
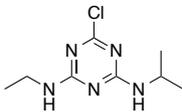
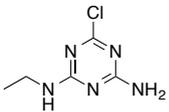
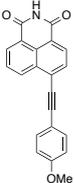


Figure 2- 59 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOMe (*en noir*) ($[Naphth-AlcyneOMe] = 4,91 \mu M$) en présence de DIAT dans le DCM évolution de l'intensité de fluorescence à 504 nm en fonction de la concentration de DIAT, $\lambda_{exc} = 400 \text{ nm}$.

Le tableau 2-27 suivant résume les modifications de la fluorescence de Naphth-AlcyneOMe provoquées par les analytes.

Tableau 2- 27 : Effets des analytes sur la fluorescence des sondes Naphth-AlcyneOMe.

	Atrazine	DIAT
		
Naphth-AlcyneOMe 	I_F ↓ λ_{em} ↗ (+ 3 nm)	I_F ↓ λ_{em} ↓ (- 3 nm)

2.2.4) Etude de détection des analytes par la sonde Naphth-TriazoleOMe

➤ Etude avec le produit de dégradation DIAT

Enfin, l'analyte DIAT perturbe de manière plus importante la fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe. En effet, la fluorescence à 600 nm est légèrement diminuée de 12 % en présence de 3,18 mM de cet analyte. L'émission se retrouve quant à elle décalée de 6 nm.

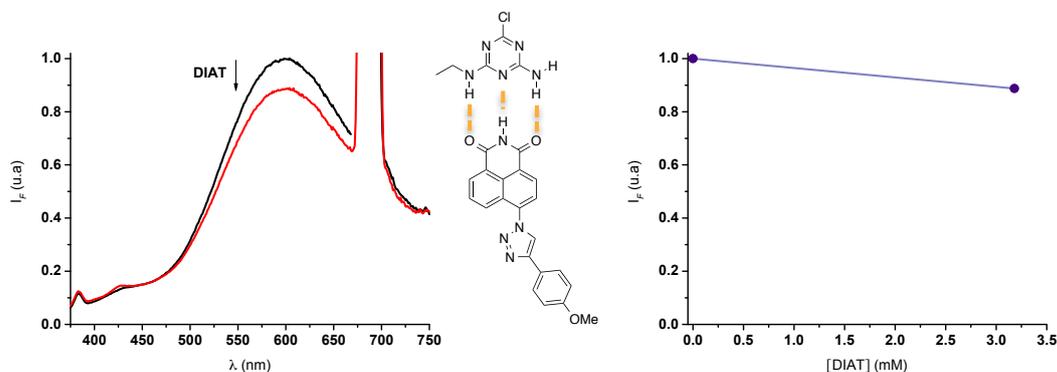
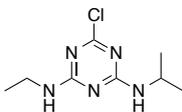
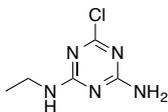
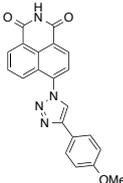


Figure 2- 60 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-TriazoleOMe (*en noir*) ([Naphth-TriazoleOMe] = 8,98 μ M) en présence de DIAT dans le DCM et évolution de l'intensité de fluorescence à 600 nm en fonction de la concentration de DIAT, $\lambda_{exc} = 400$ nm.

Tableau 2- 28 : Effets des analytes sur la fluorescence des sondes Naphth-AlcyneOMe.

	Atrazine	DIAT
		
Naphth-TriazoleOMe 	-	I_F ↓ λ_{em} ↗ (+ 6 nm)

Ainsi, les sondes naphthalimides ont été évaluées pour la détection de l'atrazine et d'un de ses produits de dégradation, à savoir l'analyte DIAT. Le décalage de l'émission de fluorescence prouve que le transfert de charge est perturbé. Toutefois, en raison des faibles changements de fluorescence enregistrés, les études n'ont pas été poursuivies avec l'analyte DEAT. L'utilisation des sondes naphthalimides en tant que capteur pour la détection de l'atrazine ou de ses produits de dégradation est donc compromise.

Par ailleurs, comme les tests effectués en parallèle avec les dérivés d'acide barbiturique en présence des mélamines alkylées se sont révélés concluants, les études n'ont pas été réalisés pour les sondes naphthalimides afin de limiter la consommation de MA1 et de MA2 que nous avons synthétisés.

2.2.5) Etude RMN de l'interaction avec l'atrazine

Nous avons réalisé des études RMN afin de vérifier la capacité de la sonde MaleOMe et de la sonde Naphth-AlcyneOMe à former des liaisons hydrogène avec l'atrazine. Pour ce faire, nous suivons le déplacement chimique du proton labile du groupement imide potentiellement impliqué dans l'interaction.

➤ Interaction avec la sonde MaleOMe

Nous avons étudié dans un premier temps si le motif maléimide forme des liaisons hydrogène avec l'atrazine.

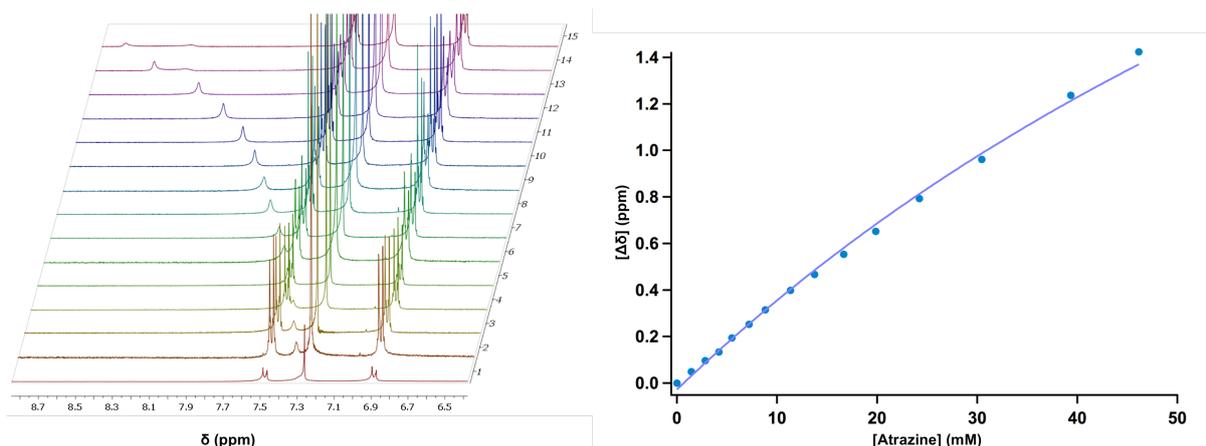
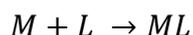


Figure 2- 61 : *A gauche* : Spectres RMN ^1H de la sonde MaleOMe avec $[\text{MaleOMe}] = 3,85 \text{ mM}$, ajout d'une solution d'atrazine dans le chloroforme deutéré, *à droite* : fit obtenu pour la constante d'association.

Nous avons préparé une solution de MaleOMe dans le chloroforme deutéré de concentration $3,85 \text{ mM}$ et des aliquots d'une solution d'atrazine de $0,097 \text{ M}$ ont été successivement ajoutés. Le signal du NH pour la sonde seule est à $7,29 \text{ ppm}$. Ce dernier se retrouve déplacé vers les champs faibles jusqu'à $8,72 \text{ ppm}$ soit un déplacement de $1,43 \text{ ppm}$. La figure 2-61 montre la zone du spectre RMN permettant de suivre le signal du proton N-H de l'imide du maléimide ainsi que l'évolution du déplacement chimique $\Delta\delta = \delta_{\text{NH}} \text{ après ajout} - \delta_{\text{NH}} \text{ sonde seule}$ (en ppm) en fonction de la concentration en atrazine.

A partir de l'équation suivante, la constante d'association entre MaleOMe et l'atrazine a été calculée :



$$K = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

Equation 2- 1

$$K = 8,29 \pm 0,15 \text{ M}^{-1}$$

avec M la sonde fluorescente MaleOMe et L l'atrazine.

Cette constante se révèle assez faible comparée aux autres constantes reportées dans le chloroforme pour des systèmes de liaisons hydrogène similaires. En effet, les constantes d'associations par liaisons hydrogène entre des diaminopyridines et la *N*-propylthymine ont été publiées dans la littérature⁶³ et évaluées entre 436 M^{-1} et 920 M^{-1} .

De même, l'interaction entre un dérivé de l'uracile et un dérivé de triazine se caractérise par une constante de 496 M^{-1} , ce qui laisse entrevoir dans ce cas la possibilité d'observer des réponses fluorescentes satisfaisantes⁶⁴.

➤ Interaction avec la sonde Naphth-AlcyneOMe

Nous avons ensuite réalisé la même expérience avec la sonde Naphth-AlcyneOMe. Une solution de Naphth-AlcyneOMe dans le chloroforme deutéré de concentration $3,3 \text{ mM}$ a été préparée et des ajouts d'une solution d'atrazine de $0,15 \text{ M}$ ont progressivement été effectués. Le signal initial du NH pour la sonde seule est à $8,40 \text{ ppm}$. Au fur et à mesure des ajouts, ce signal est déplacé vers les champs faibles jusqu'à $10,89 \text{ ppm}$ soit un déplacement de $2,49 \text{ ppm}$ (voir figure 2-62).

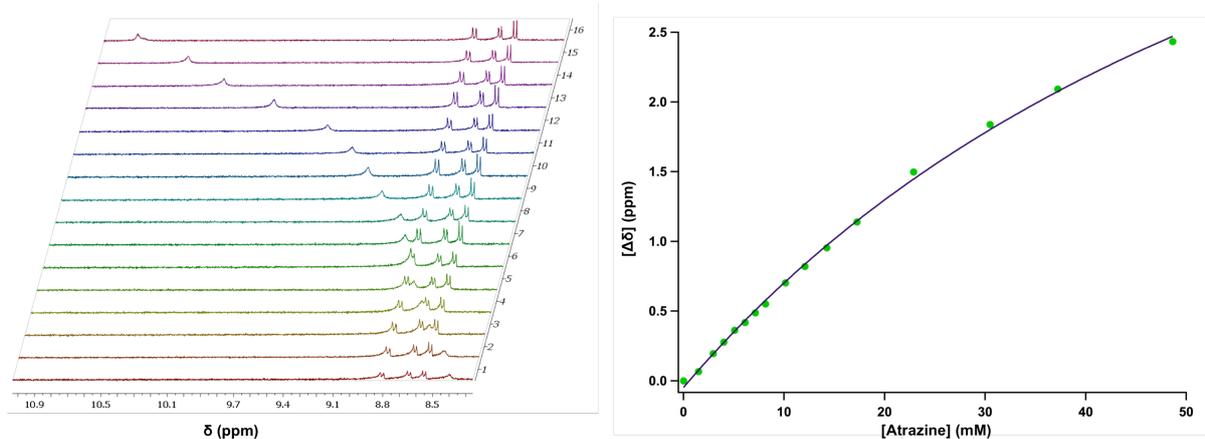


Figure 2- 62 : *A gauche* : Spectres RMN ^1H de la sonde Naphth-AlcyneOMe avec $[\text{Naphth-AlcyneOMe}] = 3,3 \text{ mM}$, ajout d'une solution d'atrazine dans le chloroforme deutéré, *à droite* : fit obtenu pour la constante d'association.

A l'aide de l'équation suivante, nous avons pu établir la constante d'association entre Naphth-AlcyneOMe et l'atrazine :



$$K = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

Equation 2- 2

$$K = 14,13 \pm 1,34 \text{ M}^{-1}$$

avec M la sonde fluorescente Naphth-AlcyneOMe et L l'atrazine.

La constante d'association est ainsi relativement proche de celle calculée pour la sonde MaleOMe. Nous avons aussi étudié l'interaction entre la sonde Naphth-AlcyneOMe et les dérivés de la mélamine. Dans le dichlorométhane deutéré le signal du NH de l'imide de la

sonde n'apparaît pas. Cela est probablement dû à une très forte auto-association des sondes. Le dosage n'a donc pas pu être effectué. Dans le chloroforme, le proton de l'azote est visible mais son signal disparaît dès le premier ajout de la mélamine alkylée MA2. Ceci suggère que l'interaction avec la mélamine alkylée est différente de celle avec l'atrazine. La constante d'association n'a pas pu être établie.

Ainsi, les deux motifs de reconnaissance maléimide et naphthalimide jouent leur rôle et permettent d'engager la sonde correspondante dans des liaisons hydrogène avec l'atrazine. Cependant, ces constantes sont trop faibles pour modifier significativement la fluorescence des sondes. Les dérivés de la mélamine semblent par ailleurs former des interactions par liaisons hydrogène plus fortes que l'atrazine⁶². En effet, l'association entre un naphthalène bisimide et des dérivés de la mélamine aboutit à des constantes entre 65 M^{-1} et 130 M^{-1} . Le fait d'avoir des groupements NH_2 apparaît alors être un paramètre important. Des constantes proches de celles que nous avons calculées pour nos sondes (autour de 30 M^{-1}) ont été attribuées pour l'association entre un pérylène bisimide et des mélamines dialkylées ne comportant pas de groupement NH_2 libre⁶⁵.

2.2.6) Etude de détection des analytes par la sonde DMAP-BARB

Les molécules dérivées de l'acide barbiturique TPA-BARB et DMAP-BARB possèdent une fonction malonylurée pouvant interagir potentiellement avec les analytes choisis. Ces sondes présentent une fluorescence plus faible que les autres sondes décrites précédemment. Il est intéressant de voir si l'interaction avec les analytes conduit à une exaltation de leur fluorescence. Les modifications que ces derniers exercent sur la fluorescence des dérivés de l'acide barbiturique ont été analysées et sont décrites dans la partie suivante.

➤ **Etude avec les produits de dégradation de l'atrazine**

Les premières études réalisées avec la sonde MaleOMe et les sondes Naphth-NHBu, Naphth-TriazoleOMe et Naphth-AlcyneOMe ont permis d'établir que les produits de désalkylations DEAT et DIAT conduisent à une perturbation un peu plus importante de la fluorescence.

L'absorption augmente de manière graduelle en présence de l'analyte DIAT. En effet, au fur et à mesure des ajouts, l'absorption à 542 nm est de plus en plus élevée. Il est à noter

que le premier ajout provoque une augmentation assez brusque de l'absorption alors que les ajouts suivants de concentration en DIAT égale ou plus élevée ne modifient pas autant le spectre d'absorption. De plus, la bande d'absorption subit un déplacement bathochrome de 7 nm et se retrouve alors à 549 nm.

De même, après l'addition de l'analyte DEAT, l'absorption augmente et se décale de 542 nm à 548 nm, soit une différence de 6 nm. Une augmentation assez forte de l'absorption est également observée pour le premier ajout de DEAT. Nous avons relevé des fluctuations de la fluorescence de DMAP-BARB liées à problèmes de photostabilité qui ne permettent pas de suivre correctement la fluorescence. C'est pourquoi nous nous sommes concentrées sur la détection de ces analytes par absorption. La présence de deux doubles liaisons conjuguées peut expliquer ce manque de photostabilité.

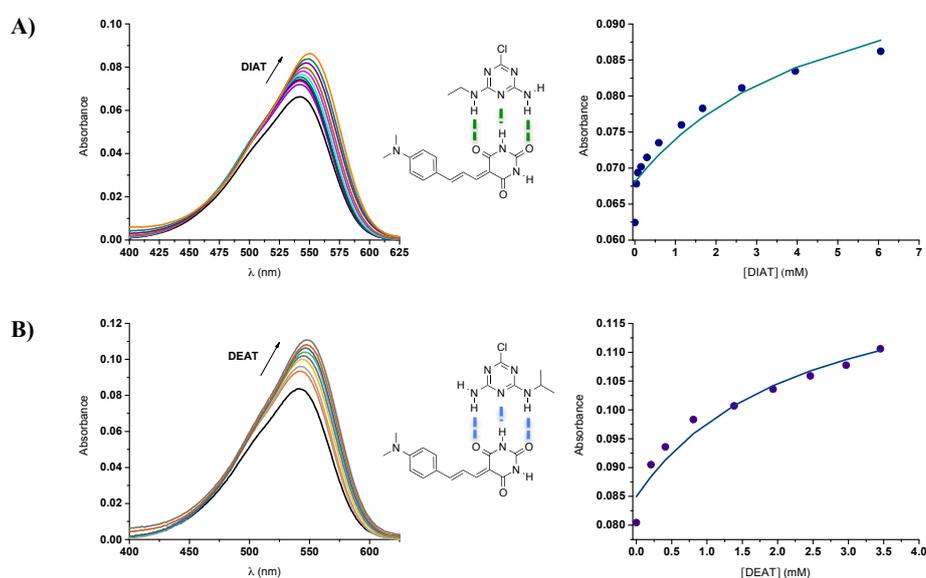


Figure 2- 63 : A) Spectres d'absorption de la sonde DMAP-BARB (*en noir*) ([DMAP-BARB] = 0,80 μM) après ajouts de DIAT dans le DCM et évolution de l'absorption à 548 nm en fonction de la concentration de DIAT (fit obtenu en ligne continue), B) Spectres d'absorption de la sonde DMAP-BARB (*en noir*) ([DMAP-BARB] = 1,02 μM) après ajouts de DEAT dans le DCM et évolution de l'absorption à 549 nm en fonction de la concentration de DIAT (fit obtenu en ligne continue).

Des complexes de stœchiométrie 1 : 1 se forment entre la sonde DMAP-BARB et les produits de désalkylations de l'atrazine. La constante d'association a pu être établie pour l'analyte DIAT:

$$\log K_{11} = 2,30 \pm 0,16$$

ainsi que pour l'analyte DEAT:

$$\log K_{11} = 2,63 \pm 0,20$$

Nous remarquons qu'il est préférable pour l'interaction par liaisons hydrogène d'avoir un groupement isopropyle plutôt qu'un groupement éthyle. La configuration électronique de l'analyte semble ainsi avoir une influence sur la photophysique de la sonde.

➤ Etude avec les dérivés de la mélamine

Enfin, la capacité des dérivés de mélamine MA1 à modifier la fluorescence de la sonde DMAP-BARB a ensuite été évaluée.

Nous avons placé la sonde DMAP-BARB à une concentration plus élevée (12,7 μM) et analysé l'évolution de la fluorescence en présence de l'analyte MA1. L'absorption est décalée de + 5nm pas tandis que la fluorescence à 606 nm augmente dans un premier temps de 24 % pour une concentration en analyte de 0,25 mM. L'intensité de fluorescence diminue ensuite puis se stabilise. L'augmentation finale est de 18 % quand la concentration en MA2 est comprise entre 0,64 mM et 3,2 mM.

Peu de points ont été mesurés afin de ne pas abîmer la sonde et voir l'influence de la mélamine alkylée. La fluorescence semble se stabiliser au troisième ajout. Le léger décalage de l'émission de fluorescence indique une modification du transfert de charge. Cependant, en raison des problèmes de photostabilité, les études n'ont pas été approfondies.

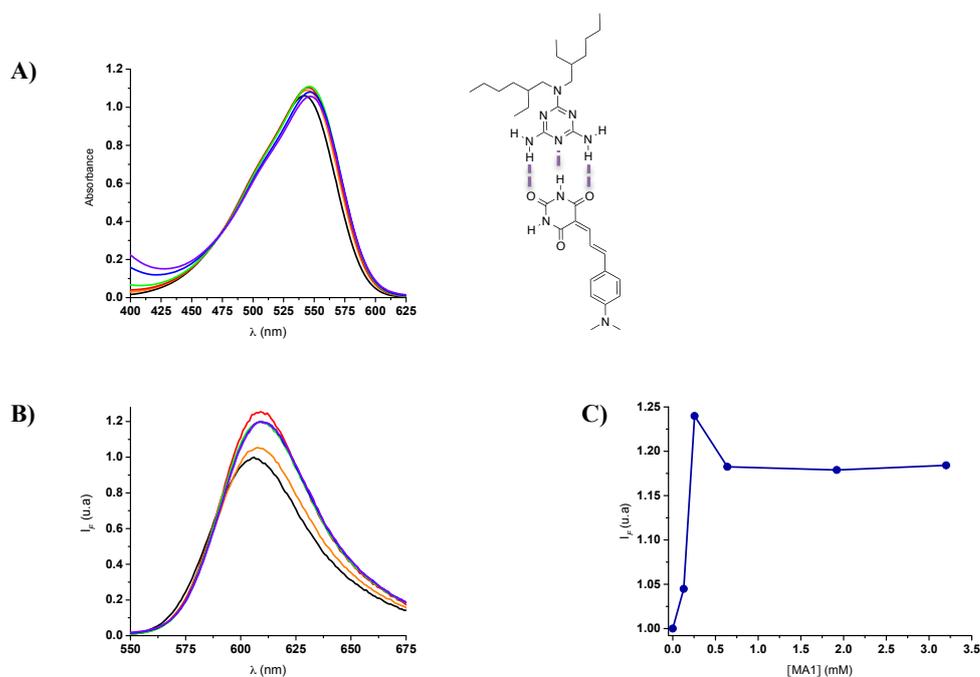
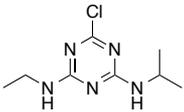
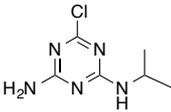
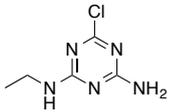
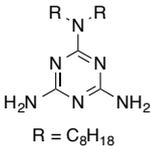
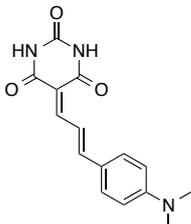


Figure 2- 64 : A) Spectres d'absorption de la sonde DMAP-BARB (*en noir*) ([DMAP-BARB] = 12,7 μM) après ajouts de MA1 dans le DCM, B) spectres d'émission de fluorescence correspondants, $\lambda_{\text{exc}} = 542 \text{ nm}$, C) évolution de l'intensité de fluorescence à 606 nm en fonction de la concentration en MA1.

Le tableau 2-29 ci-dessous présente les effets des analytes sur la fluorescence de DMAP-BARB.

Tableau 2- 29 : Effets des analytes sur la fluorescence de la sonde DMAP-BARB.

	Atrazine	DEAT	DIAT	MA1
				
DMAP-BARB 	-	Abs ↗↗ λ_{abs} ↗ (+ 6 nm) problème de photostabilité	Abs ↗↗ λ_{abs} ↗ (+ 8 nm) problème de photostabilité	λ_{abs} ↗ (+ 5 nm) problème de photostabilité

2.2.7) Etude de détection des analytes par la sonde TPA-BARB

➤ Etude avec l'atrazine et ses produits de dégradation

L'atrazine devrait interagir *via* des liaisons hydrogène avec la fonction malonylurée de la sonde TPA-BARB. Pour évaluer la capacité de la sonde TPA-BARB à détecter la présence de l'atrazine, cette dernière a été placée à une concentration de 0,89 μM dans le dichlorométhane puis l'herbicide a été progressivement introduit dans la solution. L'absorption augmente mais ceci est dû en partie à la contribution du pied de bande d'absorption de l'atrazine dont le maximum est à 270 nm. La deuxième cause de cette augmentation de l'absorption est la formation d'agrégats plus diffusants qui rend difficile les mesures. Les spectres d'émission de fluorescence présentés ci-dessous ne sont ainsi pas corrigés. L'atrazine entraîne une augmentation de la fluorescence de 18 %.

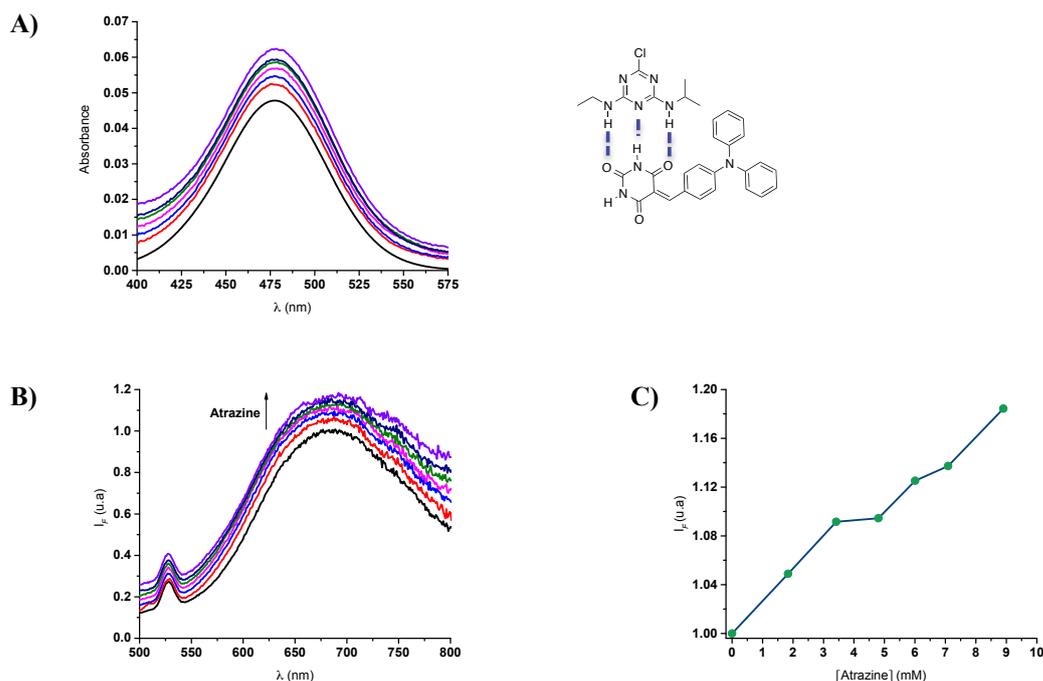


Figure 2- 65 : A) Spectres d'absorption de la sonde TPA-BARB (*en noir*) ([TPA-BARB] = 0,89 μ M) après ajouts d'atrazine dans le DCM, B) spectres d'émission de fluorescence correspondants, $\lambda_{exc} = 455$ nm, C) évolution de l'intensité de fluorescence à 692 nm en fonction de la concentration en atrazine.

Les effets sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB des produits de désalkylation de l'atrazine DEAT et DIAT ont ensuite été mesurés dans le dichlorométhane. En présence de DIAT, l'absorption augmente un peu et la bande d'absorption initialement à 478 nm subit un déplacement bathochrome de 5 nm pour se situer à 483 nm à la fin des ajouts. Les modifications sont plus importantes au niveau de la fluorescence. En effet, l'intensité de la fluorescence à 692 nm est de plus en plus faible quand la concentration en DIAT augmente. Pour une concentration en DIAT de 6,22 mM, la fluorescence est éteinte de 26 % et n'évolue plus. En effet, un plateau est atteint et une constante d'association a pu être établie :

$$\log K_{11} = 2,41 \pm 0,03$$

Cette constante caractérise la formation d'un complexe de stœchiométrie 1 : 1 entre la sonde TPA-BARB et le produit de dégradation de l'atrazine DIAT. La sonde TPA-BARB semble ainsi sensible à la formation de liaisons hydrogène avec cet herbicide. La valeur de la constante d'association est très proche de la constante obtenue entre la sonde MaleOMe et la mélamine MA2 mais également de celle calculée entre la sonde DMAP-BARB et les deux produits de dégradation de l'atrazine.

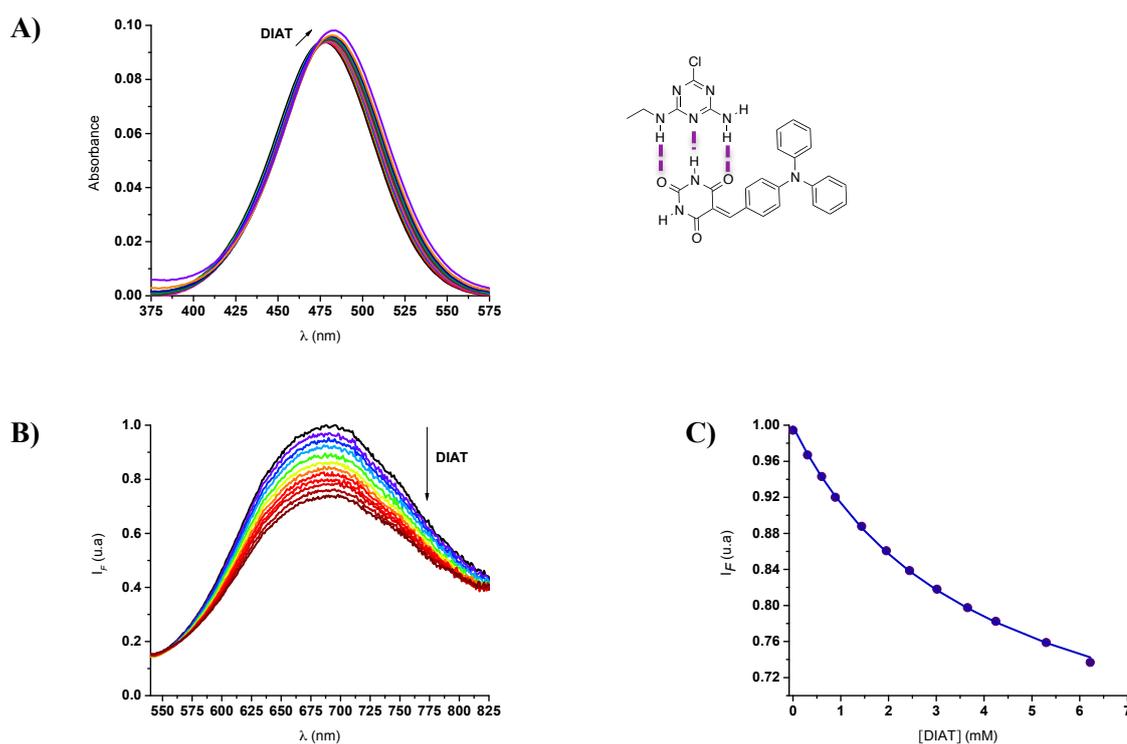


Figure 2- 66 : A) Spectres d'absorption de la sonde TPA-BARB (*en noir*) ([TPA-BARB] = 1,70 μ M) après ajouts de DIAT dans le DCM, B) spectres d'émission de fluorescence correspondants, $\lambda_{exc} = 455$ nm, C) évolution de l'intensité de fluorescence à 689 nm en fonction de la concentration en DIAT (fit en ligne continue).

Le produit de dégradation de l'atrazine DEAT influe également sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB dans le dichlorométhane. La concentration en sonde utilisée pour le dosage est 1,74 μ M et l'excitation se fait à 455 nm. Les effets sont similaires au produit DIAT : une légère augmentation de l'absorption et une diminution de la fluorescence. L'extinction de la fluorescence est de 18 % pour une concentration en DEAT de 6,62 mM. L'analyte DEAT provoque une diminution un peu plus faible que l'analyte DIAT. Ces analytes induisent pour ces sondes un effet plus important que l'atrazine, comme nous l'avons observé précédemment pour les autres sondes.

La constante d'association entre la sonde TPA-BARB et DEAT est un peu plus petite que celle précédemment calculée pour DIAT :

$$\log K_{11} = 2,25 \pm 0,09$$

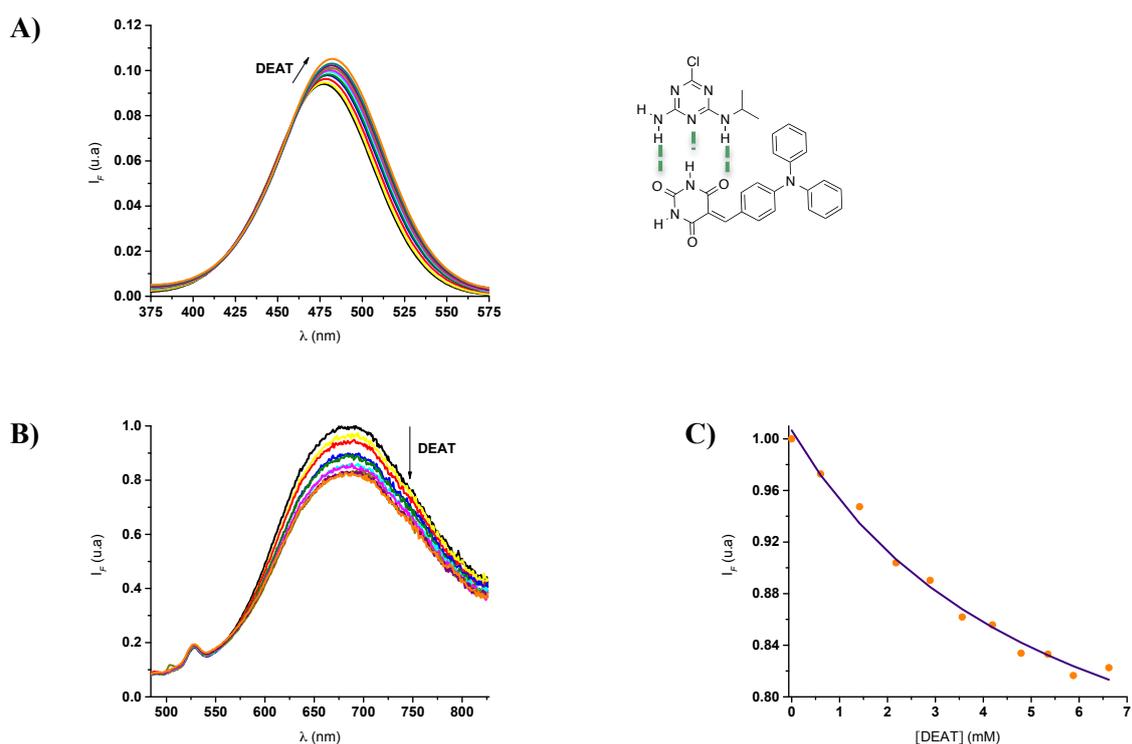


Figure 2- 67 : A) Spectres d'absorption de la sonde TPA-BARB (*en noir*) ([TPA-BARB] = 1,74 μ M) après ajouts de DEAT dans le DCM, B) spectres d'émission de fluorescence correspondants, $\lambda_{exc} = 455$ nm, C) évolution de l'intensité de fluorescence à 685 nm en fonction de la concentration en DEAT (fit en ligne continue).

➤ Etude avec les dérivés de la mélamine

La sonde TPA-BARB a ensuite été testée pour la détection des dérivés de mélamine MA1 et MA2. L'étude de l'interaction entre la mélamine MA1 et la sonde TPA-BARB a été réalisée dans le dichlorométhane à une concentration en sonde de 1,83 μ M en effectuant des ajouts croissants de mélamine MA1. La sonde seule émet à 692 nm. La mélamine MA1 influe d'une part sur le spectre d'absorption et d'autre part sur le spectre d'émission de fluorescence. En effet, l'absorption à 478 nm chute progressivement. Pour une concentration en MA1 de 7,86 mM, l'absorption baisse de 70 % et la bande d'absorption subit un déplacement bathochrome de + 5 nm. Celle-ci se situe alors à 483 nm. Il est à noter qu'un point isobestique est observé à 407 nm, ce qui permet d'établir qu'il y a un équilibre entre deux espèces.

L'influence de la mélamine MA1 sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB est également importante. Au fur et à mesure des ajouts, une nouvelle bande fluorescente d'intensité plus élevée apparaît à 531 nm, soit un décalage de 161 nm. Cette augmentation se poursuit sans atteindre de plateau. Quand la concentration en MA1 est de 7,86 mM, l'intensité

de fluorescence à 531 nm est multipliée par un facteur 35, comme l'indique la figure 2-68 ci-dessous.

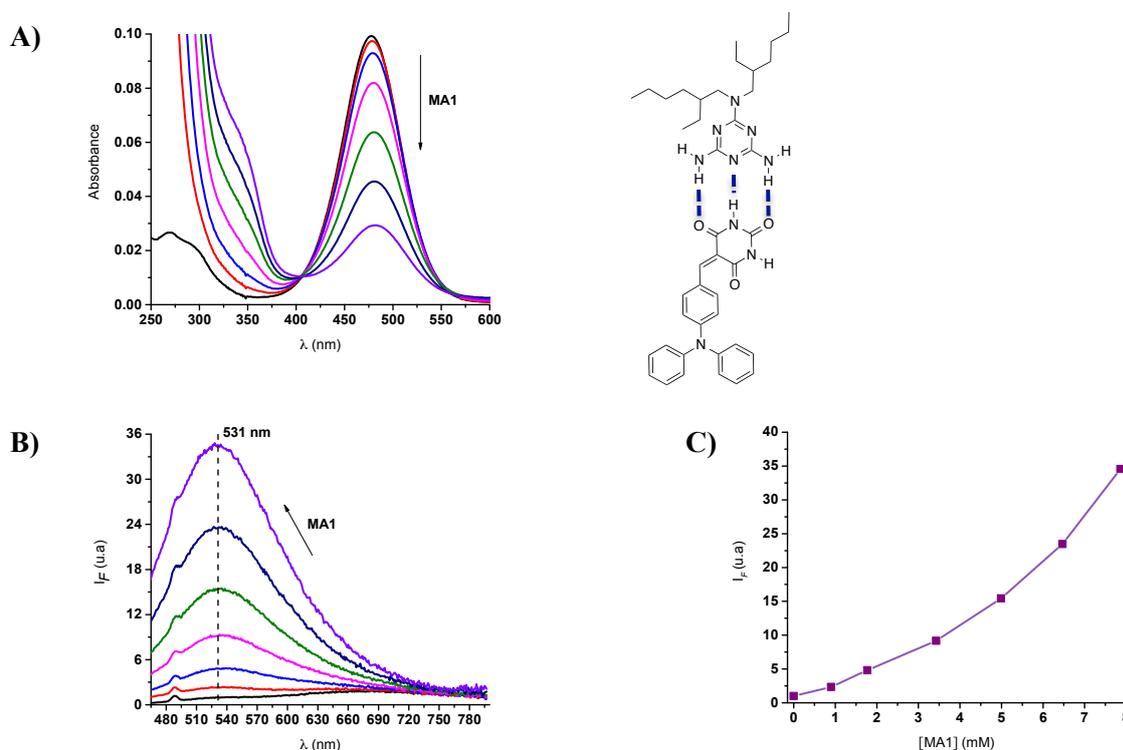


Figure 2- 68 : A) Spectres d'absorption de la sonde TPA-BARB (*en noir*) ([TPA-BARB] = 1,83 μ M) après ajouts de MA1 dans le DCM, B) spectres d'émission de fluorescence corrigés correspondants, λ_{exc} = 426 nm, C) évolution de l'intensité de fluorescence à 531 nm en fonction de la concentration en MA1.

La sonde TPA-BARB interagit ainsi avec la mélamine MA1 de façon à former une entité beaucoup plus fluorescente. Etant donné les grandes modifications de la fluorescence, nous pouvons supposer que la liaison hydrogène joue un rôle mais que d'autres interactions entrent en jeu telles que les interactions CH- π avec la participation des groupements éthylhexylamines de la mélamine et les groupements aromatiques de la sonde. Bien que les groupements phényles de la sonde TPA-BARB soient décalés les uns par rapport aux autres sous la forme d'une hélice, il n'est pas à exclure que ces derniers soient également impliqués dans des interactions π - π . En effet, les cycles azotés de la mélamine MA1 et le groupement triphénylamine de la sonde pourraient s'empiler les uns au-dessus des autres. L'ensemble de ces interactions conduirait ainsi à la formation d'un assemblage supramoléculaire très étendu. La formation de cet assemblage bloque probablement la rotation de la liaison entre le groupement triphénylamine et le groupement malonylurée ce qui diminue les voies de désexcitation non radiative et conduit au phénomène d'AIE, déjà reporté pour des composés

de structures similaires⁵⁷. Le décalage vers le bleu de l'émission pourrait aussi être dû à l'environnement très hydrophobe qui s'est mis en place autour de la sonde.

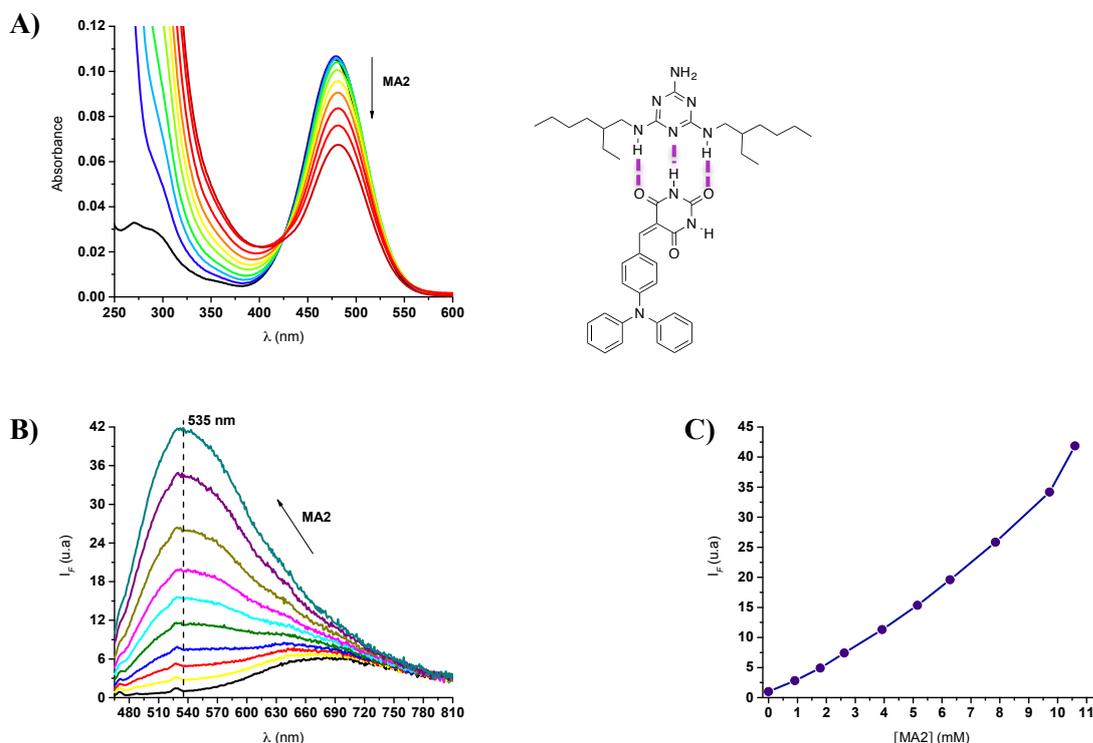


Figure 2- 69 : A) Spectres d'absorption de la sonde TPA-BARB (*en noir*) ([TPA-BARB] = 1,94 μ M) après ajouts de MA2 dans le DCM, B) spectres d'émission de fluorescence et corrigés correspondants, λ_{exc} = 455 nm, C) évolution de l'intensité de fluorescence à 535 nm en fonction de la concentration en MA2.

La figure 2-69 ci-dessus montre les effets sur l'absorption et la fluorescence de la sonde TPA-BARB exercés par la mélamine MA2. La sonde TPA-BARB a été placée à une concentration de 1,96 μ M dans le dichlorométhane. Le premier ajout de mélamine entraîne une légère augmentation de l'absorption à 478 nm mais les ajouts de MA2 suivants conduisent à une diminution de l'absorption. Cette diminution est moins importante que celle induite par la mélamine MA1. En effet, pour une concentration en mélamine MA2 de 6,28 mM la diminution est de 14 % tandis qu'elle est de 54 % pour MA1 à une concentration très proche de 6,47 mM. De plus, un point isobestique est aussi observé cette fois-ci à 426 nm au lieu de 407 nm pour la mélamine MA1.

Une nouvelle bande beaucoup plus fluorescente apparaît également en présence de mélamine à 535 nm, soit un décalage de 157 nm vers le bleu de l'émission. Nous observons ainsi une émission similaire pour les deux mélatamines. Bien que les effets de MA2 sur l'absorption soient un peu moins prononcés que MA1, l'exaltation de la fluorescence est aussi importante. Quand nous nous plaçons aux concentrations précédemment citées pour les deux

mélamines ($[MA1] = 6,47 \text{ mM}$ et $[MA2] = 6,28 \text{ mM}$), l'intensité de fluorescence au niveau de la nouvelle bande d'émission est multipliée par 23 pour la mélamine MA1 et par 20 pour la mélamine MA2. La figure suivante 2-70 compare les effets des deux mélamines MA1 et MA2 sur la fluorescence de la sonde TPA-BARB.

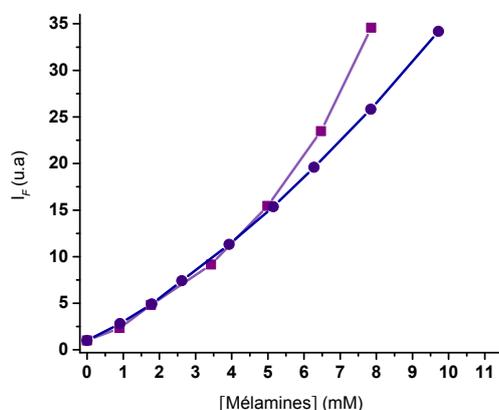
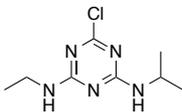
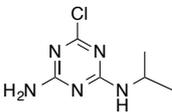
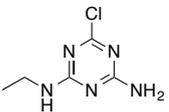
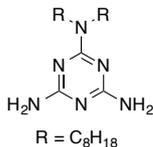
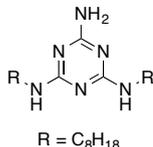
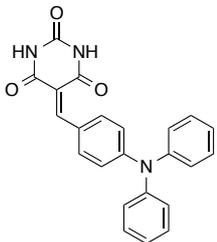


Figure 2- 70 : Comparaison des effets sur la fluorescence de TPA-BARB en fonction de la concentration de MA1 (carrés roses) ou de MA2 (ronds violets).

Le tableau suivant 2-30 résume les effets des analytes sur la fluorescence des dérivés de l'acide barbiturique.

Tableau 2- 30 : Effets des divers analytes sur la fluorescence de TPA-BARB.

	Atrazine 	DEAT 	DIAT 	MA1  R = C ₈ H ₁₈	MA2  R = C ₈ H ₁₈
TPA-BARB 	Formation d'agrégats diffusants	I_F $\Downarrow\Downarrow$ λ_{em} \nearrow (+ 1 nm) λ_{abs} \nearrow (+ 4 nm)	I_F $\Downarrow\Downarrow$ λ_{em} \nearrow (+ 2 nm) λ_{abs} \nearrow (+ 3 nm)	I_F $\nearrow\nearrow$ λ_{em} $\Downarrow\Downarrow$ (- 161 nm) λ_{abs} \nearrow (+ 4 nm)	I_F $\nearrow\nearrow$ λ_{em} $\Downarrow\Downarrow$ (- 157 nm) λ_{abs} \nearrow (+ 4 nm)

Des mesures de durée de vie de fluorescence ont été effectuées pour caractériser l'entité fluorescente formée en présence de la mélamine MA1 et l'influence de cette dernière sur la photophysique de la sonde TPA-BARB. Les mesures ont été réalisées dans le dichlorométhane (voir figure 2-71). Une solution contenant la sonde TPA-BARB à une

concentration de 1,83 μM a été préparée puis la mélamine MA1 y a été ajoutée en fort excès ($[\text{MA1}] = 34,5 \text{ mM}$).

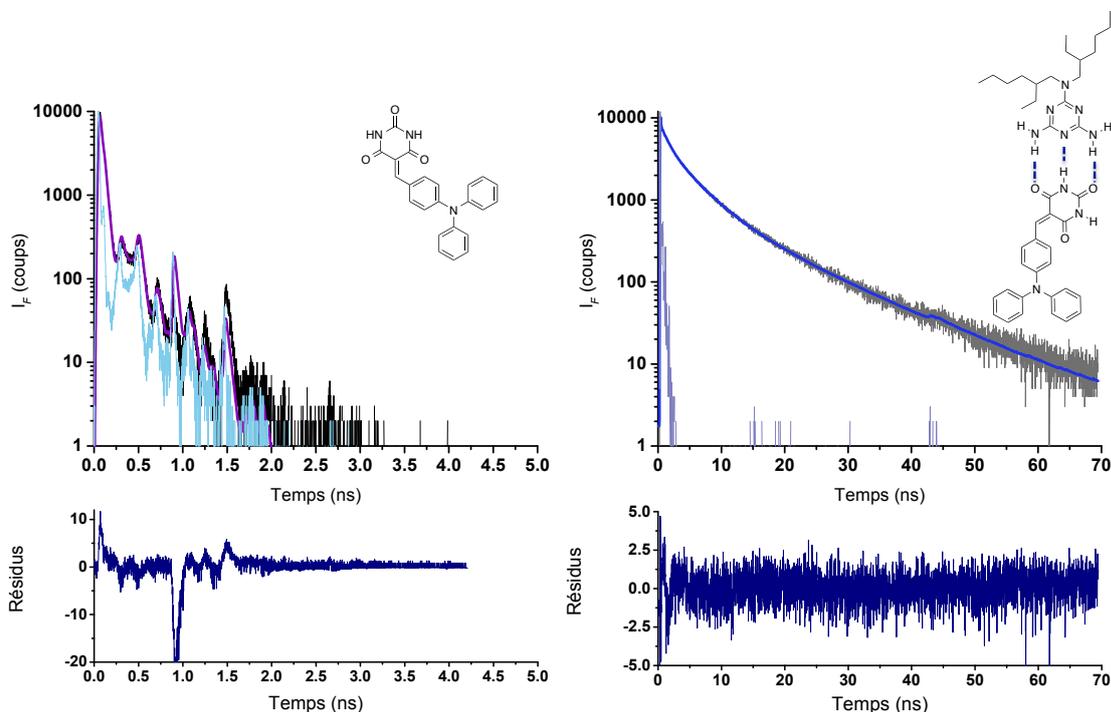


Figure 2- 71 : *A gauche :* Déclins de fluorescence de la sonde TPA-BARB ($\lambda_{\text{exc}} = 450 \text{ nm}$) dans le dichlorométhane, *à droite :* déclin de fluorescence de la sonde TPA-BARB en présence de mélamine MA1 ($\lambda_{\text{exc}} = 450 \text{ nm}$) dans le dichlorométhane.

En raison du très faible rendement quantique de la sonde TPA-BARB, la durée de vie a été difficile à mesurer. Toutefois, celle-ci a pu être estimée inférieure à 0,03 ns. En présence de la mélamine MA1, quatre composantes de temps entre 0,12 ns et 12,46 ns sont nécessaires pour ajuster le déclin de fluorescence. La composante de temps qui apporte une plus forte contribution (44,3 %) est celle de 0,12 ns tandis que la plus longue a un poids relatif de 6,4 % (voir tableau 2-31). Deux composantes de temps de 1,05 ns et de 4,19 ns sont également à prendre en compte pour donner une durée de vie moyenne de 6,74 ns. Ceci semble indiquer la présence de plusieurs espèces émissives. L'association avec la mélamine permet d'avoir une espèce plus fluorescente qui présente une durée de vie plus longue que la sonde TPA-BARB seule. Cela est en accord avec notre hypothèse émise un peu plus haut dans le manuscrit, à savoir que l'interaction avec la mélamine diminue la liberté conformationnelle de la sonde TPA-BARB ce qui limite les voies de désexcitation non radiatives. La photophysique de la sonde TPA-BARB est ainsi modifiée en présence de mélamine MA1 ce qui prouve l'existence d'interactions fortes.

Tableau 2- 31 : Caractéristiques de l'émission de fluorescence de la sonde TPA-BARB dans le dichlorométhane en présence de la mélamine MA1 : durée de vie de fluorescence τ , poids relatif des durées de vie α , constante de vitesse radiative k_r , constante de vitesse non radiative k_{nr} .

	τ (ns)	α (%)	χ^2
TPA-BARB ^a	0,0326		8,45
TPA-BARB + MA1 ^a	12,46	6,4	1,15
	4,19	26,9	
	1,05	22,3	
	0,12	44,3	

^a $\lambda_{exc} = 450 \text{ nm}$

La capacité des sondes fluorescentes synthétisées à détecter les divers analytes a ainsi été évaluée. Les sondes naphthalimides se sont révélées les moins sensibles à la présence des différents analytes que ce soit l'atrazine et ses produits de dégradation ou les dérivés de la mélamine. La sonde maléimide MaleOMe permet quant à elle la détection des dérivés de la mélamine car ces derniers induisent une diminution significative de la fluorescence.

Concernant les dérivés de l'acide barbiturique, la sonde DMAP-BARB voit sa fluorescence affectée en présence de tous les analytes mais le manque de photostabilité empêche son utilisation en tant que capteur fluorescent. La sonde TPA-BARB est la sonde qui a montré le plus de résultats prometteurs. En effet, les analytes DEAT et DIAT induisent une baisse de l'intensité de fluorescence suffisamment importante pour permettre leur détection. Par ailleurs, d'importants effets sur l'absorption et sur la fluorescence sont observés en présence des dérivés de la mélamine MA1 et MA2. L'origine de ces perturbations est probablement la formation d'un réseau supramoléculaire très étendu reposant sur des liaisons hydrogène mais également sur des interactions CH- π et π - π entre les cycles aromatiques des dérivés de mélamine et le groupement triphénylamine. Le phénomène d'AIE peut être également responsable de l'exaltation de la fluorescence. Il est à noter que les analytes DEAT et DIAT ne conduisent pas à la formation d'agrégats. Par conséquent, l'absence de longues chaînes alkyles apparaît rédhibitoire pour la formation d'assemblages supramoléculaires.

De plus, la présence d'un groupement $-NH_2$ sur le cycle triazine à la place de l'atome de chlore pour l'atrazine et ses produits de dégradation modifie la configuration électronique ce qui peut perturber la fluorescence des sondes *in fine*. Les longues chaînes alkyles hydrophobes des dérivés de la mélamine peuvent également jouer un rôle sur la modification de la fluorescence. Il serait intéressant d'étudier l'influence sur l'émission de l'intermédiaire de synthèse de MA2, dont la structure est présentée ci-dessous. Cela nous permettra d'établir quel est le paramètre le plus déterminant.

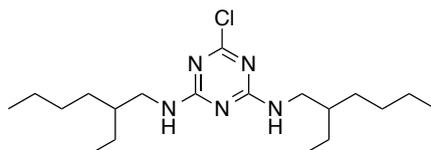


Figure 2- 72 : Structure de l'intermédiaire de synthèse 68.

Par ailleurs, des études supplémentaires de microscopie de fluorescence ont été réalisées afin d'observer les agrégats formés entre TPA-BARB et MA1.

2.2.8) Etude de surface avec la sonde TPA-BARB

Ces études préliminaires ont pu être réalisées au laboratoire PPSM en collaboration avec Jean-Frédéric Audibert et Galina Dubacheva. Nous avons préparé deux solutions dans le dichlorométhane : la première comprenant la sonde TPA-BARB seule ([TPA-BARB = 98,6 μ M]) et la deuxième comprenant un mélange de sonde et de mélamine MA1 ([TPABARB = 98,6 μ M], [MA1] = 98 μ M). Nous avons ensuite déposé des gouttes de ces solutions sur des lames de verre :

- le **dépôt A** correspond à la solution de sonde TPA-BARB seule
- le **dépôt B** provient de la solution contenant la sonde et la mélamine MA1

Après séchage à l'air libre des dépôts, nous les avons observés à l'aide d'un microscope de fluorescence.

La figure 2-73 suivante montre les images des dépôts A et B. Le dépôt A montre des structures en forme d'aiguilles de l'ordre de la dizaine de micromètres (provenant de la cristallisation de la sonde) alors que le dépôt B met en évidence la présence d'objets ronds environ deux fois plus gros. Une telle différence de structure entre les deux dépôts apporte une preuve supplémentaire que l'association par liaisons hydrogène entre la sonde TPA-BARB et la mélamine MA1 aboutit à la construction d'un assemblage supramoléculaire.

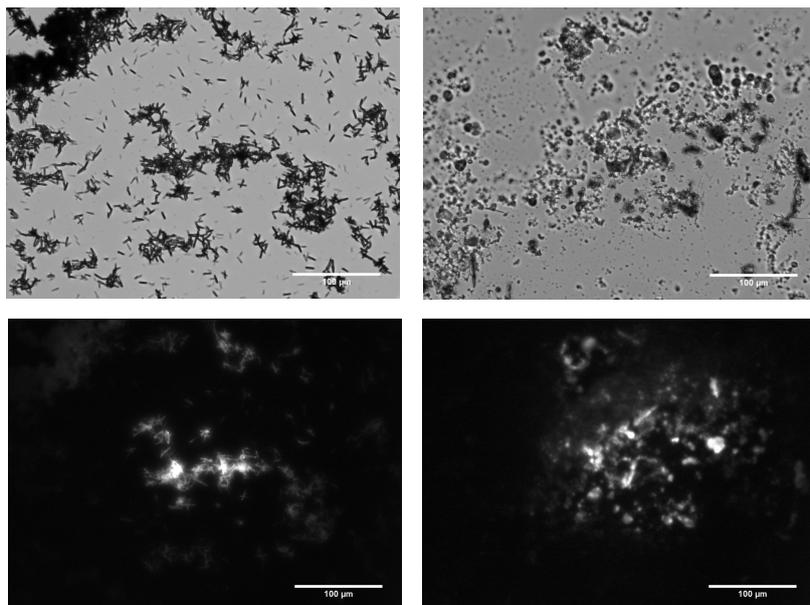


Figure 2- 73 : A gauche : morphologie des agrégats après séchage et image obtenue par microscopie de fluorescence du dépôt A (les zones blanches représentent les entités émissives), à droite : morphologie des agrégats après séchage et image obtenue par microscopie de fluorescence du dépôt B, $\lambda_{exc} = 345$ nm.

La figure 2-74 représente les spectres d'émission de fluorescence obtenus avec le microscope. Ces derniers semblent indiquer que nous observons le même phénomène en solution qu'à l'état solide, à savoir la formation d'assemblages supramoléculaires. En effet, la sonde TPA-BARB seule déposée sur la lame de verre émet à 613,5 nm alors qu'en présence de la mélamine MA1, une bande moins intense apparaît à 487,5 nm, soit un décalage de 126 nm vers le bleu. En solution dans le dichlorométhane, les émissions de la sonde seule et de la sonde associée à MA1 ont été mesurées respectivement à 692 nm et à 531 nm. Si la différence d'intensité de fluorescence mesurée entre les deux échantillons n'est pas complètement élucidée, l'apparition d'une nouvelle bande fluorescente décalée de 126 nm vers le bleu prouve que les agrégats que nous observons au microscope sont très similaires à ceux que nous avons formés lors des études en solution.

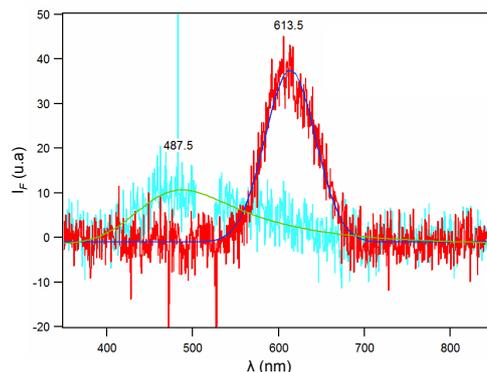


Figure 2- 74 : Spectres d'émission de fluorescence enregistrés par le microscope de fluorescence du dépôt A (en rouge, fit en ligne bleue) et du dépôt B (en bleu clair, fit en ligne verte), $\lambda_{exc} = 345$ nm.

Les durées de vie moyenne de fluorescence ont ensuite été enregistrées et évaluées à 1,63 ns pour la sonde TPA-BARB (dépôt A) et à 1,22 ns pour la sonde associée à la mélamine MA1 (dépôt B), ce qui est relativement différent de ce que nous avons mesuré en solution dans le dichlorométhane (la durée de vie moyenne en solution est de 6,74 ns). La sonde TPA-BARB se situe en effet dans un autre environnement qui modifie sa photophysique.

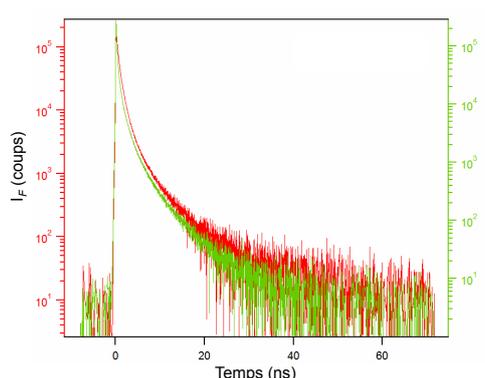


Figure 2- 75 : Déclins de fluorescence des dépôts de la sonde TPA-BARB seule (en rouge) et en présence de la mélamine MA1 (en vert), $\lambda_{exc} = 345$ nm.

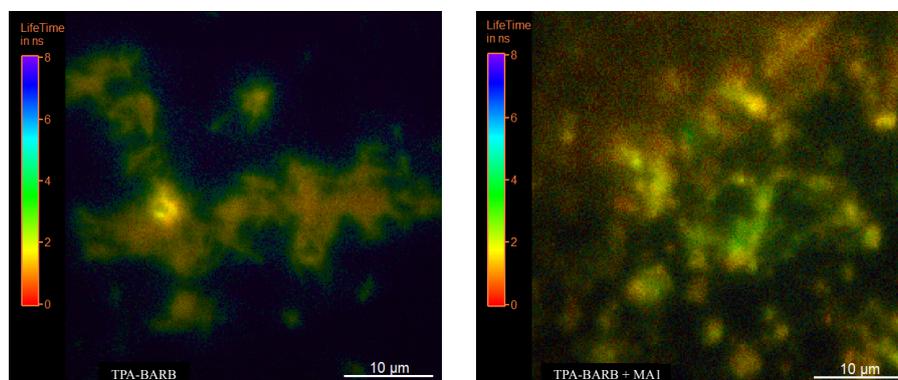


Figure 2- 76 : A gauche : images obtenues avec le microscope de fluorescence du dépôt A (les zones colorées représentent les durées de vies), à droite: images obtenues avec le microscope de fluorescence du dépôt B, $\lambda_{exc} = 345$ nm.

Comme l'indique la figure 2-76 ci-dessus, les zones émissives possèdent des durées de vie très proches ce qui indique que les dépôts réalisés sont relativement homogènes. La méthode utilisée semble donc adaptée pour déposer les échantillons de sonde TPA-BARB et de mélamine MA1 et pour pouvoir les observer par la suite.

Les échantillons ont ensuite été étudiés par microscopie à force atomique (voir figure 2-77). Les zones observées ne comportent pas d'agrégats visibles à l'œil. Cette technique a confirmé la différence de structure entre les deux dépôts : le dépôt A est constitué d'objets assez gros alors que le dépôt B se présente sous la forme d'un film (les taches plus foncées sont des perforations du film).

Nous pouvons émettre l'hypothèse suivante : en solution, les molécules de MA1 peuvent s'organiser sous la forme de micelles avec leur cycle aromatique positionnés au cœur de la micelle et les longues chaînes alkyles hydrophobes dirigées vers l'extérieur. La liaison hydrogène favoriserait dans un premier temps l'interaction entre la sonde TPA-BARB et le dérivé de mélamine MA1 puis les interactions hydrophobes (π - π et CH- π) imposeraient la structure finale des agrégats. La sonde TPA-BARB s'intercalerait dans les micelles de mélamine MA1.

Une fois les agrégats déposés sur la lame de verre, cela pourrait désagréger les micelles. Les molécules de MA1 se placeraient les unes à côté des autres en interagissant avec la lame de verre *via* leur cycle aromatique. Il faut prendre en compte la nature de la surface sur laquelle sont effectués les dépôts : dans notre cas, il s'agit d'une lame de verre hydrophile qui interagit préférentiellement avec des molécules de même nature.

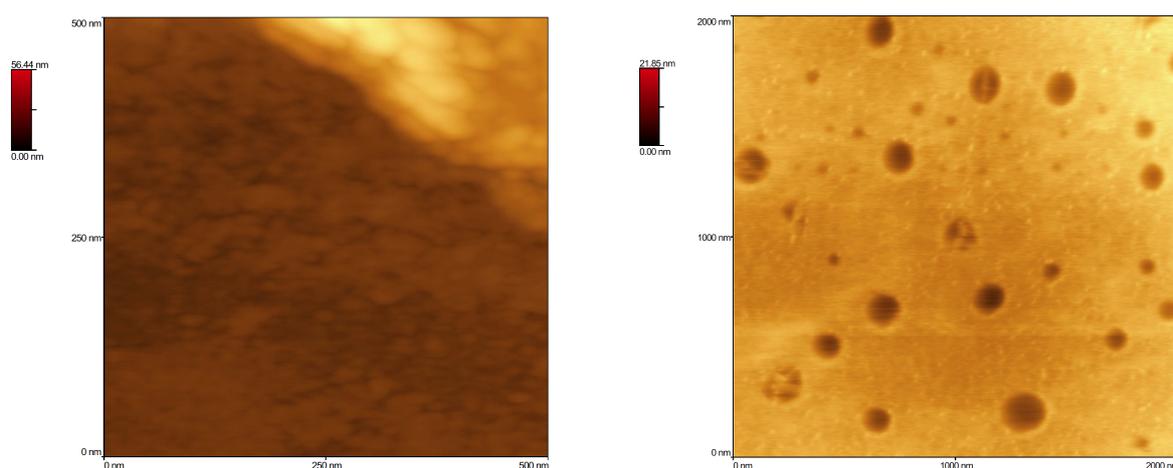


Figure 2- 77 : *A gauche* : image obtenue par microscopie à force atomique du dépôt A, *à droite* : image obtenue par microscopie à force atomique du dépôt B.

Il serait intéressant de tester une surface hydrophobe afin d'étudier l'influence de la surface sur les assemblages supramoléculaires formés.

III) Intégration des sondes dans un calix[4]arène

Après avoir réalisé des études approfondies sur les diverses sondes fluorescentes synthétisées au laboratoire, il est apparu que les effets photophysiques induits par les analytes n'étaient pas suffisamment importants pour permettre leur détection, malgré l'existence de liaisons hydrogène entre les deux entités. La sonde TPA-BARB est celle qui a montré le plus de résultats satisfaisants. Celle-ci montre une réponse fluorescente remarquable en présence de dérivés de mélamine en raison de la formation d'un assemblage supramoléculaire. De plus, elle voit sa fluorescence diminuée avec les produits de dégradation de l'atrazine DEAT et DIAT.

Toutefois, les sondes naphthalimides se sont révélées peu sensibles à la présence des divers analytes. En effet, dans certains cas, la fluorescence n'est pas modifiée alors que dans d'autres cas elle ne cesse de fluctuer ce qui ne permet pas d'avoir une réponse que l'on peut rationaliser. Une autre stratégie a alors été adoptée afin d'aboutir à un système fluorescent permettant la détection des analytes cibles et plus particulièrement de l'atrazine.

Comme nous l'avons vu dans le **chapitre 1**, les récepteurs macrocycliques tels que les calixarènes constituent des récepteurs efficaces et offrent de nombreux avantages tels que la préorganisation du système. En effet, le fait d'avoir une cavité hydrophobe déjà formée favorise l'interaction avec une molécule apolaire comme l'atrazine et ainsi son encapsulation.

Notre stratégie a été d'intégrer deux sondes naphthalimides dans un calix[4]arène afin d'évaluer si la présence d'une cavité permet d'avoir une meilleure interaction avec l'analyte et conduit de fait à des effets photophysiques significatifs. La figure 2-78 rappelle les structures des molécules cibles envisagées.

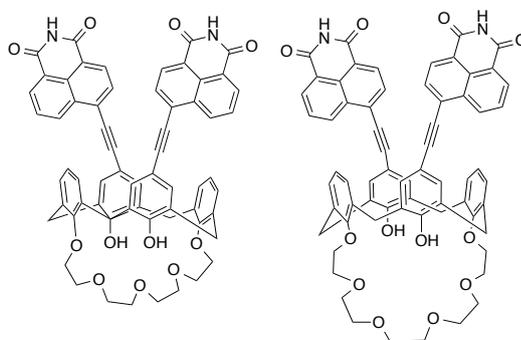


Figure 2- 78 : Structure du calix[4]arène envisagé pour la détection des triazines.

De plus, le fait d'avoir deux sondes naphthalimides à proximité peut induire des effets photophysiques supplémentaires. Les cycles aromatiques des sondes naphthalimides pourront notamment interagir avec l'analyte *via* des interactions π - π et CH- π en plus des interactions par liaisons hydrogène *via* leur fonction imide.

3.1) Conception, synthèse et étude de la sonde modèle

3.1.1) Synthèse de la sonde modèle Naphth-AlcyneOH

Cette partie traite de la synthèse d'une nouvelle sonde Naphth-AlcyneOH qui servira de composé modèle au calix[4]arène final. Elle comporte un lien alcyne et un groupement phénol donneur. Elle peut être obtenue à partir d'un couplage de Sonogashira entre un naphthalimide fonctionnalisé par un alcyne vrai que nous nommerons Naphth-AlcyneH et une molécule de iodophénol.

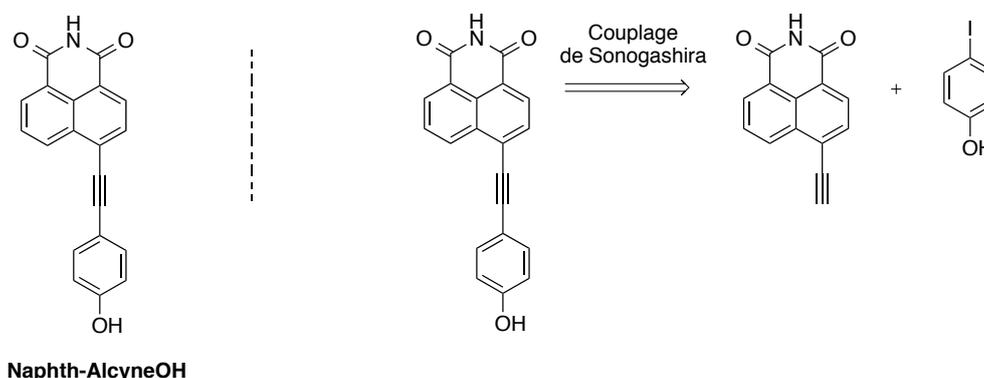


Figure 2- 79 : Structure du composé modèle Naphth-AlcyneOH et sa rétrosynthèse.

➤ Synthèse de Naphth-AlcyneH

Afin de synthétiser Naphth-AlcyneH, une première voie de synthèse a été envisagée. La molécule de Naphth-AlcyneH peut s'obtenir à partir d'une réaction d'addition-élimination sur l'anhydride correspondant. L'alcyne vrai de cet anhydride est issu de la déprotection de l'alcyne silylé correspondant. Enfin ce dérivé est formé après un couplage entre la molécule commerciale d'anhydride 4-bromo-1,8-naphthalique et la molécule d'éthynyltriméthylsilane.

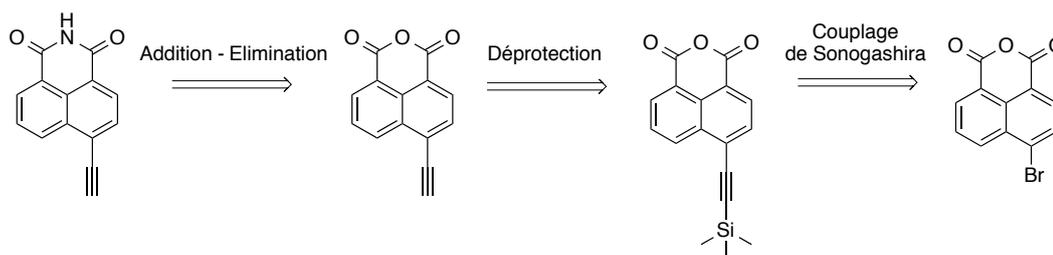


Figure 2- 80 :Rétrosynthèse de Naphth-AlcyneH.

Un couplage de Sonogashira a ainsi été effectué dans un premier temps avec l'éthynyltriméthylsilane dans le THF à température ambiante pendant 5 h. Le produit de couplage silylé **76** a ainsi été obtenu avec un rendement de 80 %. L'étape de déprotection de la fonction silyle à l'aide du fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) dans le méthanol n'a pas fonctionné et conduit à la dégradation du composé.

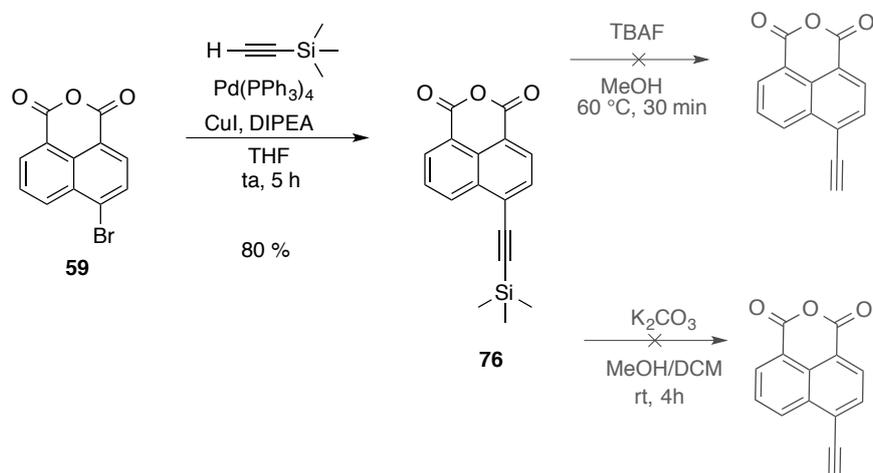


Schéma 2- 12 : Voie de synthèse n°1.

Une autre méthode de déprotection a ensuite été testée avec 0,3 éq. de carbonate de potassium dans un mélange MeOH/DCM = 2 : 1 mais celle-ci dégrade aussi le composé silylé. L'utilisation de 0,35 éq. de carbonate de potassium dans le méthanol 1 h au reflux a été également infructueuse. L'anhydride étant sujet à l'estérification, nous avons décidé de protéger cette fonction en la transformant en imide puis de déprotéger la fonction silyle.

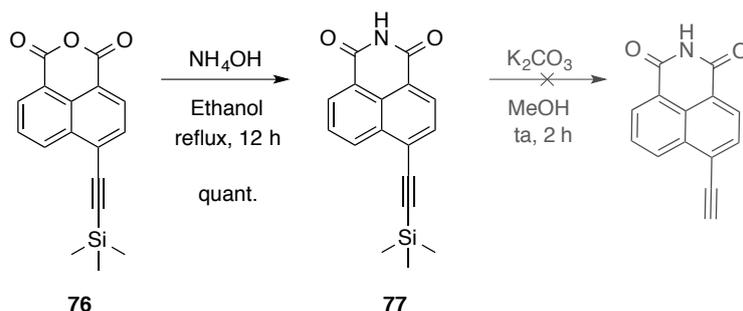


Schéma 2- 13 : Voie de synthèse n°2.

La réaction d'addition-élimination en présence d'ammoniaque dans laquelle est engagé l'anhydride silylé est quantitative. Elle est réalisée dans l'éthanol au reflux pendant 12 h. La méthode de déprotection par le carbonate de potassium dans le méthanol n'a pas fonctionné non plus à partir de l'imide. Nous avons envisagé de le protéger avec un groupement *para*- méthoxyphényle (PMP). Pour cela, la 4-méthoxyaniline est engagée dans une réaction d'addition-élimination dans l'éthanol au reflux afin de former quantitativement

l'imide protégé **78**. Il est alors possible de déprotéger la fonction silyle avec le carbonate de potassium dans le méthanol. La déprotection de ce groupement PMP permet en principe d'aboutir à la sonde Naphth-AlcyneH désirée mais les deux méthodes testées n'ont pas fonctionné. En effet, ni le nitrate de cérium et d'ammonium ni l'acide trifluoroacétique n'ont permis de déprotéger ce groupement.

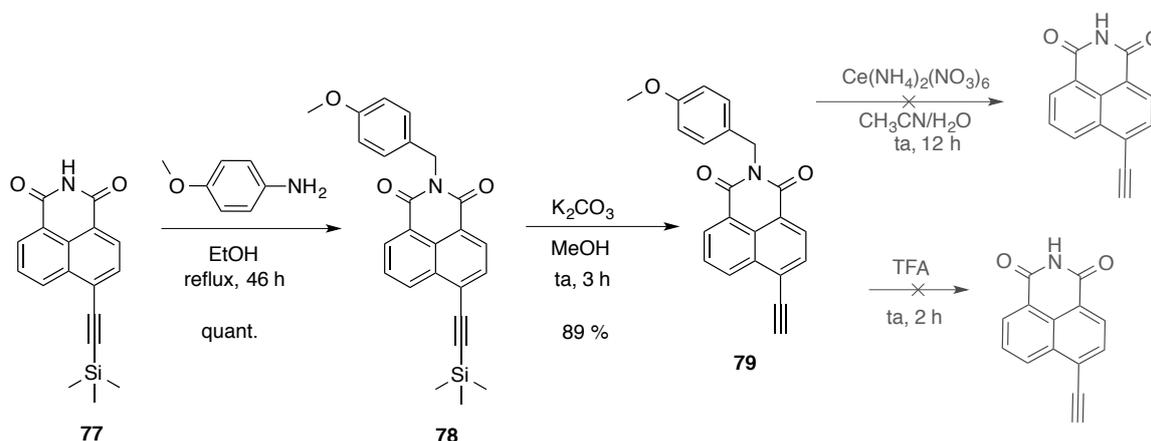


Schéma 2- 14 : Voie de synthèse n°3.

Nous avons donc changé de groupement protecteur et choisi le *tert*-butoxycarbone (Boc). Le groupement Boc a ainsi été introduit quantitativement par une réaction de substitution nucléophile avec l'imide silylé en présence de DMAP dans l'acétonitrile. La déprotection du groupement silyle s'effectue également de manière quantitative à l'aide du carbonate de potassium. Enfin, le clivage du groupement Boc à l'aide d'un mélange DCM/TFA = 2 : 1 a permis de former la sonde Naphth-AlcyneH avec un rendement de 38 %. 5 étapes sont donc nécessaires pour obtenir ce composé qui est destiné à être engagé dans un couplage de Sonogashira avec l'iodophénol pour former le composé modèle Naphth-AlcyneOH.

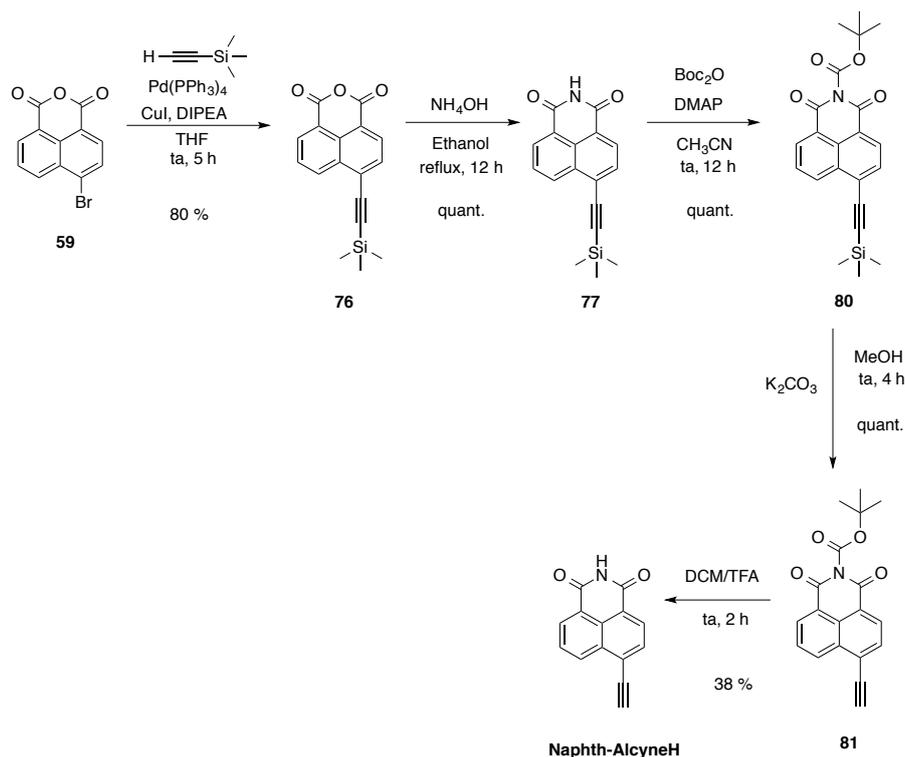


Schéma 2- 15 : Voie de synthèse n°4.

Cette voie de synthèse n°4 a été reproduite en augmentant lors de la deuxième étape la concentration du naphthalimide d'environ deux fois par rapport aux réactions d'additions nucléophiles réalisées au cours de cette thèse.

Tableau 2- 32 : Conditions utilisées pour la réaction d'addition-élimination.

R	Temps de réaction	Concentration naphthalimide	Rendement
	24 h	37 mM	Quant.
	20 h	30 mM	Quant.
	12 h	34 mM	Quant.
	12 h	63 mM	70 % imide désilylé

L'étape d'addition-élimination à l'aide de l'ammoniaque et la désilylation de l'alcyne se font alors dans la même étape ce qui conduit à la formation de la sonde Naphth-AlcyneH avec un rendement de 70 %. Il est alors possible de s'affranchir de l'étape de protection/déprotection de l'imide.

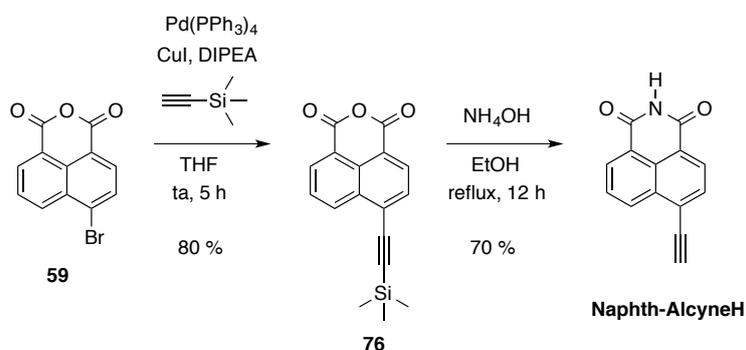
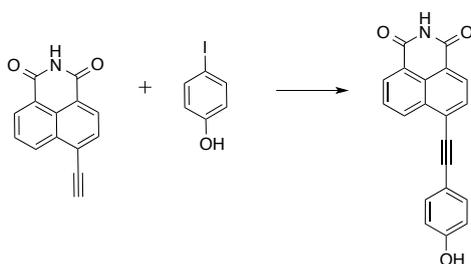


Schéma 2- 16 : Voie de synthèse n°5.

➤ Optimisation des conditions de couplage avec l'iodophénol

Différentes conditions de couplage pour la réaction de Sonogashira ont ensuite été testées avec Naphth-AlcyneH et l'iodophénol afin de réaliser le couplage avec le calix[4]arène dans des conditions optimales.

Tableau 2- 33 : Conditions testées pour le couplage de Sonogashira entre Naphth-AlcyneH et l'iodophénol.



	Conditions 1 ⁶⁶	Conditions 2 ⁶⁷	Conditions 3 ⁶⁸	Conditions 4 ⁶⁹
Iodophénol	2 éq.	1 éq.	1 éq.	2 éq.
Complexe de palladium	0,1 éq. PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	0,1 éq. PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	0,03 éq. Pd(PPh ₃) ₄	0,05 éq. PdCl ₂ (PPh ₃) ₂
Agent réducteur	-	-	0,06 éq. d'ascorbate de sodium	-
Co-catalyseur	0,2 éq. CuI	0,2 éq. CuI	0,01 éq. CuSO ₄ .5H ₂ O	0,15 éq. CuI
Base	NEt ₃	NEt ₃	NEt ₃	iPr ₂ NH
Solvant	NEt ₃	DMF	DMF	Toluène
Température/temps de réaction	ta, 12 h	ta, 12 h	80 °C, 4 h	50 °C, 19 h
Rendement	9 %	24 %	31 %	30 %

Dans un premier temps, nous avons repris les conditions classiques de la réaction de Sonogashira, à savoir l'utilisation du complexe de palladium PdCl₂(PPh₃)₂ en tant que catalyseur et du sel de cuivre CuI en tant que co-catalyseur. Les conditions réactionnelles n°2 nécessitent l'utilisation de DMF comme solvant alors que pour les conditions n°1 la triéthylamine NEt₃ joue à la fois le rôle de base et de solvant. Les rendements sont respectivement de 9 % et 24 %.

D'autres conditions ont alors été expérimentées notamment celle développée par Manas Das en 2011. Il est important de noter que la présence de traces d'oxygène peut conduire à l'oxydation de Pd(0) en Pd(II) et/ou du Cu(I) en Cu(II), ce qui favorise ensuite l'homocouplage entre les molécules d'alcyne terminal et entraîne une diminution significative du rendement de la réaction⁶⁸. C'est la raison pour laquelle l'ascorbate de sodium a été ajouté afin de maintenir une atmosphère réductrice. Le complexe de palladium Pd(PPh₃)₄ a alors été utilisé. Nous avons utilisé ces conditions qui permettent d'améliorer le rendement de la réaction autour de 30 %.

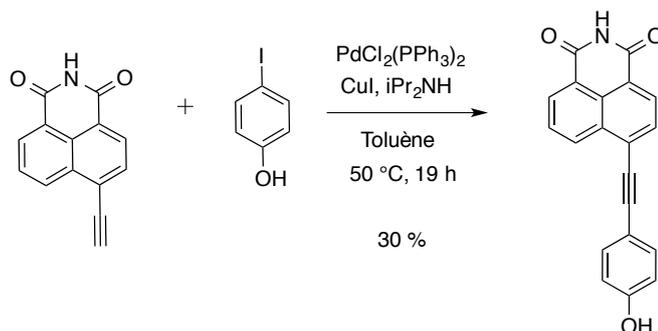


Schéma 2-17 : Synthèse de Naphth-AlcyneOH dans les conditions n°4.

Un rendement similaire a été obtenu avec la quatrième condition testée. Cette fois-ci la base utilisée est la diisopropylamine et la réaction se fait dans le toluène. Ces conditions réactionnelles ont finalement été choisies car le traitement de la réaction est plus pratique. En effet, il consiste à évaporer le solvant et à purifier le produit par chromatographie sur gel de silice alors que pour la réaction effectuée avec les conditions n°3, il faut réaliser une extraction avec l'acétate d'éthyle, un lavage avec le chlorure d'ammonium et le chlorure de sodium. La réaction de Sonogashira avec les conditions réactionnelles n°4 est décrite dans la partie expérimentale. La figure 2-18 résume la voie de synthèse qui nous a permis d'obtenir Naphth-AlcyneOH.

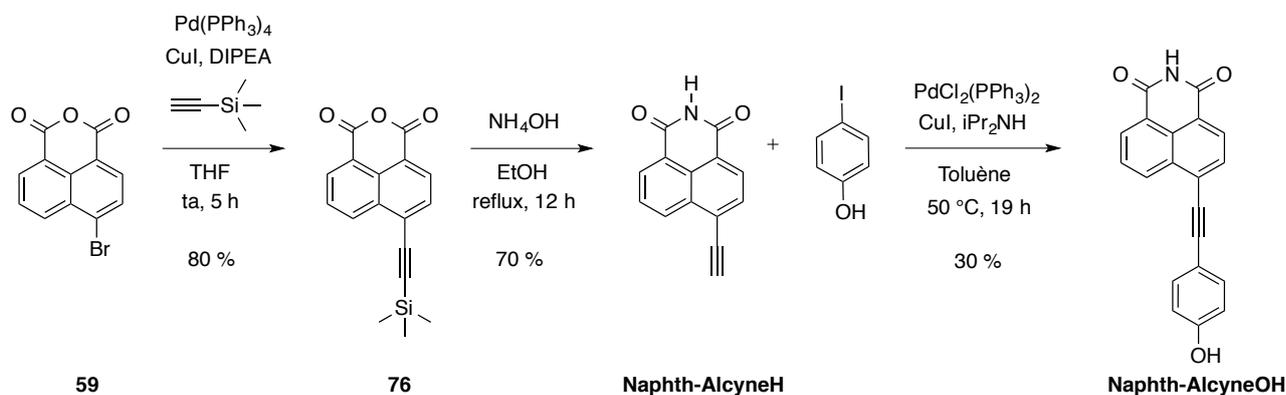


Schéma 2-18 : Synthèse de Naphth-AlcyneOH.

Le naphthalimide Naphth-AlcyneOH n'est soluble que dans le DMF et le DMSO. Cette insolubilité dans les solvants organiques tels que le DCM ou le CHCl_3 est due à la forte interaction intermoléculaire. Les molécules de Naphth-AlcyneOH peuvent en effet interagir *via* leur fonction imide respective mais aussi *via* leur fonction phénol ce qui forme un assemblage insoluble, dissocié uniquement dans des solvants très polaires.

Dans le but de faciliter la manipulation de ce composé lors du couplage avec le calix[4]arène iodé, puis lors du traitement et de la purification, nous avons décidé de greffer un groupement Boc qui permet d'augmenter la solubilité de la molécule dans les solvants. Le greffage du groupement Boc s'effectue sur la molécule de Naphth-AlcyneH à l'aide du dicarbonate de di-*tert*-butyl en présence de DMAP dans l'acétonitrile. La réaction est réalisée à température ambiante et se caractérise par un rendement de 58 %. Le composé formé est alors engagé dans une réaction de Sonogashira avec l'iodophénol. Boc-Naphth-AlcyneOH est obtenu avec un rendement de 25 %.

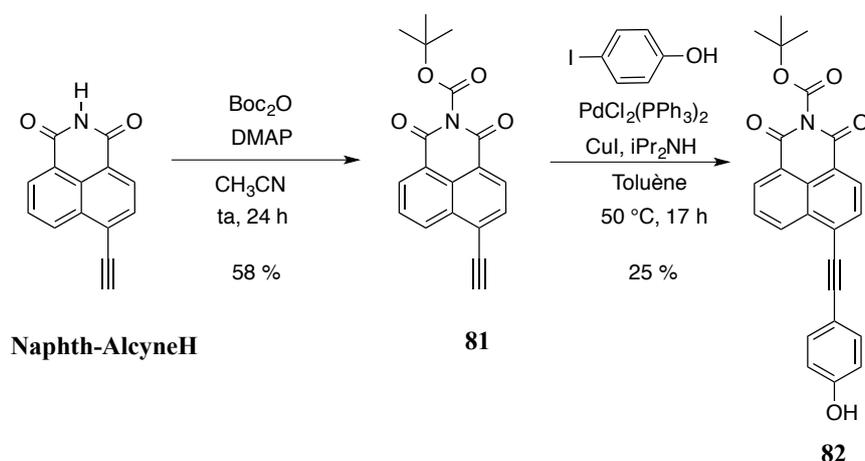


Schéma 2- 19 : Synthèse de Boc-Naphth-AlcyneOH.

3.1.2) Etude photophysique des sondes modèles

Les propriétés photophysiques de la nouvelle sonde Naphth-AlcyneOH ont été mesurées dans l'acétonitrile. Les valeurs mesurées dans ce solvant pour Naphth-AlcyneOMe sont également reportées dans le tableau 2-34 ci-dessous afin de pouvoir les comparer.

Tableau 2- 34 : Propriétés photophysiques des sondes dans l'acétonitrile : longueur d'onde d'absorption maximale λ_{abs} , longueur d'onde d'émission maximale λ_{em} , rendement quantique de fluorescence Φ , déplacement de Stokes $\Delta\nu$.

	$\lambda_{\text{abs max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{em max}}$ (nm)	Φ	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
Naphth-AlcyneOMe	392	536	0,65 ^a	6853
Naphth-AlcyneOH	391	545	0,30 ^a	7227

^a réf Coumarine 102 dans l'éthanol

Comme le montrent les spectres d'absorption et d'émission, la sonde Naphth-AlcyneOH absorbe à 391 nm et émet à 545 nm dans l'acétonitrile, ce qui conduit à un décalage de - 1 nm en absorption par rapport à la sonde Naphth-AlcyneOMe et à un décalage de + 9 nm en fluorescence. Le déplacement de Stokes de Naphth-AlcyneOH est un peu plus grand, ce qui signifie que l'état excité de la sonde est légèrement plus stabilisé après réorganisation du solvant.

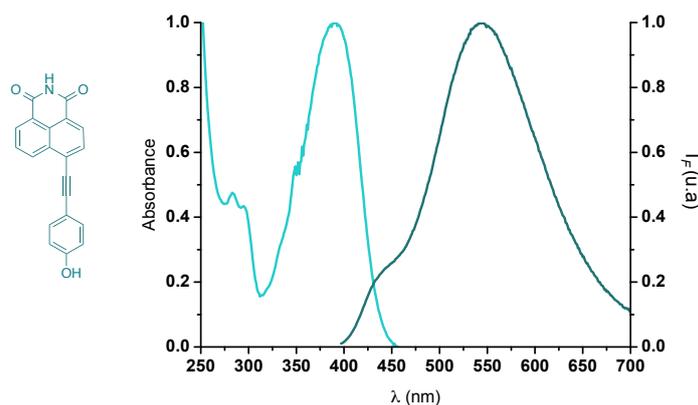


Figure 2- 81 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence normalisés de la sonde Naphth-AlcyneOH ($\lambda_{exc} = 391$ nm) dans l'acétonitrile.

Puis, nous avons étudié le solvatochromisme de cette sonde. Une différence de + 96 nm est enregistrée entre la longueur d'onde d'émission dans l'acétonitrile et celle dans le DMF. De plus, le déplacement de Stokes ne suit pas une relation linéaire avec la polarisabilité. Par conséquent, nous pouvons envisager des interactions spécifiques avec le solvant à l'état excité.

Tableau 2- 35 : Longueurs d'ondes d'absorption λ_{abs} et d'émission λ_{em} dans les différents solvants et déplacement de Stokes $\Delta\nu$ pour la sonde Naphth-AlcyneOH.

	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})
<i>N,N</i> -Diméthylformamide	397	449	2917
Ethanol	400	461	3308
Dichlorométhane	391	498	5495
Tétrahydrofurane	388	501	5813
Acétonitrile	391	545	7227

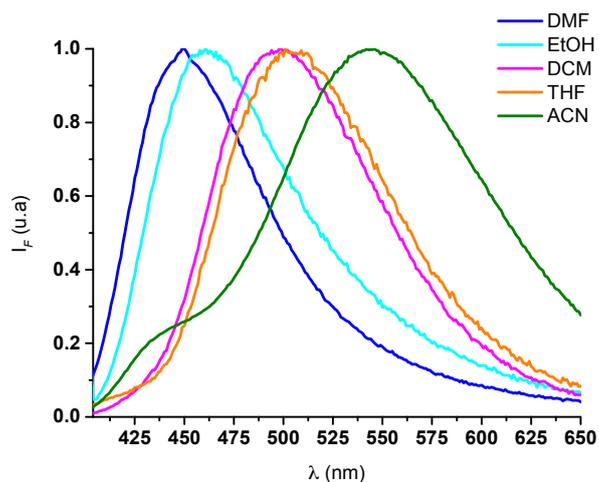


Figure 2- 82 : Spectres d'émission de fluorescence de la sonde Naphth-AlcyneOH dans les différents solvants.

3.2) Synthèse des calix[4]arènes

Cette partie aborde désormais la synthèse des calix[4]arènes. Pour figer la structure du calix[4]arène en conformation cône apte à recevoir des molécules invitées, il a été décidé de greffer au petit col un éther couronne. Deux calix[4]arènes ont alors été envisagés : le premier disposant d'un éther couronne comportant cinq atomes d'oxygène (nommé Calix-Naphth-5) et le second avec un éther couronne en contenant six (nommé Calix-Naphth-6), ce qui permettra d'évaluer l'influence de la taille de l'éther couronne sur la nature et la force de l'interaction avec l'atrazine. Les structures sont présentées dans la figure 2-83 ci-dessous.

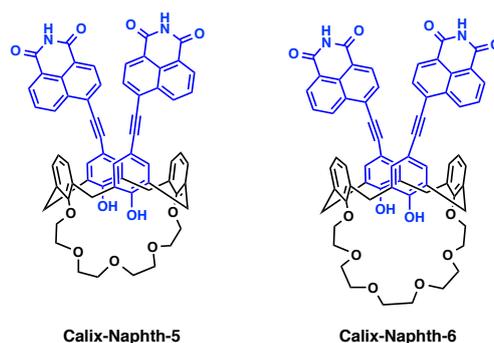


Figure 2- 83 : Structure des calix[4]arène envisagés Calix-Naphth-5 et Calix-Naphth-6.

La rétrosynthèse de ces deux composés est présentée ci-dessous. L'incorporation de la sonde naphthalimide au sein du calixarène peut se faire à l'aide d'un couplage pallado-catalysé de Sonogashira entre le calix[4]arène iodé et la sonde Naphth-AlcyneH. Le calix[4]arène iodé est issu d'une étape d'iodation du calix[4]arène correspondant fonctionnalisé par un éther couronne.

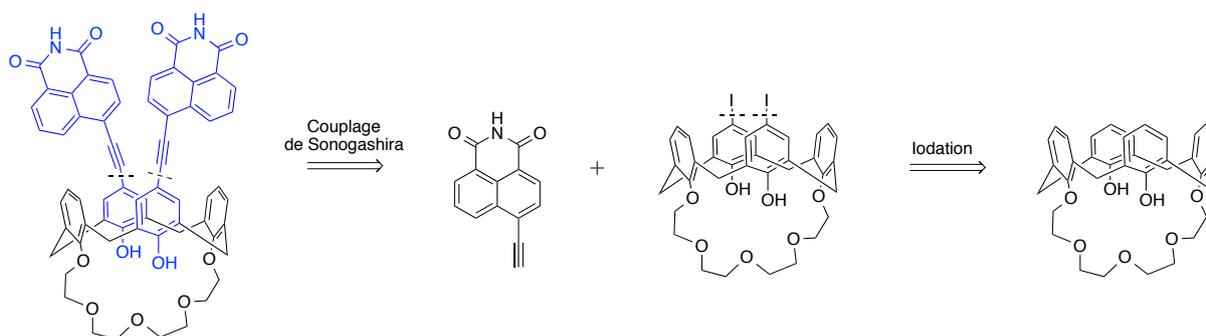


Figure 2- 84 : Rétrosynthèse de Calix-Naphth-5.

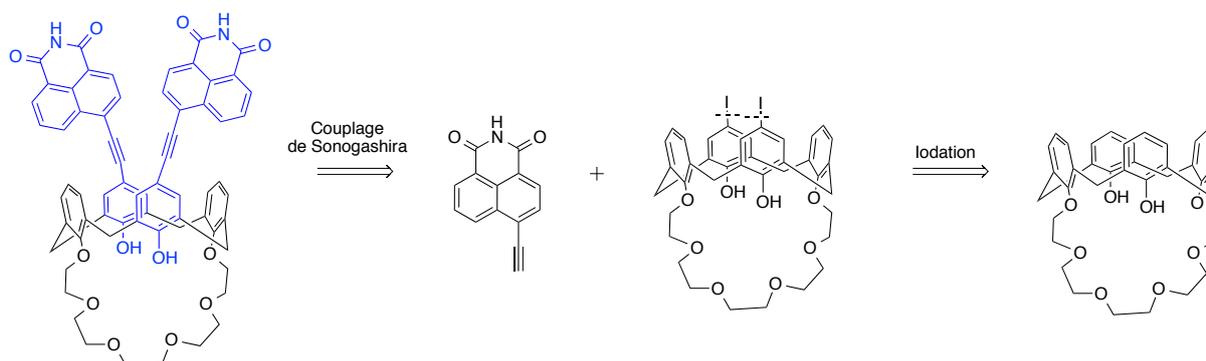


Figure 2- 85 : Rétrosynthèse de Calix-Naphth-6.

3.2.1) Synthèse du calix[4]arène-couronne-5-iodé (composé 88)

La synthèse du calix[4]arène-couronne-5-iodé requiert cinq étapes à partir du 4-*tert*-butylcalix[4]arène selon un protocole publié dans la littérature⁷⁰. La première étape est une réaction de rétro-Friedel-Crafts permettant de « détertbutyler » ce calixarène commercial. Six équivalents de chlorure d'aluminium sont pour cela utilisés dans le toluène anhydre afin de protéger l'acide de Lewis. Le produit de la réaction **84** est obtenu après 16 h à température ambiante avec un rendement de 74 %.

La deuxième étape consiste à protéger sélectivement deux fonctions phénols du calix[4]arène afin de laisser les deux autres fonctions phénols libres pour le greffage de l'éther couronne. Il est à noter que le greffage de l'éther couronne sans avoir au préalable protégé les phénols n'est pas concluant. Deux équivalents de *p*-toluènesulfonate de méthyle sont ajoutés en présence de carbonate de potassium et le mélange est porté au reflux dans l'acétonitrile pendant 12 h. Le rendement de cette réaction est de 56 %.

Le dérivé de calixarène **85** est alors engagé dans une réaction de substitution nucléophile avec le dérivé de l'éther couronne **83** que nous avons précédemment tosylé. Cette tosylation est réalisée en présence de chlorure de tosyloxy et d'hydroxyde de potassium dans le THF à température ambiante pour donner le composé **83**. Le rendement est de 96 %.

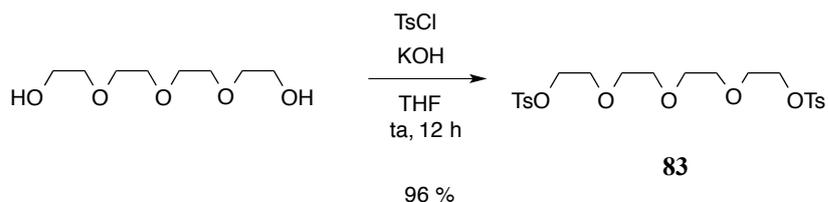


Schéma 2- 20 : Synthèse de l'éther couronne tosylé.

Le greffage de l'éther couronne s'effectue dans l'acétonitrile anhydre en présence de carbonate de césium avec un rendement de 71 %. Une fois l'éther couronne greffé, l'étape suivante est la déprotection des groupements phénols à l'aide de l'iodure de triméthysilyle dans le chloroforme anhydre. Après 5 h au reflux, le calix[4]arène déprotégé **87** est obtenu avec un rendement de 80 %.

Enfin, la dernière étape est l'étape d'iodation à la position *para* des groupements phénols libres afin de pouvoir réaliser par la suite un couplage avec la sonde naphthalimide. La substitution électrophile aromatique requiert l'utilisation du trifluoroacétate de mercure pour former un adduit qui réagit ensuite directement avec le diiode. Le rendement de cette étape est de 20 % et peut s'expliquer par la perte de produit pendant la purification par chromatographie sur colonne de gel de silice.

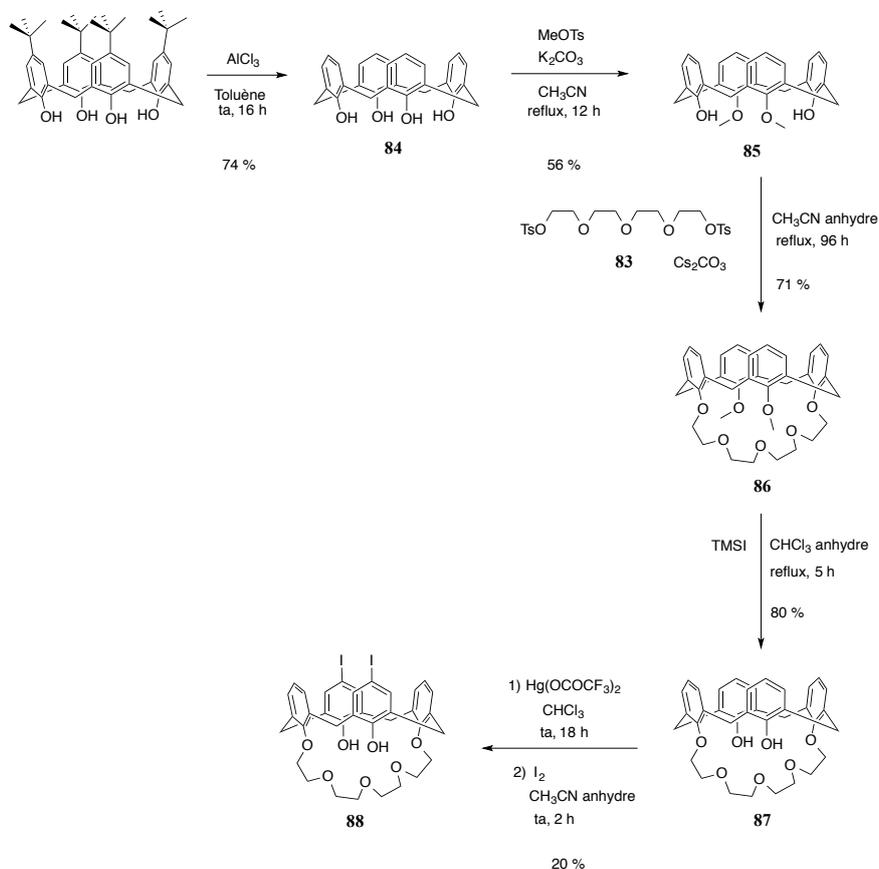


Schéma 2- 21 : Synthèse du calix[4]arène-couronné-5-iodé.

3.2.2) Synthèse du calix[4]arène-couronne-6-iodé

Une autre méthode d'iodation moins toxique et moins contraignante publiée par Willy Friedrichsen en 1998 a été mise au point⁷¹. Il s'agit d'utiliser le dichloriodure de benzyltriméthylammonium (BTMA•ICl₂) en présence de carbonate de calcium dans un mélange DCM/MeOH comprenant 30 % de MeOH en volume. Elle a été testée sur le composé calix[4]arène-couronne-6 (composé **89**) obtenu au laboratoire en greffant l'éther couronne correspondant sur le calix[4]arène détertbutylé. Cette réaction se caractérise par un rendement de 74 %. Cette méthode d'iodation est donc beaucoup plus efficace que celle précédemment utilisée.

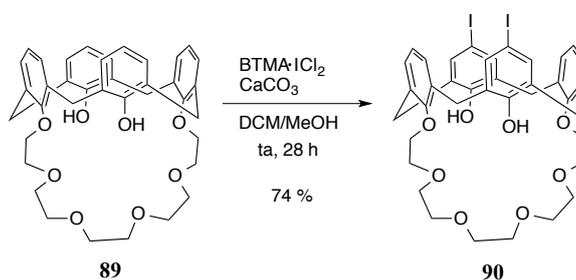


Schéma 2- 22 : Deuxième méthode d'iodation.

3.2.3) Couplages avec les calix[4]arènes iodés

Les conditions réactionnelles n°4 testées pour le composé modèle (0,05 éq. PdCl₂(PPh₃)₄/ 0,15 éq. CuI/ iPr₂NH/50 °C/toluène) ont été utilisées pour les couplages avec les calix[4]arènes. Pour la synthèse de Calix-Naphth-5, le couplage de Sonogashira a été réalisé avec un rendement de 55 %. Nous avons eu recours ensuite à une solution de TFA dans le DCM afin de déprotéger le groupement Boc.

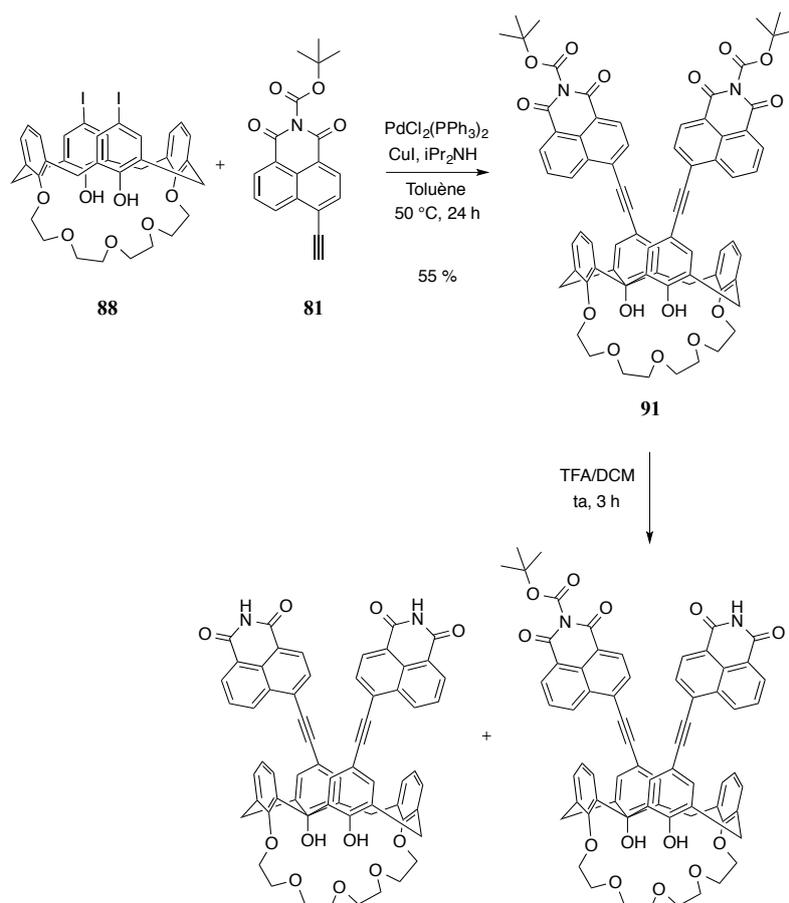


Schéma 2- 23 : Synthèse du Calix-Naphth-5.

Le produit synthétisé est très peu soluble dans le chloroforme, le dichlorométhane, l'acétone, l'acétonitrile, le tétrahydrofurane et le toluène ce qui complique sa manipulation lors du traitement et de la purification de la réaction. Les solvants DMSO et DMF parviennent à le solubiliser. Une précipitation a alors été tentée en ajoutant du THF dans la solution de DMF. Le précipité formé a ensuite été récupéré après centrifugation et filtration. 26 mg sur les 29 mg attendus ont été récupérés mais le produit n'est pas entièrement pur. En effet, selon le spectre RMN, un deuxième produit est présent et a été identifié comme étant le calix[4]arène pour lequel la déprotection d'un seul groupement Boc a fonctionné.

Quant à la synthèse de Calix-Naphth-6, le couplage de Sonogashira a été effectué avec un rendement de 53 %. Une autre méthode de déprotection du groupement Boc a été mise en œuvre (nous l'avons préalablement testée sur la sonde naphthalimide seule). Il s'agit de générer *in situ* du chlorure d'hydrogène à l'aide du chlorure d'acétyle dans le méthanol.

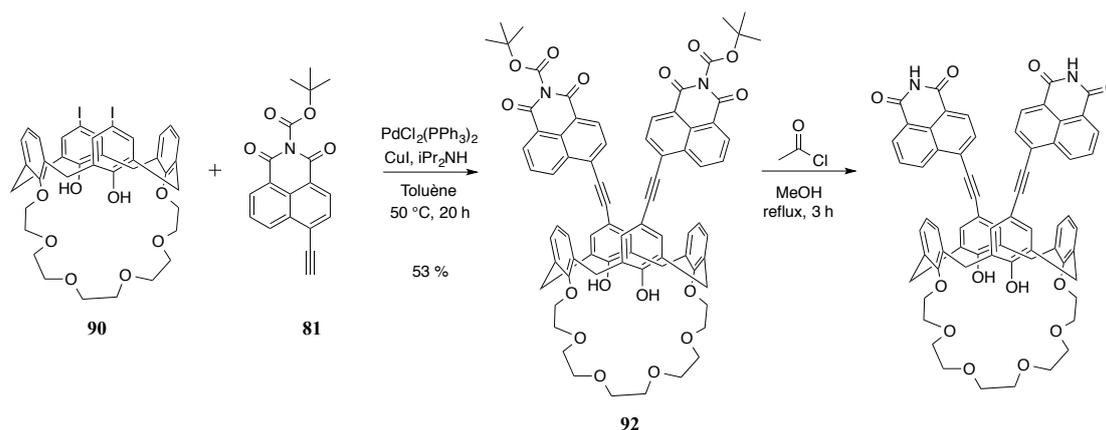


Schéma 2- 24 : Synthèse de Calix-Naphth-6.

Le produit obtenu a été dissous dans le dichlorométhane et précipité en ajoutant du méthanol. Le spectre RMN n'a pas permis de conclure sur la pureté du produit en raison de sa complexité, notamment au niveau des protons aromatiques. Des mesures spectroscopiques ont alors été commencées. La chromatographie HPLC et la spectrométrie de masse ont confirmé la formation du produit mais aussi la présence d'impuretés. Par conséquent, les études n'ont pas été poursuivies. Il pourrait s'agir de l'oxydation des groupements phénols en quinones.

3.2.4) Synthèse de Butyl-Naphth-AlcyneH

En raison de la difficulté des synthèses impliquant les calixarènes iodés et le composé **81** et de la faible solubilité des produits de couplage, nous avons décidé de mettre au point une autre sonde naphthalimide permettant de solubiliser l'ensemble. Cette sonde a déjà été synthétisée³²: il s'agit de la molécule de 6-Bromo-2-butyl-1,8-naphthalimide que l'on nommera dans ce manuscrit Butyl-Naphth-AlcyneH.

La première étape a consisté à fonctionnaliser la molécule commerciale d'anhydride 4-bromo-1,8-naphthalique **59** via une réaction d'addition-élimination en présence de la *n*-butylamine dans l'éthanol au reflux avec un rendement de 58 %. Puis le composé **93** est engagé dans une réaction de Sonogashira dans des conditions légèrement différentes que celles précédemment utilisées. En effet, la phosphine PPh_3 est ajoutée afin de favoriser la réduction de Pd(II) en Pd(0) . Le rendement est de 40 % ce qui est assez faible mais peut s'expliquer par la dégradation potentielle d'un des réactifs ou par la présence d'eau dans le THF. La dernière étape est la déprotection de la fonction silyle à l'aide du carbonate de potassium. Un rendement de 84 % est obtenu contre 35 % dans la littérature. Cette différence peut être due au fait que le temps de réaction reporté est de 16 h (au lieu de 30 min), ce qui

peut conduire à la dégradation du naphthalimide. En effet, comme nous avons pu le remarquer, certains naphthalimides sont très sensibles aux conditions réactionnelles et se dégradent en milieu basique.

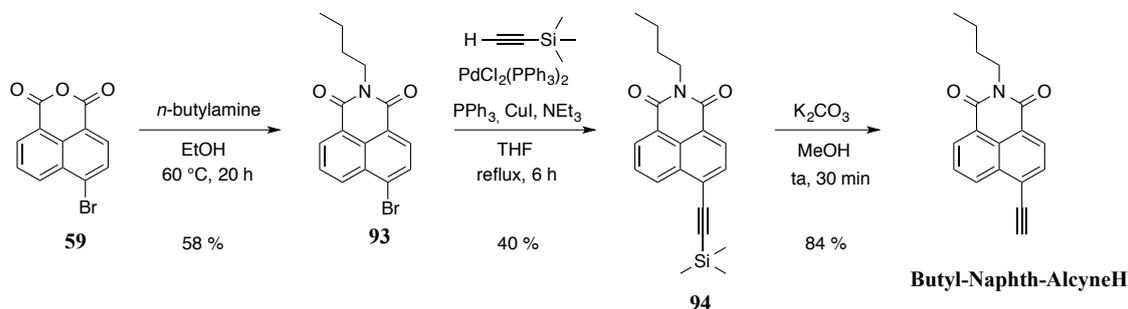


Schéma 2- 25 : Synthèse de Butyl-Naphth-AlcyneH.

3.2.5) Couplage de Butyl-Naphth-AlcyneH avec le calix[4]arène-couronne-6 iodé

Enfin, le couplage de Sonogashira entre Butyl-Naphth-AlcyneH et le calix[4]arène iodé **90** a été réalisé dans les conditions optimales. Le suivi CCM présente deux taches principales fluorescentes attribuées à la sonde naphthalimide introduite en excès et au calixarène fonctionnalisé. Un composé a été isolé mais le spectre de masse révèle la présence d'un composé de masse $[M+Na]^+ = 1050,2688$. Ceci correspond à la molécule de calixarène coordinant un atome de sodium pour laquelle la réaction n'a fonctionné que sur un seul groupement phénol. En effet, le deuxième atome d'iode est toujours présent.

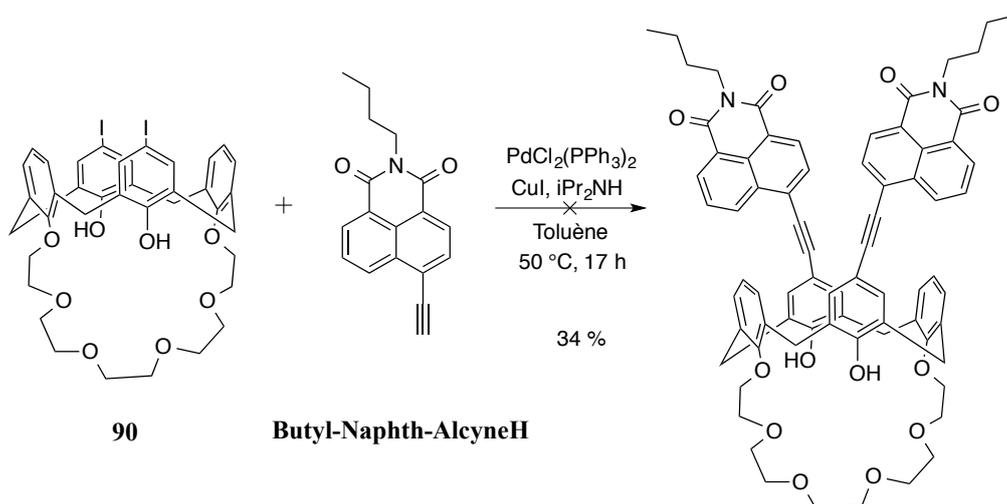


Schéma 2- 26 : Essai de synthèse du Calix-Butyl-Naphth-6.

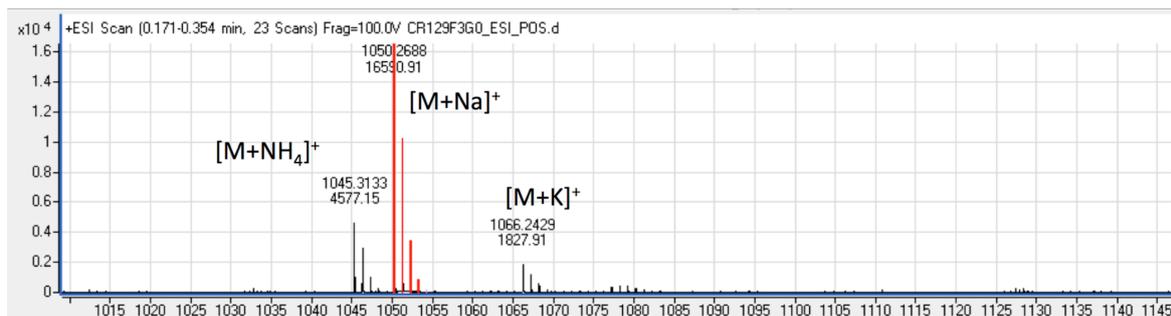


Figure 2- 86 : Spectre de masse obtenu.

Ainsi, le composé modèle Naphth-AlcyneOH a été obtenu après plusieurs essais de synthèse. En raison de la faible solubilité de ce composé, un groupement Boc permettant de solubiliser le composé naphthalimide a été introduit afin de faciliter la manipulation de ce dernier lors de la réaction de couplage et de sa purification. L'étape de déprotection ne permet pas d'obtenir le produit pur. Un groupement butylamine a alors été introduit sur le naphthalimide pour améliorer la solubilité du calixarène final mais la réaction n'a pas fonctionné entièrement et un deuxième essai n'a pas pu être réalisé faute de temps.

De plus, les produits de couplage ne semblent pas suffisamment stables. Cela pourrait être dû à l'oxydation des groupements phénols en quinones. Afin de remédier à cette difficulté, il est envisageable de méthyler les deux fonctions alcools. Ces alkylations faciliteraient en outre la synthèse des calixarènes. Nous pouvons également utiliser l'éther couronne pour complexer des cations et des molécules neutres dans la cage à l'aide d'un effet coopératif, comme cela a été reporté pour le carbaryl en 2015 ⁷².

Références bibliographiques

- ¹ M. H. Lauer, R. L. Drekenner, C. R. D. Correia, M. H. Gehlen, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 859–66.
- ² H. Imoto, K. Kizaki, S. Watase, K. Matsukawa, K. Naka, *Chem. Eur. J* **2015**, *21*, 12105–12111.
- ³ Z. Lin, X. Mei, E. Yang, X. Li, H. Yao, G. Wen, C.-T. Chien, T. J. Chow, Q. Ling, *CrystEngComm* **2014**, *16*, 11018–11026.
- ⁴ M. Dubernet, V. Caubert, J. Guillard, M.-C. Viaud-Massuard, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 4585–4593.
- ⁵ H.-C. Yeh, L.-H. Chan, W.-C. Wu, C.-T. Chen, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 1293–1298.
- ⁶ H.-C. Yeh, W.-C. Wu, Y.-S. Wen, D.-C. Dai, J.-K. Wang, C.-T. Chen, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6455–6462.
- ⁷ V. Wintgens, P. Valat, J. Kossanyi, L. Biczok, A. Demeter, T. Berces, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1994**, *90*, 411–421.
- ⁸ S. S. Bag, M. K. Pradhan, R. Kundu, S. Jana, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 96–101.
- ⁹ X. Qian, Y. Xiao, Y. Xu, X. Guo, J. Qian, W. Zhu, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6418–6436.
- ¹⁰ T. Moniz, C. Queirós, R. Ferreira, A. Leite, P. Gameiro, A. M. G. Silva, M. Rangel, *Dyes Pigm.* **2013**, *98*, 201–211.
- ¹¹ Y. Sun, C. Zhong, R. Gong, E. Fu, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3044–3047.
- ¹² C. Zhong, T. Mu, L. Wang, E. Fu, J. Qin, *Chem. Commun.* **2009**, 4091–4093.
- ¹³ C. L. Fang, J. Zhou, X. J. Liu, Z. H. Cao, D. Shanguan, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 899–903.
- ¹⁴ E. Tamanini, K. Flavin, M. Motevalli, S. Piperno, L. A. Gheber, M. H. Todd, M. Watkinson, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 3789–3800.
- ¹⁵ M. S. Alexiou, V. Tychopoulos, S. Ghorbanian, J. H. P. Tyman, R. G. Brown, P. I. Brittain, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 837–842.
- ¹⁶ X. Li, Y. Lin, Q. Wang, Y. Yuan, H. Zhang, X. Qian, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1274–1279.
- ¹⁷ S. S. Bag, R. Kundu, M. Das, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2332–2337.
- ¹⁸ C. Saravanan, S. Easwaramoorthi, L. Wang, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 5151–7.
- ¹⁹ J. Wang, L. Zhang, Q. Qi, S. Li, Y. Jiang, *Anal. Methods* **2013**, *5*, 608–611.
- ²⁰ R. Schmidt, M. Stolte, M. Grüne, F. Würthner, *Macromolecules* **2011**, *44*, 3766–3776.
- ²¹ B. S. Jursic, E. D. Stevens, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2203–2210.
- ²² M. K. Haldar, M. D. Scott, N. Sule, D. K. Srivastava, S. Mallik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2373–2376.
- ²³ K. Saito, N. Nishimura, S. Sasaki, Y. Oishi, Y. Shibasaki, *React. Funct. Polym.* **2013**, *73*, 756–763.
- ²⁴ F. Würthner, C. Thalacker, A. Sautter, W. Schärtl, W. Ibach, O. Hollricher, *Chem. Eur. J* **2000**, *6*, 3871–3886.
- ²⁵ W. Zhang, D. T. Nowlan, L. M. Thomson, W. M. Lackowski, E. E. Simanek, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8914–8922.
- ²⁶ J. C. Mannion, S. L. Dax, F. J. Golder, D. Macintyre, J. McLeod, V. Ozola, E. Suna, K. Shubin, J. J. Mencil, S. X. Peng, *World Patent, WO 2014/078575 A2*, **2014**.
- ²⁷ W. Kohn, A. D. Becke, R. G. Parr, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 12974–12980.
- ²⁸ C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158–6170.
- ²⁹ J.-D. Chai, M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 6615–20.
- ³⁰ D. Jacquemin, E. A. Perpète, G. E. Scuseria, I. Ciofini, C. Adamo, *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 123–135.

- ³¹ C. Katan, P. Savel, B. M. Wong, T. Roisnel, V. Dorcet, J.-L. Fillaut, D. Jacquemin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 9064–73.
- ³² S. Ast, T. Fischer, H. Müller, W. Mickler, M. Schwichtenberg, K. Rurack, H. J. Holdt, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2990–3005.
- ³³ G. R. Desiraju, T. Steiner, *The Weak Hydrogen Bond in Structural Chemistry and Biology*, Oxford University Press, Chichester, **1999**.
- ³⁴ H. Yeh, W. Wu, C. Chen, *Chem. Commun.* **2003**, *2*, 404–405.
- ³⁵ M. S. Alexiou, V. Tychopoulos, S. Ghorbanian, J. H. P. Tyman, R. G. Brown, P. I. Brittain, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 837–842.
- ³⁶ H.-C. Yeh, W.-C. Wu, C.-T. Chen, *Chem. Commun.* **2003**, *2*, 404–5.
- ³⁷ S. Saha, A. Samanta, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 4763–4771.
- ³⁸ R. L. Martin, *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 4775–4777.
- ³⁹ M. H. Lauer, R. L. Drekenner, C. R. D. Correia, M. H. Gehlen, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2014**, *13*, 859–66.
- ⁴⁰ D. Yuan, R. G. Brown, J. D. Hepworth, M. S. Alexiou, J. H. P. Tyman, *J. Heterocycl. Chem.* **2008**, *45*, 397–404.
- ⁴¹ S. Mukherjee, P. Thilagar, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 8012–8023.
- ⁴² X. Cao, L. Meng, Z. Li, Y. Mao, H. Lan, L. Chen, Y. Fan, T. Yi, *Langmuir* **2014**, *30*, 11753–11760.
- ⁴³ V. Alain-Rizzo, D. Drouin-Kucma, C. Rouxel, I. Samb, J. Bell, P. Y. Toullec, V. Michelet, I. Leray, M. Blanchard-Desce, *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 1080–1091.
- ⁴⁴ Z. R. Grabowski, K. Rotkiewicz, W. Rettig, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3899–4031.
- ⁴⁵ S. S. Bag, M. K. Pradhan, R. Kundu, S. Jana, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 96–101.
- ⁴⁶ E. Obert, *Synthèse et Caractérisation Photophysique de Polymères Fluorescents À Base de Polysiloxane Pour La Détection de Composés Nitroaromatiques*, Thèse de doctorat, ENS Cachan, **2008**.
- ⁴⁷ V. Souchon, S. Maisonneuve, O. David, I. Leray, J. Xie, B. Valeur, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 1323–1331.
- ⁴⁸ P. D. Jarowski, Y. L. Wu, W. B. Schweizer, F. Diederich, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3347–3350.
- ⁴⁹ Y. Zhu, S. Guang, X. Su, H. Xu, D. Xu, *Dyes Pigments* **2013**, *97*, 175–183.
- ⁵⁰ S. Ast, T. Fischer, H. Müller, W. Mickler, M. Schwichtenberg, K. Rurack, H. J. Holdt, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2990–3005.
- ⁵¹ S. Delmond, J.-F. Létard, R. Lapouyade, W. Rettig, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **1997**, *105*, 135–148.
- ⁵² P. D. Zoon, I. H. M. van Stokkum, M. Parent, O. Mongin, M. Blanchard-Desce, A. M. Brouwer, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 2706–2715.
- ⁵³ G.-J. Zhao, K.-L. Han, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 404–413.
- ⁵⁴ S. Espinosa, E. Bosch, M. Rosés, *Anal. Chim. Acta* **2002**, *454*, 157–166.
- ⁵⁵ Z. Mao, L. Hu, C. Zhong, H. Zhang, B.-F. Liu, Z. Liu, *Sensors Actuators B Chem.* **2015**, *219*, 179–184.
- ⁵⁶ G. Yin, Y. Ma, Y. Xiong, X. Cao, Y. Li, L. Chen, *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 751–757.
- ⁵⁷ E. Wang, J. W. Y. Lam, R. Hu, C. Zhang, Y. S. Zhao, B. Z. Tang, *J. Mater. Chem. C* **2014**, *2*, 1801.
- ⁵⁸ S. Seifert, A. Seifert, G. Brunklaus, K. Hofmann, T. Rüffer, H. Lang, S. Spange, *New J. Chem.* **2012**, *36*, 674.
- ⁵⁹ K. Aggarwal, J. M. Khurana, *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, *143*, 288–297.
- ⁶⁰ J. Catalán, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 5951–5960.

- ⁶¹ M. Bauer, A. Rollberg, A. Barth, S. Spange, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 4475–4481.
- ⁶² C. Thalacker, A. Miura, S. De Feyter, F. C. De Schryver, F. Würthner, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 414–422.
- ⁶³ F. H. Beijer, R. P. Sijbesma, J. A. J. M. Vekemans, E. W. Meijer, H. Kooijman, A. L. Spek, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6371–6380.
- ⁶⁴ A. Diez-Martinez, E.-K. Kim, R. Krishnamurthy, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7066–7075.
- ⁶⁵ C. Thalacker, F. Würthner, *Adv. Funct. Mater.* **2002**, *12*, 209–218.
- ⁶⁶ K. Boonkitpatarakul, Y. Yodta, N. Niamnont, M. Sukwattanasinitt, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 33306–33311.
- ⁶⁷ X. Cao, L. Luo, F. Zhang, F. Miao, D. Tian, H. Li, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 2029–2032.
- ⁶⁸ S. S. Bag, R. Kundu, M. Das, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2332–2337.
- ⁶⁹ V. Alain-Rizzo, D. Drouin-Kucma, C. Rouxel, I. Samb, J. Bell, P. Y. Toullec, V. Michelet, I. Leray, M. Blanchard-Desce, *Chem. - An Asian J.* **2011**, *6*, 1080–1091.
- ⁷⁰ H. H. Yu, A. E. Pullen, M. G. Büschel, T. M. Swager, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3700–3703.
- ⁷¹ B. Klenke, W. Friedrichsen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 3377–3379.
- ⁷² L. Luo, X. Zhang, N. Feng, D. Tian, H. Deng, H. Li, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 8982–8988.

Chapitre 3 : Détection des amines aliphatiques par fluorescence

CHAPITRE 3 : DETECTION DES AMINES ALIPHATIQUES PAR FLUORESCENCE	187
I) SYNTHÈSE ET ÉTUDE DU COMPOSÉ MODÈLE	187
1.1) <i>Choix du fluorophore</i>	187
1.2) <i>Synthèse du composé modèle</i>	189
1.3) <i>Propriétés photophysiques</i>	191
1.4) <i>Complexation de l'ion zinc Zn²⁺</i>	192
1.4.1) <i>Modulation de l'absorption</i>	192
1.4.2) <i>Modulation de la fluorescence</i>	193
II) SYNTHÈSE ET ÉTUDE DU CALIXARENE FONCTIONNALISÉ PAR DES LIGANDS FLUORESCENTS.....	194
2.1) <i>Synthèse du calix[6]arène</i>	194
2.2) <i>Propriétés photophysiques du calix[6]arène Calix-Quino</i>	195
2.3) <i>Complexation de l'ion Zn²⁺</i>	196
2.3.1) <i>Modulation de l'absorption</i>	196
2.3.2) <i>Modulation de la fluorescence</i>	198
III) COMPLEXATION DES AMINES	199
3.1) <i>Réponse fluorescente du complexe zincique mononucléaire en présence de l'heptylamine</i>	200
3.2) <i>Réponse fluorescente du complexe dizincique en présence de l'heptylamine</i> ..	201
3.3) <i>Réponse fluorescente du complexe monozincique en présence d'autres amines aliphatiques</i>	202
IV) ÉTUDES RMN	206
4.1) <i>Étude de coordination de l'ion Zn²⁺</i>	206
4.2) <i>Formation du complexe dinucléaire</i>	208
4.3) <i>Encapsulation de l'heptylamine</i>	209
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	212

Chapitre 3 : Détection des amines aliphatiques par fluorescence

1) Synthèse et étude du composé modèle

La détection d'amines aliphatiques par fluorescence est le second objectif de cette thèse. L'encapsulation des amines aliphatiques par les calix[6]arènes a déjà été reportée dans la littérature mais celle-ci a été suivie par spectroscopie RMN¹. Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Professeur Olivia Reinaud à l'Université Paris Descartes qui a développé une large gamme de calix[6]arènes coordinant un ion métallique au petit col tel que le zinc et présentant une forte sélectivité envers les amines². De plus, une forte affinité est observée pour les amines primaires qui dépend également de l'encombrement stérique de l'amine. Afin de suivre l'encapsulation de l'amine, la stratégie est de fonctionnaliser le grand col par des fluorophores (voir figure 3-1). La fluorescence permettra ainsi de suivre la formation du complexe de coordination d'une part et de détecter l'encapsulation des amines aliphatiques dans sa cavité d'autre part. Cette partie traite des études photophysiques et de complexation avec le zinc qui ont été réalisées sur le fluorophore modèle.

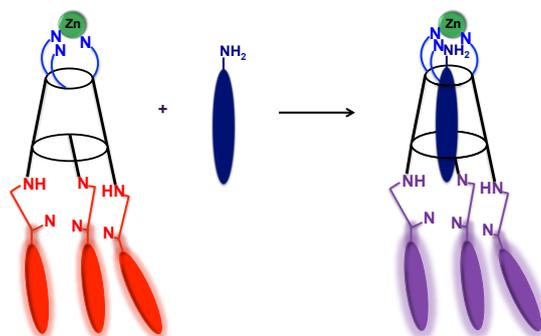


Figure 3- 1 : Détection d'une amine aliphatique par fluorescence.

1.1) Choix du fluorophore

Le fluorophore modèle doit posséder un bon rendement quantique et être sensible à la complexation du zinc. Nous souhaitons pour cela utiliser le phénomène de transfert de charge photoinduit pour mettre en évidence la complexation du zinc.

Il s'avère que les dérivés de la quinoléine remplissent ces conditions. En effet, des travaux publiés par Qingxiang Guo³ en 2012 décrivent un récepteur fluorescent ratiométrique de l'ion Zn²⁺. Il s'agit du dérivé de la quinoléine **6-MPQ** fonctionnalisé par un groupement dipicolylamine et un groupement méthoxystyrène. La double liaison permet d'augmenter la conjugaison et d'avoir un déplacement de Stokes plus important. La structure est présentée

figure 3-2. L'unité quinoléine et le groupement dipicolylamine sont susceptibles de coordonner l'ion zinc.

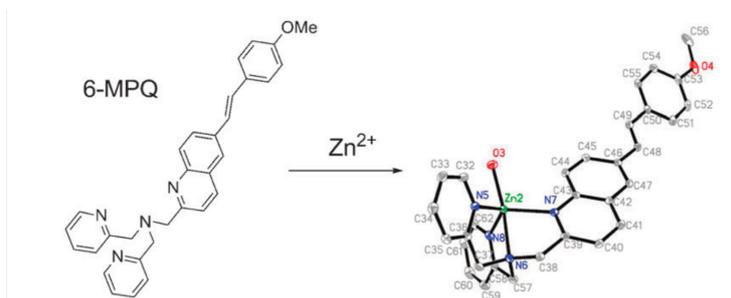


Figure 3- 2 : Structure du dérivé de quinoléine développé pour la détection du zinc. Figure issue de la référence 3.

Ce fluorophore est caractérisé par un transfert de charge intramoléculaire. Le groupement donneur est le groupement méthoxystyrène alors que la coordination de l'ion zinc Zn^{2+} au groupement dipicolylamine génère un groupement accepteur d'électron. La complexation de l'ion zinc entraîne ainsi un déplacement important de la bande d'émission vers le rouge de 443 nm à 515 nm, soit un déplacement spectral de 72 nm (voir figure 3-3).

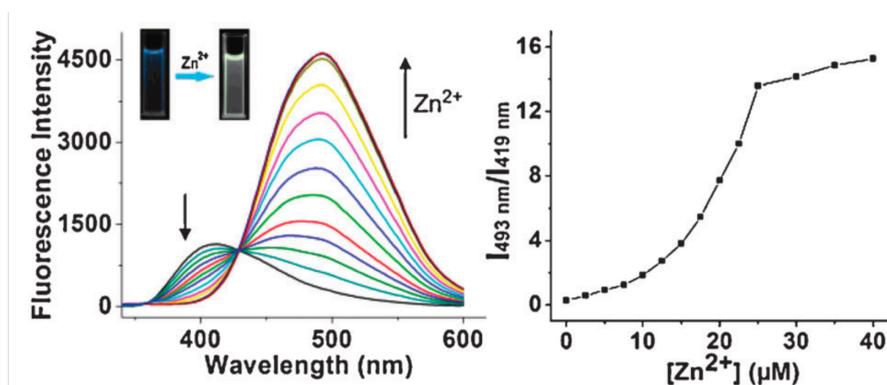


Figure 3- 3 : A gauche : Spectre d'émission de fluorescence du dérivé de quinoléine 6-MPVQ (25 mM) après excitation à 356 nm et après ajouts de Zn^{2+} dans un mélange méthanol/eau (1 : 1, v/v, 50 mM tampon HEPES, pH = 7,4); à droite : courbe ratiométrique de calibration entre 419 nm et 493 nm ($I_{493 \text{ nm}}/I_{419 \text{ nm}}$) en fonction de la concentration de Zn^{2+} . Figure issue de la référence 3.

De plus, le transfert de charge intramoléculaire et ainsi la couleur de la fluorescence peuvent être modulés par le cation⁴. Après coordination du dérivé de la quinoléine publié par Takayuki Hirai en 2011, une émission de fluorescence bleue est observée pour le cadmium Cd^{2+} , jaune pour le mercure Hg^{2+} et orange pour le plomb Pb^{2+} . Les différents décalages de l'émission sont dus à la modification des niveaux énergétiques des orbitales moléculaires HO et BV après la coordination des cations.

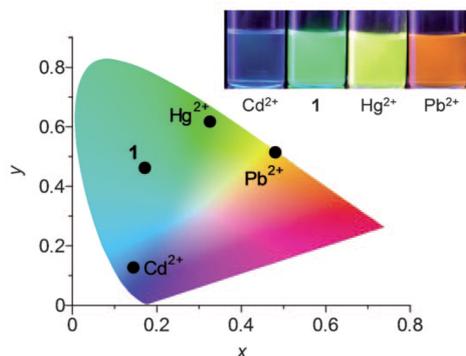


Figure 3- 4 : Couleur de la fluorescence observée pour les solutions contenant le dérivé de quinoléine dans l'acétonitrile après ajouts des différents cations ($\lambda_{exc} = 365 \text{ nm}$). Figure issue de la référence 4.

Un autre fluorophore à transfert de charge dérivé de la quinoléine a donc été développé afin de le greffer au calix[6]arène. Il a été choisi de conserver le groupement donneur d'électrons méthoxystyrène en position six de la quinoléine. Afin de modéliser au mieux le fluorophore au sein du calixarène, un groupement méthoxyaniline a été introduit en position *alpha* de l'azote de la quinoléine (cette unité aromatique fera partie alors de la cavité du calixarène final). La figure 3-5 montre la structure du composé modèle et du calix[6]arène ciblé. La partie suivante présente la synthèse de ce composé modèle.

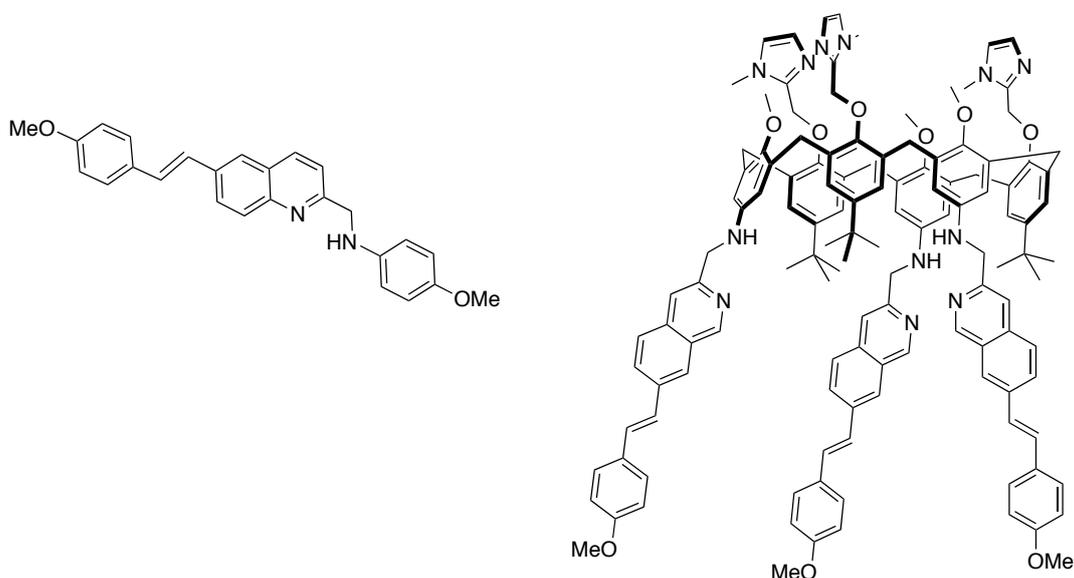


Figure 3- 5 : A gauche : Structure du composé modèle, à droite : structure du calixarène Calix-Quino.

1.2) Synthèse du composé modèle

La synthèse du dérivé de quinoléine s'effectue en cinq étapes. Dans la première étape, la 4-bromoaniline **95** réagit avec le crotonaldéhyde dans l'acide acétique pendant six heures au reflux pour former l'hétérocycle quinoléine **96** avec un rendement de 72 %. Le protocole publié dans la littérature⁵ a été modifié car nous n'avons pas eu recours au diiode.

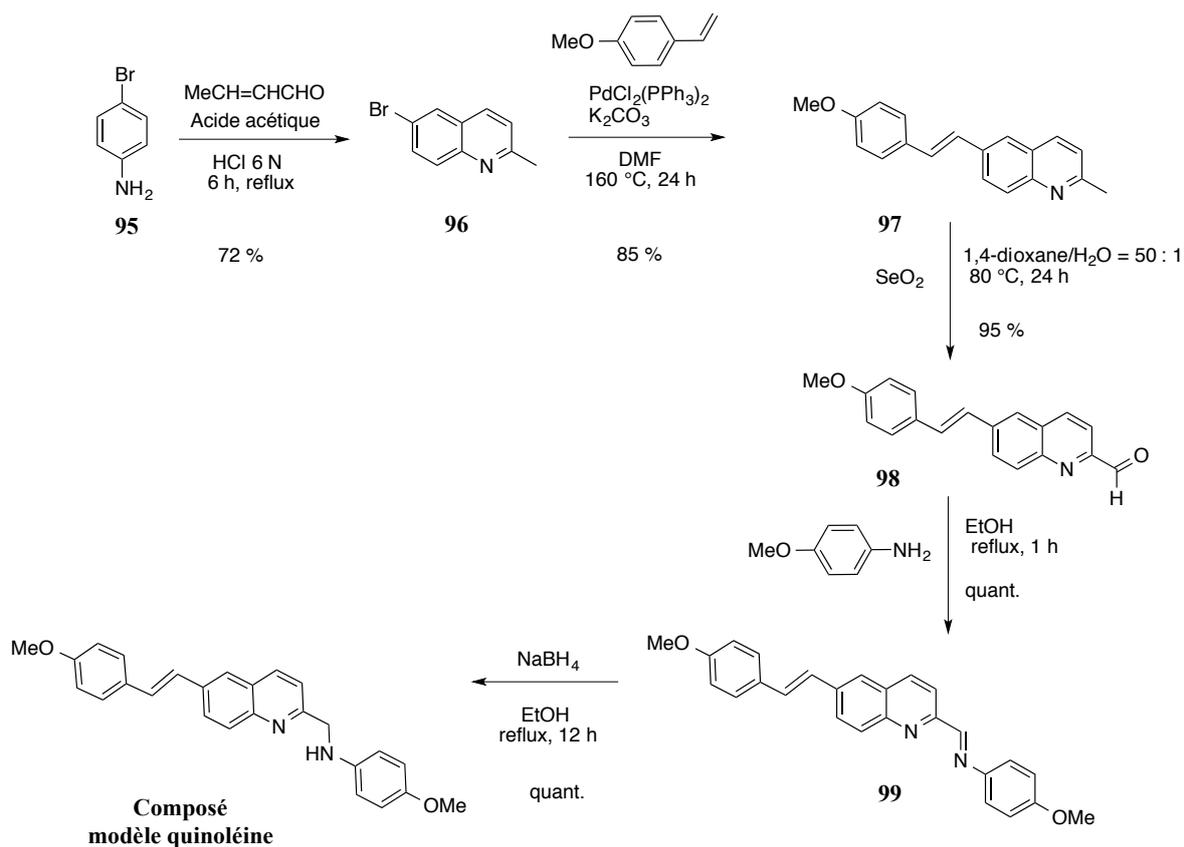


Schéma 3-1 : Synthèse du composé modèle.

Puis ce dérivé est engagé dans une réaction de Heck⁶ avec la molécule de 1-méthoxy-4-vinylbenzène dans le DMF à 160 °C pendant 24 h pour donner l'alcène **97** avec un rendement de 85 %. La troisième étape consiste à oxyder le groupement méthyle en position alpha de l'azote à l'aide du dioxyde de sélénium. Les conditions réactionnelles pour l'oxydation ont été adaptées de la littérature⁷. Le rendement de cette étape est de 95 %. L'étape suivante est la condensation entre l'aldéhyde **98** et la 4-méthoxyaniline dans l'éthanol au reflux. Cette étape est délicate à réaliser. Elle se doit d'être quantitative car l'étape de purification se révèle très difficile s'il reste des réactifs de départ. Le composé modèle est finalement obtenu en réduisant quantitativement l'imine en utilisant le borohydrure de sodium dans l'éthanol au reflux pendant douze heures.

1.3) Propriétés photophysiques

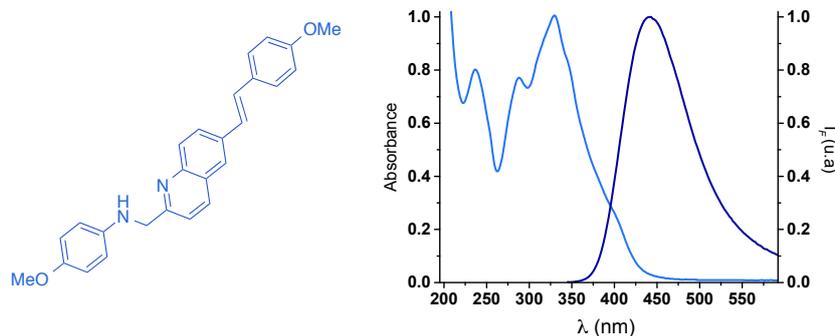


Figure 3- 6 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence normalisés du composé modèle dans l'acétonitrile, $\lambda_{exc} = 330 \text{ nm}$.

Les propriétés photophysiques du composé modèle ont été étudiées dans l'acétonitrile. Celui-ci présente alors trois bandes d'absorption : une bande intense à 330 nm et deux moins intenses à 237 nm et 286 nm. Il émet de la fluorescence à 439 nm (voir tableau 3-1). La valeur du coefficient d'extinction molaire ϵ est de $3,1 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et le rendement quantique Φ vaut 0,043, ce qui est cohérent avec un dérivé de quinoléine de structure similaire publié dans la littérature⁸ pour lequel ϵ est de $2,7 \times 10^4 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et Φ vaut 0,057 dans un mélange méthanol/eau.

Tableau 3- 1 : Propriétés photophysiques du composé modèle dans l'acétonitrile : longueur d'onde d'absorption maximale λ_{abs} , coefficient d'extinction molaire ϵ , longueur d'onde d'émission maximale λ_{em} , rendement quantique de fluorescence Φ .

	$\lambda_{abs} \text{ max}$ (nm)	ϵ ($\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	$\lambda_{em} \text{ max}$ (nm)	Φ
Composé modèle quinoléine	330	3,1E+04	439	0,043 ^a

^a réf sulfate de quinine dans l'acide sulfurique

Il est à noter que le composé modèle présente une photostabilité limitée. Les conditions d'excitation et d'enregistrement des spectres d'émission ont été optimisées afin de préserver la fluorescence du composé modèle. De même, l'utilisation d'un filtre à densité neutre permet de diminuer l'intensité de l'irradiation lumineuse. Ainsi, après 10 minutes d'irradiation continue une diminution de 5 % de l'émission de fluorescence de la sonde est enregistrée. Etant donné que l'enregistrement d'un spectre d'émission requiert une minute, il est possible d'effectuer un dosage complet sans dégrader la sonde.

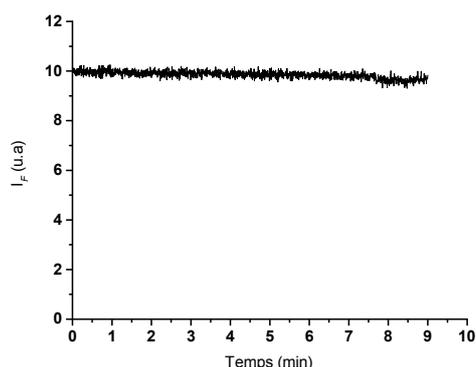


Figure 3- 7 : Emission du composé modèle sous irradiation ($\lambda_{exc} = 330 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 439 \text{ nm}$).

1.4) Complexation de l'ion zinc Zn^{2+}

La complexation du composé modèle avec le zinc a été suivie par absorption UV-Vis et fluorescence. Nous espérons obtenir une modification du spectre d'absorption et de fluorescence en présence de l'ion zinc. Les deux atomes d'azote du composé modèle sont susceptibles de former des liaisons de coordinations avec l'ion zinc.

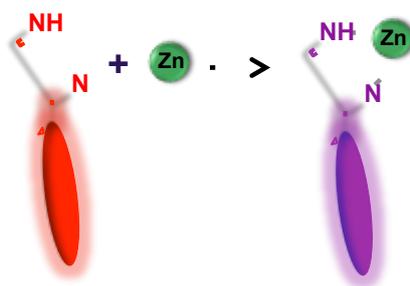


Figure 3- 8 : Principe de complexation et de détection de l'ion zinc par le composé modèle.

1.4.1) Modulation de l'absorption

Afin d'évaluer la capacité du composé modèle à se lier avec l'ion zinc, des dosages UV ont été réalisés dans l'acétonitrile. Le composé modèle a été placé à une concentration de $2,6 \mu\text{M}$ et des ajouts croissants d'une solution de perchlorate de zinc ont été effectués. Plusieurs modifications du spectre d'absorption sont observées : une diminution de la bande à 330 nm , une légère augmentation de la bande à 286 nm et un décalage hypsochrome pour la bande à 237 nm . L'ajout de Zn^{2+} a été effectué jusqu'à ce que le spectre d'absorption n'évolue plus. Il a pu être établi qu'un complexe coordination de stœchiométrie 1 : 1 se forme au cours du dosage.

La constante d'association K_{11} se rapporte à l'équilibre suivant :



Elle est définie ainsi :

$$K_{11} = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

Equation 3- 1

La constante d'association a été évaluée à $\log K_{11} = 6,32 \pm 0,16$ avec le logiciel Specfit. La constante d'association a été calculée à partir des dosages UV-Vis en raison de la photostabilité limitée des quinoléines. La formation de ce complexe de coordination se doit aussi de modifier la fluorescence afin de valider l'utilisation de ce fluorophore et son intégration dans le calix[6]arène.

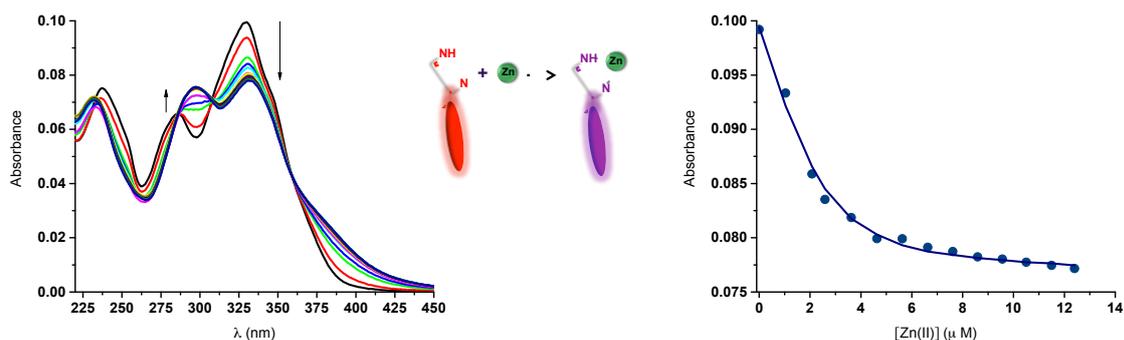


Figure 3- 9 : Spectres d'absorption du composé modèle à une concentration de 2,6 μM après ajouts croissants de $Zn(ClO_4)_2$ dans l'acétonitrile et évolution de l'absorption à 330 nm (fit en ligne continue).

1.4.2) Modulation de la fluorescence

L'influence de la complexation du Zn^{2+} sur la fluorescence du composé modèle a ensuite été mesurée. Le composé modèle a été placé à une concentration de 2,42 μM dans l'acétonitrile et une solution de perchlorate de zinc a été successivement ajoutée. Comme le montre la figure 3-10, l'ajout de zinc provoque l'apparition d'une nouvelle bande fluorescente beaucoup plus intense à 555 nm après excitation à 330 nm. Le rendement quantique du complexe formé entre le composé modèle et le zinc est de 19 %, ce qui est environ 4,5 fois supérieur à celui de la quinoléine non coordonnée. Cette exaltation de la fluorescence provient du fait que le transfert d'électron photoinduit est bloqué. En effet, le doublet de l'azote de la quinoléine est engagé dans une liaison de coordination avec l'ion Zn^{2+} et ne peut plus éteindre la fluorescence.

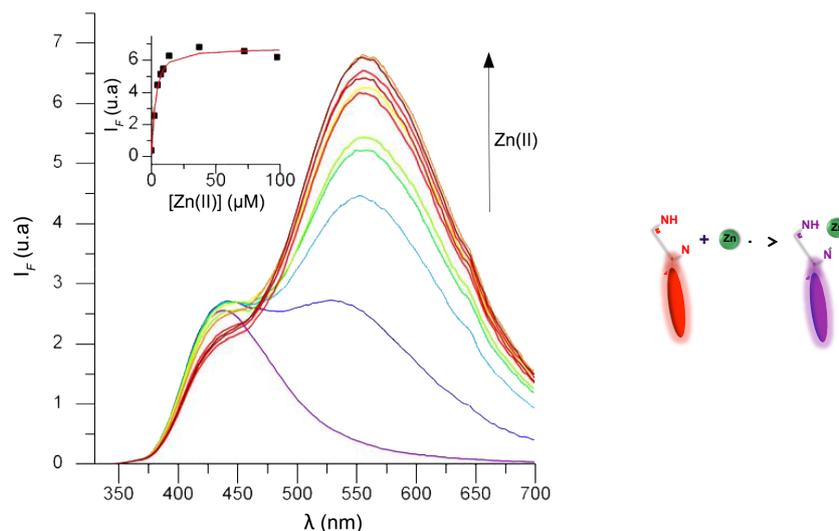


Figure 3- 10 : Spectres d'émission de fluorescence corrigés du composé modèle à une concentration de 2,47 μM (*en noir*) après ajouts croissants de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ dans l'acétonitrile et évolution de l'intensité de fluorescence à 555 nm (fit en ligne continue), $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$.

La formation du complexe de coordination conduit bien à un déplacement vers le rouge de l'émission de fluorescence car un transfert de charge a lieu après l'interaction entre les atomes d'azote du composé modèle et l'ion zinc. Le composé modèle choisi remplit ainsi les conditions nécessaires pour être greffé au grand col du calix[6]arène.

II) Synthèse et étude du calixarène fonctionnalisé par des ligands fluorescents

2.1) Synthèse du calix[6]arène

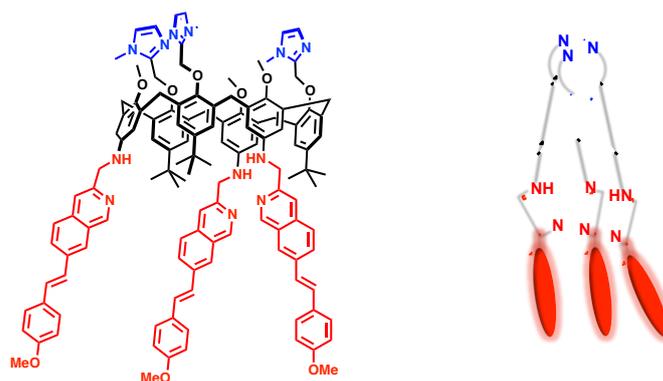


Figure 3- 11 : Structure du Calix-Quino et sa représentation schématique.

La synthèse du Calix-Quino a été réalisée par notre collaborateur Jean-Noël Rebilly à l'Université Paris Descartes.

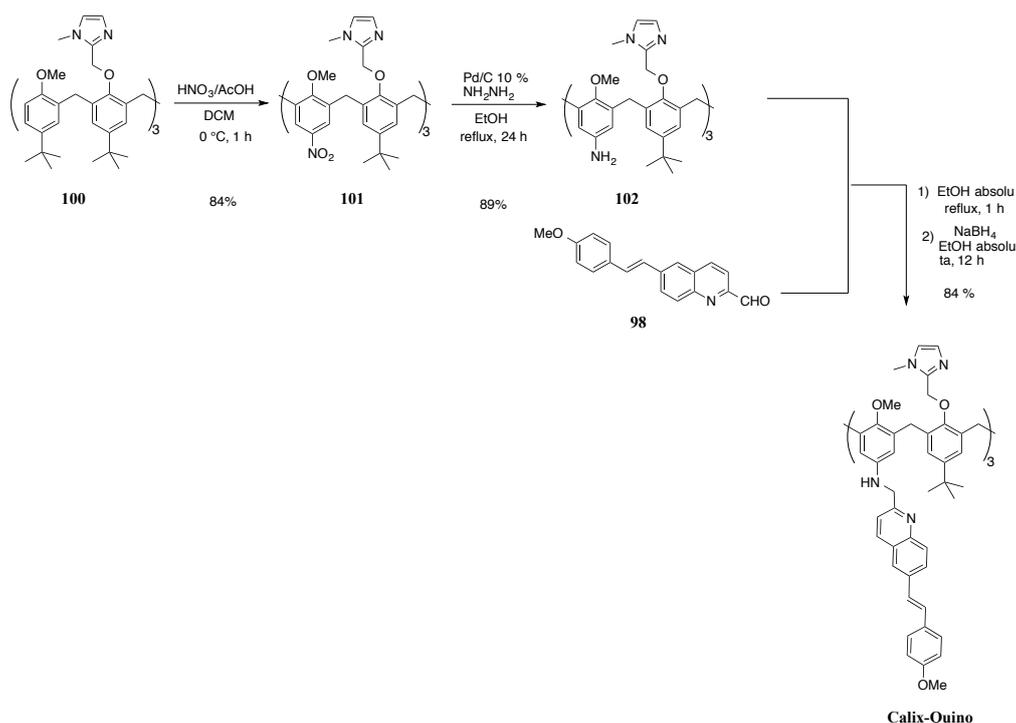


Schéma 3- 2 : Synthèse du Calix-Quino.

Le calix[6]arène-quinoléine que l'on nommera dans ce manuscrit Calix-Quino est obtenu à partir d'une réaction de condensation entre l'aldéhyde **98** et le dérivé de calix[6]arène **102** portant trois groupements -NH_2 avec un rendement de 84 %. Trois fluorophores ont ainsi pu être greffés au grand col. Le macrocycle est par ailleurs fonctionnalisé au petit col par trois groupements méthoxy et trois groupements méthylimidazoles. Ces derniers sont des ligands azotés très affins de l'ion zinc.

2.2) Propriétés photophysiques du calix[6]arène Calix-Quino

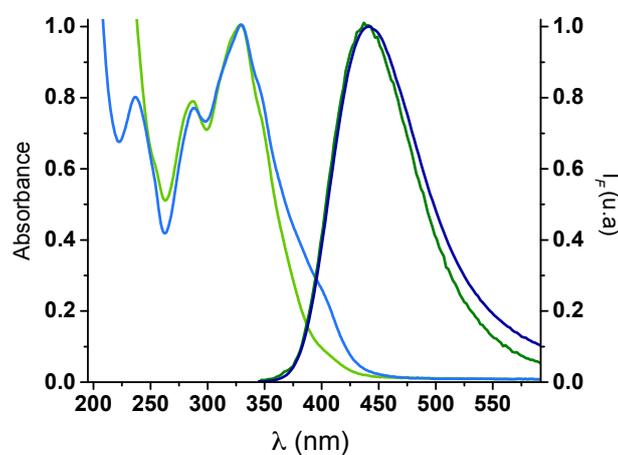


Figure 3- 12 : Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence normalisés du composé modèle (*en bleu clair et bleu foncé respectivement*) dans l'acétonitrile ($\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$) et du Calix-Quino (*en vert clair et vert foncé respectivement*) ($\lambda_{\text{exc}} = 339 \text{ nm}$).

Les propriétés photophysiques du Calix-Quino ont ensuite été étudiées dans l'acétonitrile. Le calixarène Calix-Quino absorbe à 329 nm et émet de la fluorescence à 443 nm, comme l'indique la figure 3-12. Le tableau 3-2 suivant compare les propriétés photophysiques du composé modèle et du calixarène.

Tableau 3- 2 : Propriétés photophysiques des sondes dans l'acétonitrile : longueur d'onde d'absorption maximale λ_{abs} , coefficient d'extinction molaire ϵ , longueur d'onde d'émission maximale λ_{em} , rendement quantique de fluorescence Φ .

	λ_{abs} (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	λ_{em} (nm)	Φ
Composé modèle	330	$3,1 \times 10^4$	439	0,043
Calix-Quino	329	$1,40 \times 10^5$	443	0,094

Les spectres d'absorption et d'émission sont très proches : un décalage de 1 nm est observé entre les deux bandes d'absorption respectives et un décalage de 4 nm est mesuré pour les bandes d'émission de fluorescence. Le coefficient d'extinction molaire du calixarène est un peu plus de trois fois supérieur à celui du composé modèle. Ceci peut être attribué à un effet du micro-environnement résultant de la proximité des trois fluorophores. Le rendement quantique du calixarène est différent de celui d'une molécule de fluorophore. Cet écart pourrait être dû à un transfert d'énergie entre les fluorophores.

2.3) Complexation de l'ion Zn²⁺

2.3.1) Modulation de l'absorption

La coordination du zinc par le Calix-Quino a été dans un premier temps suivi par spectroscopie UV. Le dosage conduit à une diminution de l'absorbance à 329 nm et un déplacement spectral de la bande à 286 nm jusqu'à 290 nm (voir figure 3-13). Ces modifications spectrales sont différentes de celles observées pour le composé modèle. En effet, l'évolution de l'absorbance à 329 nm montre que la complexation de l'ion zinc est séquentielle et que le Calix-Quino coordine deux ions Zn²⁺.

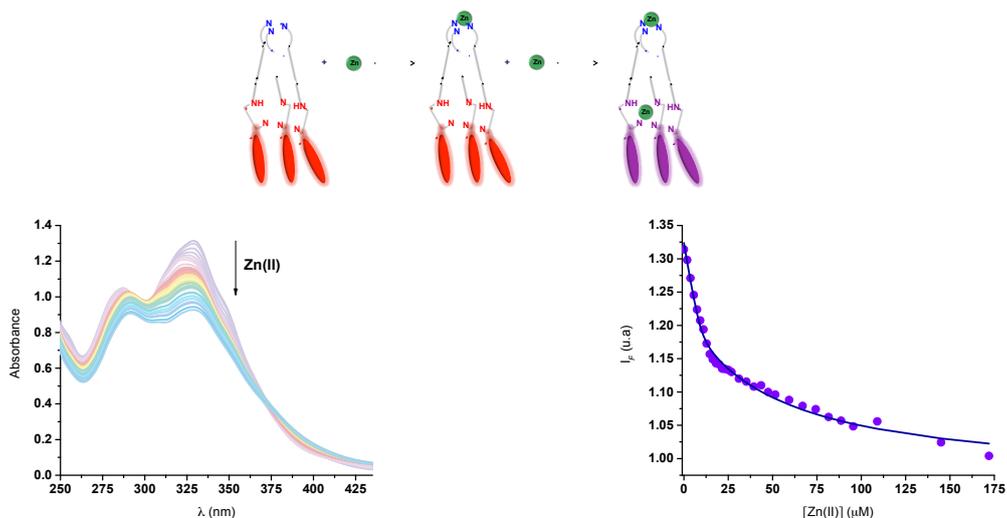


Figure 3- 13 : Spectres d'absorption de Calix-Quino ($[\text{Calix-Quino}] = 9,33 \mu\text{M}$) après ajouts de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ dans CH_3CN et évolution de l'absorption à 329 nm (fit en ligne continue, les derniers points ont été négligés), $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$.

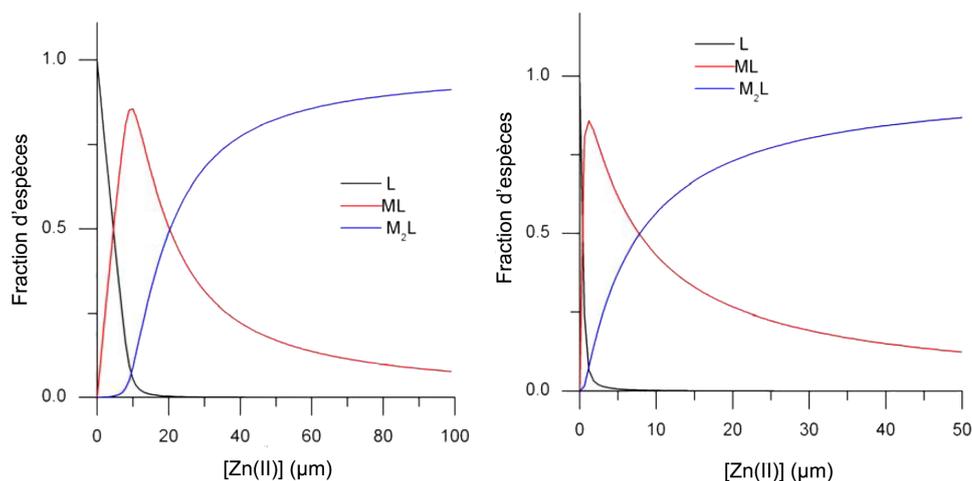


Figure 3- 14 : Diagramme de spéciation des différents complexes formés durant le dosage de Calix-Quino par $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$, à gauche : $[\text{Calix-Quino}] = 9,33 \mu\text{M}$, à droite : $[\text{Calix-Quino}] = 0,61 \mu\text{M}$.

L'analyse globale des spectres d'absorption avec le logiciel Specfit permet d'extraire deux constantes d'association liées à la formation de ce complexe dinucléaire :



$$\text{Log } \beta_1 = \text{log } K_{11} = 7,3 \pm 0,2$$

$$\text{Log } K_{21} = 5,2 \pm 0,2$$

$$\text{avec } \text{log } \beta_2 = \text{log } K_{11} + \text{log } K_{21} = 12,5 \pm 0,2$$

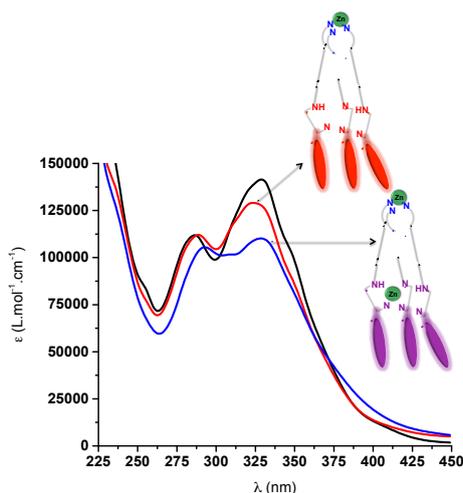


Figure 3- 15 : Evolution du spectre d'absorption durant le dosage de Calix-Quino par $Zn(ClO_4)_2$ dans CH_3CN , ($[CALix-Quino] = 9,33 \mu M$) et spectres UV-Vis simulés par Specfit selon le modèle décrit.

Nous pouvons émettre l'hypothèse que le premier événement se produisant après l'ajout de Zn^{2+} est la coordination de ce dernier au petit col du calixarène *via* les trois groupements imidazoles. La valeur de K_{11} est en accord avec les composés de structure similaire précédemment reportés ($6,3 < \log K_{11} < 9,2$), notamment celui contenant trois groupements anilines au grand col (pour lequel $\log K_{11} = 6,4$). La valeur de K_{21} est quant à elle légèrement différente de la constante d'association mesurée pour le composé modèle, ce qui pourrait indiquer un autre mode de coordination de l'ion Zn^{2+} .

Ainsi, il se forme lors du dosage UV les espèces $[(Calix-Quino)Zn(CH_3CN)]^{2+}$ et $[(Calix-Quino)Zn_2(CH_3CN)]^{2+}$.

2.3.2) Modulation de la fluorescence

La coordination de l'ion Zn^{2+} par le calixarène a ensuite été suivie par fluorescence. Le Calix-Quino a été placé à une concentration de $0,61 \mu M$ et des ajouts croissants de zinc ont été effectués. Deux événements séquentiels ont ainsi été mis en évidence et sont en accord avec les études RMN. En effet, les premiers ajouts conduisent à une légère diminution de l'intensité de la bande fluorescente du calixarène à 443 nm puis une nouvelle bande décalée de 110 nm à 553 nm apparaît (voir figure 3-16). En utilisant les constantes d'association K_{11} et K_{21} calculées à l'aide du dosage UV, le diagramme de spéciation a pu être établi à cette concentration. $1,8 \mu M$ d'ion Zn^{2+} conduisent à 83 % du complexe monozincique (il s'agit du maximum).

Le spectre de fluorescence du complexe monozincique n'est pas très affecté par la présence de zinc car les fluorophores ne sont pas suffisamment proches de ce dernier pour voir leur fluorescence modifiée. Toutefois, les petites modifications enregistrées ont été attribuées au rapprochement des groupements quinoléines entre eux, qui est consécutif à la coordination du zinc au petit col.

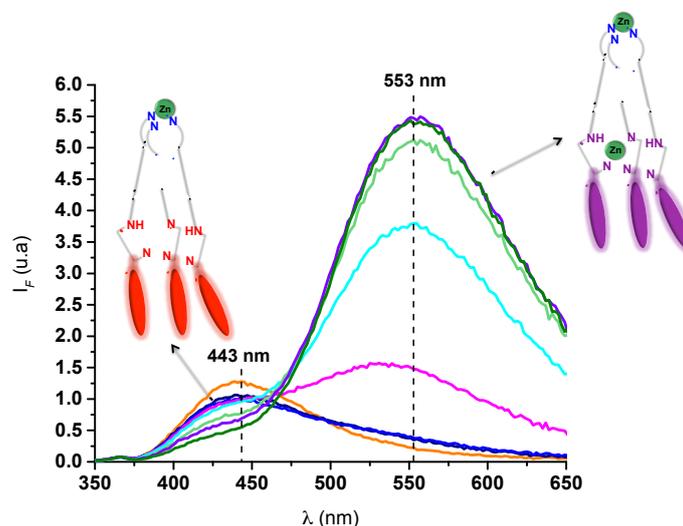


Figure 3- 16 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés et corrigés du Calix-Quino à une concentration de 0,61 μM (en orange) après ajouts croissants de $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ dans CH_3CN , $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$.

Si la coordination du zinc au petit col ne modifie pas beaucoup la fluorescence, la coordination au grand col du deuxième zinc entraîne l'apparition d'une bande à 553 nm de plus en plus intense. Ces observations sont en accord avec le fait que le deuxième zinc vient se coordiner aux groupements quinoléines, ce qui induit des modifications beaucoup plus significatives.

III) Complexation des amines

La capacité du Calix-Quino à coordonner l'ion Zn^{2+} et à former un complexe dinucléaire a été étudiée par spectroscopie RMN, spectrométrie UV et par fluorescence. La prochaine étape est donc d'évaluer sa capacité à servir de capteur fluorescent pour les amines aliphatiques. La détection par fluorescence de diverses amines aliphatiques a été testée dans l'acétonitrile.

3.1) Réponse fluorescente du complexe zincique mononucléaire en présence de l'heptylamine

La capacité du complexe mononucléaire à agir en tant que capteur fluorescent des amines aliphatiques a été évaluée. La détection de l'heptylamine par ce complexe a dans un premier temps été testée. Cette dernière a ainsi été ajoutée à une solution contenant 83 % du complexe $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$. L'amine aliphatique entraîne un décalage spectral de l'émission de fluorescence de 443 nm à 471 nm. La bande formée est de plus beaucoup plus intense.

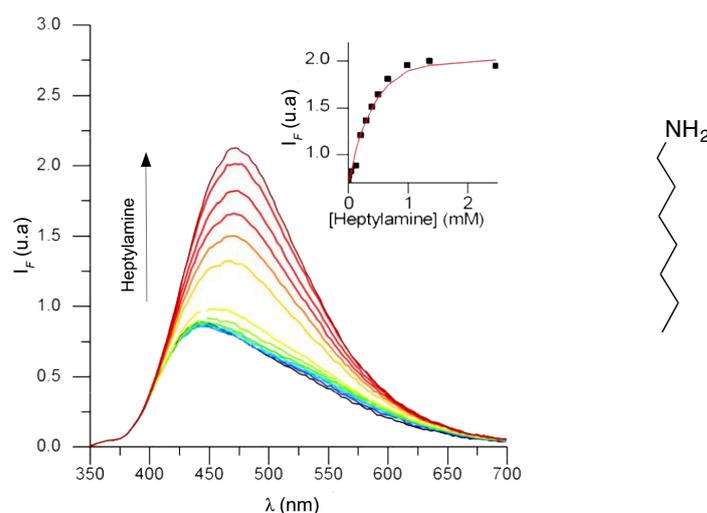


Figure 3- 17 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés du mélange 1/3 [Calix-Quino]/[Zn^{2+}] (en noir) ([Calix-Quino] = 0,57 μM) après ajouts d'heptylamine dans CH_3CN et évolution de l'intensité de fluorescence à 500 nm en fonction de la concentration d'heptylamine (fit obtenu en ligne continue), $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$.

L'évolution de l'intensité de fluorescence à 471 nm a été modélisée de la façon suivante :



La constante d'association de l'heptylamine a été évaluée à $\log K_G = 3,37 \pm 0,04$. Les valeurs de constantes précédemment reportées pour l'échange acétonitrile/heptylamine au niveau de la sphère de coordination de l'ion Zn^{2+} incluant les groupements imidazoles sont supérieures à 65 (selon la spectroscopie RMN ^1H dans le chloroforme)⁹ ou égale à $1,2 \times 10^3$ (selon la technique de titration calorimétrique isotherme (ITC) dans le THF¹⁰). Bien que nous nous attendions pas à des constantes identiques car le système diffère un peu (l'acétonitrile est à la fois le solvant et la molécule invitée), la constante K_G pour l'heptylamine est dans la gamme attendue.

Une expérience supplémentaire a été réalisée afin de confirmer que l'exaltation de la fluorescence n'est observée qu'en présence de la cavité du calix[6]arène. En effet, comme le montre la figure 3-18, l'ajout d'heptylamine sur le composé modèle ne conduit pas à une modification significative de l'intensité de la fluorescence. La détection d'amines n'est ainsi possible qu'avec le Calix-Quino alors que le fluorophore ne permet pas à lui seul de sonder la présence d'amines aliphatiques. Par conséquent, la modification de la fluorescence mesurée avec les amines n'est pas simplement due à la protonation des atomes d'azote du fluorophore mais à l'encapsulation de celles-ci dans la cavité du calixarène.

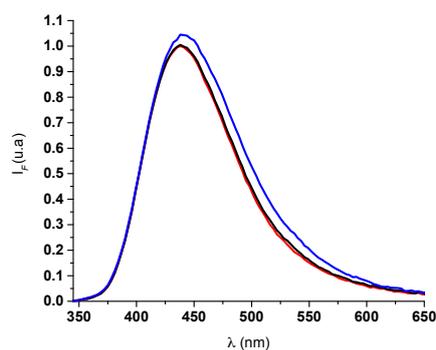


Figure 3- 18 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés du composé modèle (*en noir*) ([Composé modèle] = 3,21 μM) après ajouts d'heptylamine dans CH_3CN , *en rouge* : [amine] = 1,62 mM, *en bleu*: [amine] = 15,1 mM, $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$.

3.2) Réponse fluorescente du complexe dizincique en présence de l'heptylamine

Nous avons ensuite étudié la réponse fluorescente du complexe dinucléaire en présence de l'heptylamine afin de déterminer si l'encapsulation se produit également. Cela permet par ailleurs d'évaluer la modulabilité du système fluorescent.

Pour cela, le Calix-Quino a été placé à une concentration de 0,61 μM dans l'acétonitrile et 16 μM de Zn^{2+} ont été ajoutés afin de former 70 % de complexe dinucléaire (et 30 % de complexe mononucléaire). L'heptylamine a ensuite été ajoutée dans la solution. Comme l'indique la figure 3-19, l'ajout de cette amine aliphatique conduit à la diminution de la bande initiale à 553 nm (événement 1) puis permet de régénérer la bande à 443 nm correspondant au Calix-Quino (voir courbe rose). Une bande à 463 nm est finalement observée (événement 2). Cela diffère un peu de la bande à 471 nm obtenue à partir du complexe mononucléaire car la sonde est très sensible aux modifications de son milieu. En effet, le milieu environnant n'est pas exactement le même et plusieurs espèces sont présentes en solution.

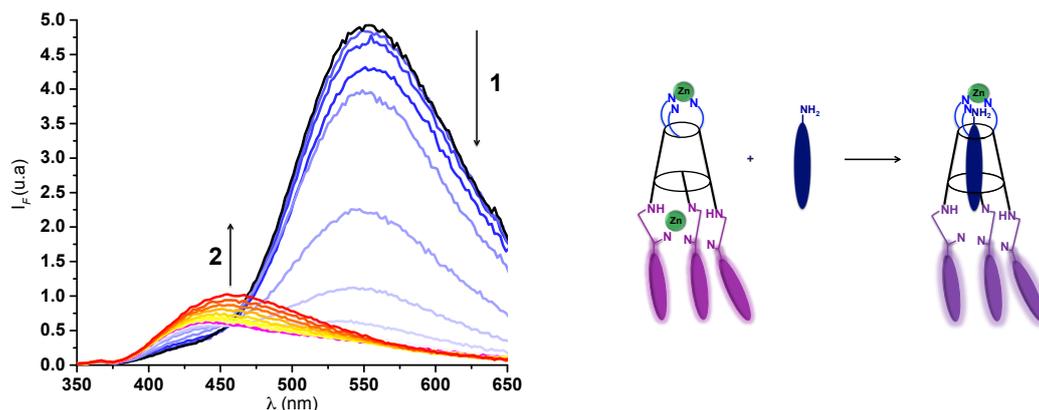


Figure 3- 19 : Evolution du spectre d'émission de fluorescence du mélange $[\text{Calix-Quino}]/[\text{Zn}^{2+}] = 1/27$ (en noir) avec $[\text{Calix-Quino}] = 0,61 \mu\text{M}$ dans l'acétonitrile après ajouts croissants d'heptylamine, $\lambda_{\text{exc}} = 330 \text{ nm}$.

Ces observations nous permettent d'établir que l'heptylamine agit dans un premier temps comme une base et capte le zinc présent en excès dans la solution. Le zinc en excès se retrouve alors sous la forme d'hydroxyde de zinc ou complexé par l'heptylamine. Ceci permet alors de régénérer le complexe mononucléaire $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ de façon transitoire (ce qui correspond à la bande à 443 nm). L'heptylamine ensuite introduite est alors libre de rentrer dans la cavité du calixarène. L'espèce $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{Heptylamine})]^{2+}$ est ainsi formée et émet à 463 nm. Cette expérience prouve que l'heptylamine peut être encapsulée par le calixarène.

3.3) Réponse fluorescente du complexe monozincique en présence d'autres amines aliphatiques

La détection d'autres amines aliphatiques a ensuite été testée à savoir la propylamine, l'éthanolamine et la tyramine (voir figures 3-20, 3-21, 3-22). La tyramine et l'éthanolamine sont des amines biogéniques ; leur détection représente donc un intérêt pour la société. Quant à la propylamine, cela permettra d'évaluer l'influence de la longueur de la chaîne sur la perturbation de la fluorescence.

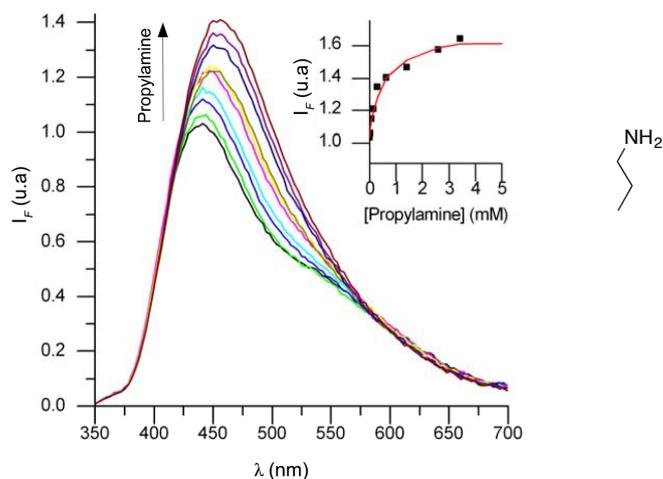


Figure 3- 20 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés du mélange 1/3 [Calix-Quino]/[Zn²⁺] (*en noir*) ([Calix-Quino] = 0,50 μM) après ajouts de propylamine dans CH₃CN et évolution de l'intensité de fluorescence à 500 nm en fonction de la concentration de propylamine (fit obtenu en ligne continue), λ_{exc} = 330 nm.

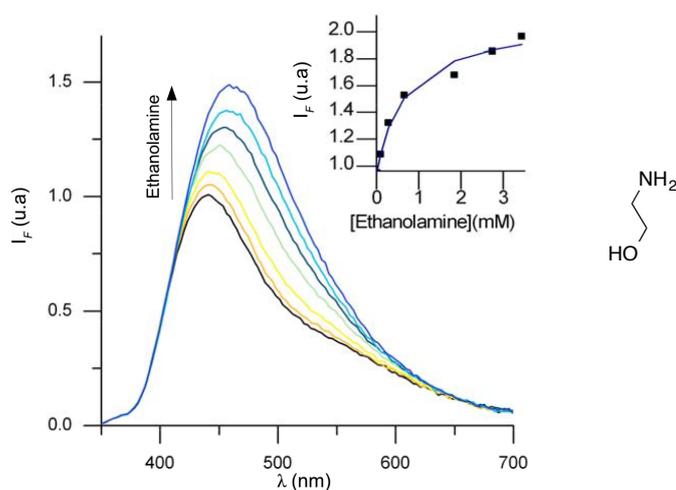


Figure 3- 21 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés du mélange 1/3 [Calix-Quino]/[Zn²⁺] (*en noir*) ([Calix-Quino] = 0,50 μM) après ajouts d'éthanolamine dans CH₃CN et évolution de l'intensité de fluorescence à 500 nm en fonction de la concentration d'éthanolamine (fit obtenu en ligne continue), λ_{exc} = 330 nm.

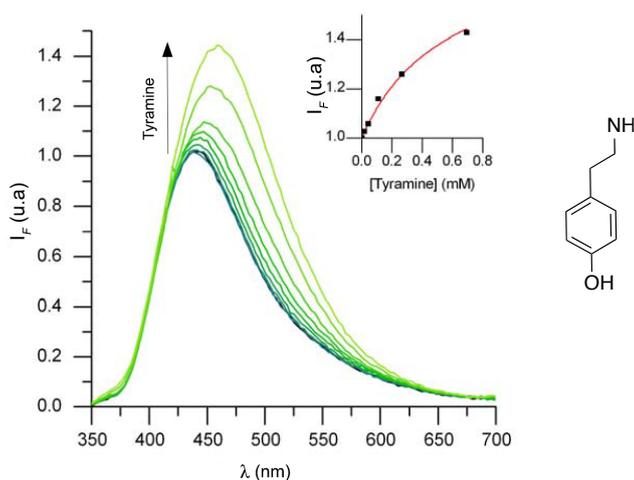


Figure 3- 22 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés du mélange 1/3 [Calix-Quino]/[Zn²⁺] (en noir) ([Calix-Quino] = 0,44 μM) après ajouts de tyramine dans CH₃CN et évolution de l'intensité de fluorescence à 500 nm en fonction de la concentration de tyramine (fit obtenu en ligne continue), λ_{exc} = 330 nm.

Ces amines aliphatiques entraînent chacune une exaltation de la fluorescence plus ou moins forte et un décalage de la bande d'émission caractéristique. Les réponses fluorescentes obtenues avec ces amines primaires sont comparées dans le tableau 3-3 suivant.

Tableau 3- 3 : Décalage de la longueur d'onde d'émission $\Delta\lambda_{em} = \lambda_{em\ max} (amine) - \lambda_{em\ max} (Calix-Quino)$, exaltation de l'intensité de fluorescence ΔI_F , logarithme de la constante d'association avec l'amine invitée $\log K_G$.

	Propylamine <chem>CCCN</chem>	Ethanolamine <chem>CCO</chem>	Heptylamine <chem>CCCCCCCN</chem>	Tyramine <chem>CC(N)Cc1ccc(O)cc1</chem>
$\Delta\lambda_{em}$ (nm)	+ 13	+ 22	+ 28	+ 25
ΔI_F	1,6	2,1	3,1	1,7
Log K_G	3,32 ± 0,09	3,17 ± 0,08	3,37 ± 0,04	1,22 ± 0,05

Le décalage de la bande d'émission $\Delta\lambda_{em}$ semble être corrélé à l'encombrement stérique de l'amine encapsulée et varie entre $\Delta\lambda_{em} = + 13$ nm pour la propylamine et $\Delta\lambda_{em} = + 28$ nm pour l'heptylamine.

Par ailleurs, l'exaltation de la fluorescence dépend aussi de l'amine : les amines aliphatiques à longues chaînes induisent une plus forte augmentation de la fluorescence des quinoléines. Le calixarène peut être considéré comme un système capable de s'adapter à son

invité. C'est pourquoi une amine aliphatique à courte chaîne peut rentrer dans la cavité sans engendrer trop de changements conformationnels. Les groupements quinoléines restent alors proches les uns des autres ce qui provoque une extinction de leur fluorescence.

Par contre, une amine à longue chaîne pousse les groupements quinoléines et perturbe l'interaction entre les groupements quinoléines ce qui permet de restaurer la fluorescence des quinoléines. L'affinité du récepteur fluorescent pour la tyramine est plus faible en raison de son cycle phényle qui l'encombre d'un point de vue stérique.

Les effets sur la fluorescence d'une amine plus encombrée telle que la *tert*-butylamine ont aussi été étudiés. Il a été démontré que l'ajout de cette amine sur le complexe dinucléaire n'entraîne pas de modification de la fluorescence (voir figure 3-23). Ceci a été attribué au fait que l'amine est trop encombrée stériquement pour rentrer dans la cavité du calixarène. Le récepteur fluorescent est ainsi sélectif vis-à-vis des amines primaires.

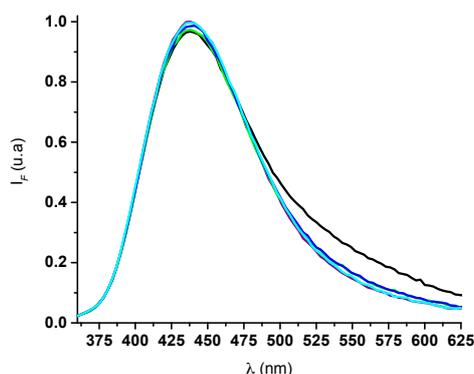


Figure 3- 23 : Spectres d'émission de fluorescence normalisés du mélange 1/3 [Calix-Quino]/[Zn^{2+}] (en noir) ([Calix-Quino] = 0,436 μ M) après ajouts de *tert*-butylamine dans CH_3CN , en vert : [amine] = 3×10^{-4} M, en bleu foncé : [amine] = $1,78 \times 10^{-3}$ M, en bleu clair : [amine] = $1,2 \times 10^{-2}$ M, $\lambda_{exc} = 330$ nm.

Ainsi, nous avons développé un récepteur moléculaire fluorescent efficace pour la détection d'amines aliphatiques ce qui nous amène à tirer les conclusions suivantes. Selon l'amine primaire introduite, l'exaltation de la fluorescence ainsi que le décalage spectral de la nouvelle bande d'émission de fluorescence est différente. Des constantes d'association pour l'amine invitée ont pu aussi être calculées. Le macrocycle présente par ailleurs une sélectivité vis-à-vis des amines primaires. En effet, si l'encombrement stérique de l'amine est trop important, celle-ci ne pourra pas rentrer dans la cavité du calix[6]arène et la fluorescence de la sonde ne sera pas perturbée.

Toutefois, la photostabilité de la sonde étant limitée, il serait judicieux de remplacer la double liaison de la quinoléine (responsable de la photodégradation) par une triple liaison plus robuste.

IV) Etudes RMN

Les études RMN de coordination avec le zinc ont été effectuées par Jean-Noël Rebilly à l'Université Paris Descartes et permettent de confirmer les hypothèses émises à la suite des études photophysiques.

4.1) Etude de coordination de l'ion Zn^{2+}

Le spectre RMN du Calix-Quino dans un mélange $CD_3CN/CDCl_3$ à température ambiante est constitué de signaux larges. L'ajout de Zn^{2+} à la solution permet d'affiner considérablement ces signaux pour aboutir à une seule espèce en présence d'un équivalent de l'ion métallique. Le spectre est en accord avec la formation d'une espèce présentant une symétrie C_{3v} . Un calixarène monozincique coordinant un ion Zn^{2+} au petit col a en effet déjà été caractérisé par RMN et possède un spectre similaire¹¹. La figure **3-24** montre la structure envisagée pour le calixarène en s'appuyant sur les caractéristiques spectrales. Les protons appartenant aux fluorophores sont déplacés vers les champs forts (ils sont alors « blindés ») par rapport au fragment quinoléine sans la cavité (voir figure **3-25**). Ceci est dû au fait que la coordination du Zn^{2+} au petit col rigidifie la structure du calixarène en conformation cône. Dans cette conformation, les anilines se déplacent vers l'intérieur de la cavité et rapprochent les groupements quinoléines entre eux. Les protons aromatiques des fluorophores se retrouvent alors dans le cône de blindage de la quinoléine voisine ce qui entraîne un « blindage » de leurs protons.

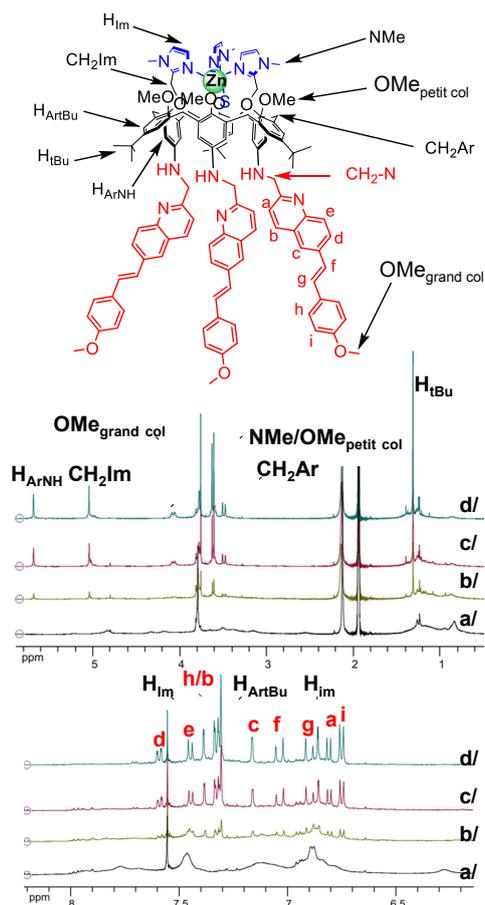


Figure 3- 24 : Dosage RMN ^1H du Calix-Quino par le $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ (CD_3CN , 500 MHz, 300 K), a) Calix-Quino, b) + 0,3 éq. Zn^{2+} , c) + 0,6 éq. Zn^{2+} , d) + 1 éq. Zn^{2+} .

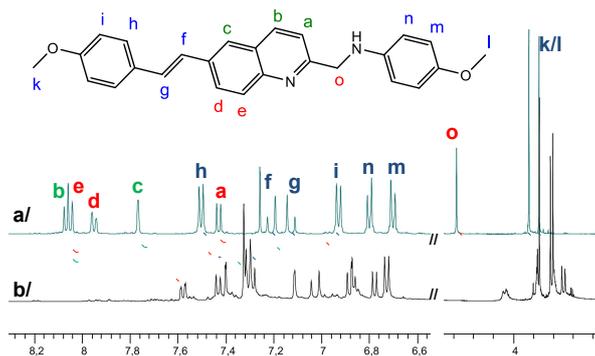


Figure 3- 25 : Comparaison des spectres RMN ^1H : a) du fragment quinoléine dénué de cavité (CDCl_3 , 500 MHz, 300 K) et b) d'un mélange 1 : 1 du Calix-Quino et de $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ attribuée au complexe $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})(\text{OTf})_2]$ ($\text{CD}_3\text{CN}/\text{CDCl}_3$, 4 : 1, 500 MHz, 300 K).

4.2) Formation du complexe dinucléaire

Les ajouts supplémentaires d'équivalents de Zn^{2+} induisent une grande complexification du spectre RMN 1H (voir figure 3-26).

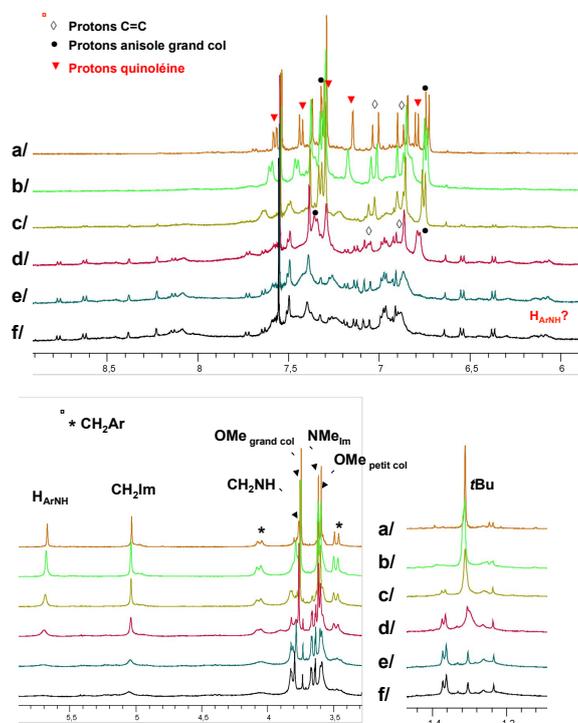


Figure 3- 26 : Dosages RMN 1H (CD_3CN , 500 MHz, 300 K) d'un mélange 1 : 1 du Calix-Quino et de $Zn(OTf)_2$ attribuée au complexe $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2]$ par le $Zn(OTf)_2$, a) $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2]$, b) $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2] + 0,3 \text{ \u00e9q. } Zn^{2+}$, c) $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2] + 0,6 \text{ \u00e9q. } Zn^{2+}$, d) $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2] + 1 \text{ \u00e9q. } Zn^{2+}$, e) $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2] + 2 \text{ \u00e9q. } Zn^{2+}$, f) $[(Calix-Quino)Zn(CD_3CN)(OTf)_2] + 3 \text{ \u00e9q. } Zn^{2+}$.

Les signaux des protons des groupements *tert*-butyles sont désormais séparés en six pics, ce qui indique la présence d'un mélange d'espèces de plus faible symétrie. Par ailleurs, un nouveau groupe de signaux aromatiques apparaît entre un et deux équivalents de Zn^{2+} ajoutés qui est conservé en présence d'excès de zinc. Une partie des protons de la quinoléine sont déblindés au-delà de 8 ppm et un autre groupe est blindé entre 6,5 ppm et 6,8 ppm. Ces observations permettent d'établir que le deuxième équivalent de Zn^{2+} vient se coordonner aux atomes d'azote de la quinoléine. Les différentes quinoléines se retrouvent ainsi liées au même centre métallique. Les signaux des protons CH_2-N sont, quant à eux légèrement déplacés vers les champs faibles signalant une coordination partielle au zinc.

De plus, un nouvel ensemble de signaux, noté H_{ArNH} , est observé à 6,1 ppm alors que les signaux initiaux à 5,6 ppm diminuent et s'élargissent dans le même temps. Ceci prouve que la

cavité du calixarène est partiellement ouverte par rapport au complexe mononucléaire. Comme les protons de la quinoléine sont blindés, ils sont situés dans un cône de blindage formé par une unité aromatique, ce qui est cohérent avec le fait que deux quinoléines participent à la sphère de coordination du zinc. Il est toutefois difficile de définir précisément la structure de ce complexe dinucléaire. Un excès de zinc permet de déplacer l'équilibre vers ce complexe dinucléaire $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})(\text{Zn})]^{2+}$.

4.3) Encapsulation de l'heptylamine

Notons que l'ajout d'heptylamine sur le complexe dinucléaire $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})(\text{Zn})]^{2+}$ entraîne la précipitation des ions Zn^{2+} libres en solution sous leur forme hydroxyde comme l'atteste l'apparition des signaux de l'ammonium à 6,2 ppm. L'ajout de six équivalents d'heptylamine conduit à la décoordination de l'ion Zn^{2+} au grand col pour former le complexe monozincique $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+}$. L'addition d'équivalents d'heptylamine permet d'obtenir l'adduit hôte-invité de structure identique à celui obtenu à partir d'ajouts d'heptylamine sur le complexe $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+}$. L'adduit est caractérisé par une symétrie C_{3v} .

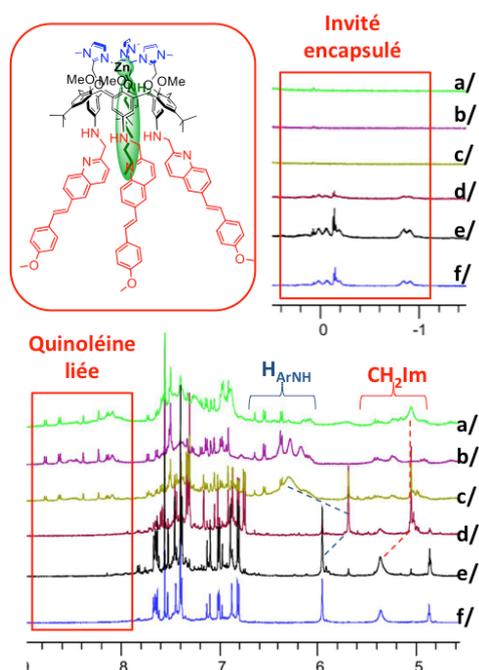


Figure 3- 27 : Ajout de l'heptylamine à une solution contenant le Calix-Quino et 4 éq. de $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ (CD_3CN , 500 MHz, 300 K). a/ Calix-Quino + 4 éq. Zn^{2+} , b/+ 2 éq. heptylamine, c/ + 4 éq. heptylamine, d/ + 6 éq. heptylamine, e/ + 8 éq. heptylamine, f/ spectre de référence : Calix-Quino + 1 éq. Zn^{2+} + 2.5 éq. heptylamine.

Deux observations ont mis en évidence l'encapsulation de l'heptylamine. D'une part, les signaux de ses protons sont déplacés vers les champs forts entre 0 et -2 ppm (voir figure 3-

28). D'autre part, les protons adjacents aux groupes imidazoles (notés CH_2Im) se retrouvent déblindés en raison de la formation de liaisons hydrogène entre le groupement NH_2 de l'heptylamine et les atomes d'oxygène du petit col du calixarène (voir figure 3-27).

L'inclusion de l'amine aliphatique induit un mouvement d'ouverture de la cavité comme l'indique le déblindage observé des protons appartenant aux groupements anilines notés H_{ArNH} et des protons des unités quinoléines. En effet, la cavité du calixarène constitue un cône de blindage ainsi que les unités aromatiques des quinoléines. Par conséquent, le déblindage des protons prouve que l'encapsulation de l'amine écarte les fluorophores les uns des autres. L'espèce ainsi formée est $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{Heptylamine})]^{2+}$.

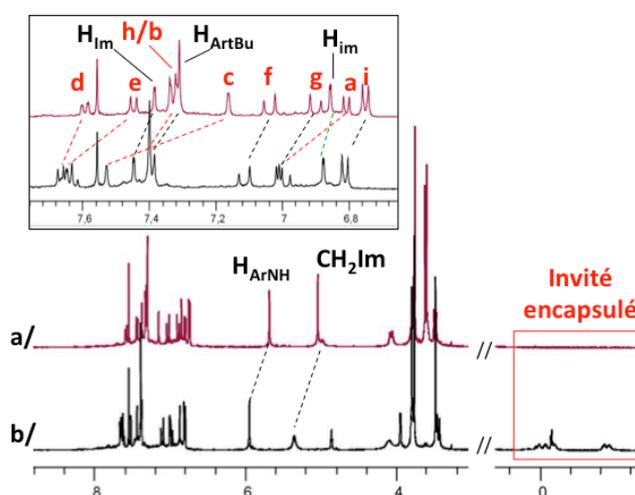


Figure 3- 28 : Formation de l'adduit hôte-invité mononucléaire (CD_3CN , 500 MHz, 300 K), a) $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+}$, b) $[(\text{Calix-Quino})\text{Zn}(\text{CD}_3\text{CN})]^{2+} + 2,5 \text{ éq. heptylamine}$.

La coordination du zinc et la formation de l'adduit hôte-invité sont résumées et schématisées dans la figure 3-29 ci-dessous.

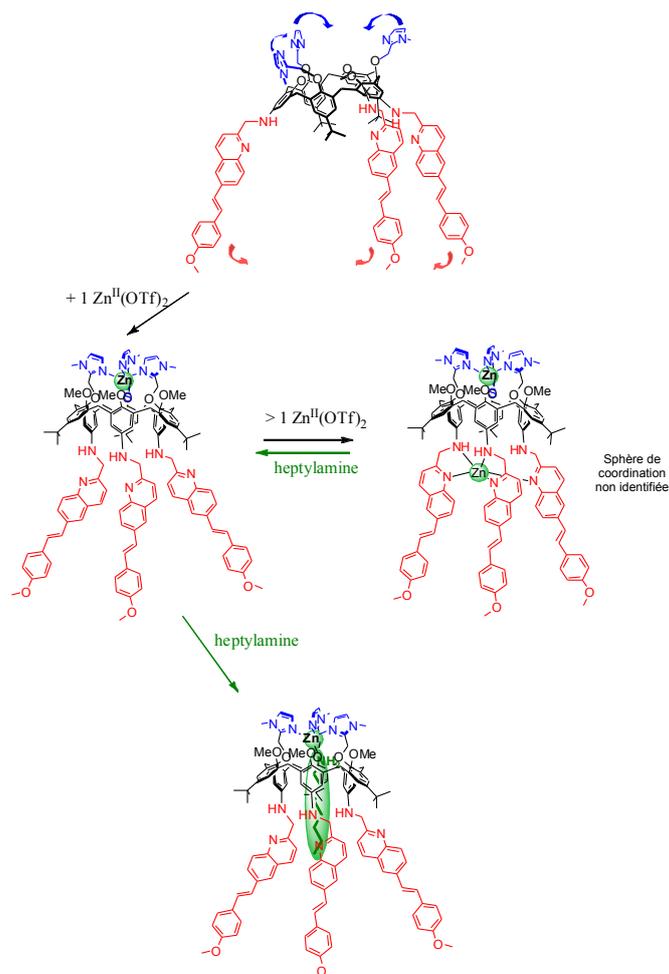


Figure 3- 29 : Ensemble des espèces rencontrées après ajouts de Zn²⁺ et d'heptylamine.

Ainsi les expériences RMN confirment les hypothèses que nous avons émises lors des études spectroscopiques. En effet, deux évènements séquentiels se produisent lors de l'ajout de zinc. Le premier zinc vient se positionner au petit col tandis que le deuxième complexe les quinoléines au grand col. La première complexation ne perturbe pratiquement pas la fluorescence des quinoléines mais induit un rapprochement entre elles. La deuxième complexation induit quant à elle de profondes modifications de l'émission. Enfin, le calix[6]arène joue son rôle de récepteur macrocyclique fluorescent et encapsule l'heptylamine dans sa cavité.

Références bibliographiques

- ¹ J.-N. Rebilly, O. Bistri, B. Colasson, O. Reinaud, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 5965–5974.
- ² O. Sénèque, M. N. Rager, M. Giorgi, O. Reinaud, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6183-6189.
- ³ X. Meng, S. Wang, Y. Li, M. Zhu, Q. Guo, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 4196–4198.
- ⁴ Y. Shiraishi, C. Ichimura, S. Sumiya, T. Hirai, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 8324–8332.
- ⁵ Z. Yan, H. Xu, S. Guang, X. Zhao, W. Fan, X. Y. Liu, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 345–352.
- ⁶ S. Wang, X. Meng, M. Zhu, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2840–2843.
- ⁷ M. Hassani, W. Cai, D. C. Holley, J. P. Lineswala, B. R. Maharjan, G. R. Ebrahimian, H. Seradj, M. G. Stocksdale, F. Mohammadi, C. C. Marvin, et al., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7733–7749.
- ⁸ Y. Li, H. Chong, X. Meng, S. Wang, M. Zhu, Q. Guo, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 6189–6194.
- ⁹ O. Sénèque, M. N. Rager, M. Giorgi, O. Reinaud, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8442-8443.
- ¹⁰ K. Kano, M. Kondo, H. Inoue, H. Kitagishi, B. Colasson, O. Reinaud, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 6353-6360.
- ¹¹ D. Coquière, J. Marrot, O. Reinaud, *Chem. Comm.* **2006**, 3924-3926.

Conclusion générale

Conclusion générale

Diverses sondes moléculaires fluorescentes ont été conçues pour la détection d'une part de la molécule d'atrazine, de ses produits de dégradation et des dérivés de la mélamine, et d'autre part des amines aliphatiques. Des fluorophores à transfert de charge dérivés de la molécule de maléimide, de naphthalimide et de l'acide barbiturique ont ainsi été synthétisés pour la détection des triazines alors qu'un calix[6]arène-fluorescent et son composé modèle ont été développés pour la détection des amines aliphatiques.

Leurs propriétés photophysiques ont ensuite été étudiées. Certaines sondes se sont révélées très fluorescentes alors que d'autres possèdent des rendements quantiques beaucoup plus faibles. Les déclins de fluorescence ont été mesurés et la sonde Naphth-TriazoleOMe a présenté une photophysique complexe. De plus, les trois sondes MaleOMe, Naphth-TriazoleOMe et Naphth-AlcyneOMe sont caractérisées par un fort solvatochromisme. En outre, Naphth-AlcyneOMe et TBA-BARB possèdent également une fluorescence à l'état solide et Naphth-AlcyneOMe semble prometteur pour remplir la fonction de sonde pour pH élevé.

En parallèle de ces études photophysiques, des calculs de modélisation moléculaire ont fourni de solides informations sur la photophysique des sondes. Les calculs DFT ont apporté des éléments de compréhension supplémentaires sur le transfert de charge intramoléculaire et la TD-DFT a été utilisée pour modéliser les spectres d'absorption. La spectroscopie RMN a permis de confirmer l'encapsulation de l'heptylamine à l'intérieur de la cavité du calix[6]arène ainsi que l'interaction avec l'atrazine pour les sondes naphthalimides et maléimide par liaison hydrogène.

Il apparaît ainsi que la fonction imide joue son rôle d'unité de reconnaissance et permet aux sondes d'interagir avec les molécules de triazines *via* des liaisons hydrogène. Pour les sondes MaleOMe, Naphth-AlcyneOMe, Naphth-TriazoleOMe et Naphth-NHBu, l'interaction ne modifie pas suffisamment la fluorescence et notamment le transfert de charge intramoléculaire de ces sondes. Comme la perturbation des effets photophysiques n'est pas suffisante, une autre stratégie reposant sur le phénomène d'AIE semble se dessiner.

En effet, l'AIE est responsable en partie de la forte exaltation de fluorescence de TPA-BARB en présence des dérivés de mélamine MA1 et MA2. La constitution d'un micro-environnement hydrophobe explique aussi les effets obtenus. Ces résultats obtenus en

présence des dérivés de mélamine ouvrent la voie à l'exploration d'autres sondes capables de former des réseaux supramoléculaires avec les dérivés de la mélamine ou des composés de structure similaire. Il faudrait alors utiliser un fluorophore faiblement fluorescent en raison de la liberté de rotation d'une de ses liaisons. Cela permettra de tirer profit du phénomène d'AIE.

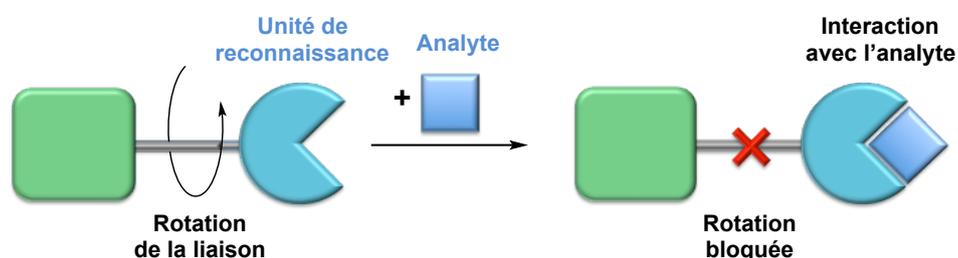


Figure 1 : Stratégie de détection des dérivés de la mélamine.

L'interaction avec l'analyte *via* des liaisons hydrogène, des interactions π - π ou CH- π empêcherait la rotation de cette liaison provoquant une exaltation de la fluorescence. Cette exaltation de la fluorescence conduirait alors à des assemblages très fluorescents. Nous avons caractérisé ceux formés avec la sonde TPA-BARB et le dérivé de mélamine MA1 par microscopie de fluorescence mais d'autres méthodes de préparation et de dépôt des échantillons seraient à tester.

Il apparaît ainsi que la liaison hydrogène est un bon point de départ pour que la sonde fluorescente et l'analyte interagissent entre eux mais cette interaction reste insuffisante pour modifier significativement la photophysique des sondes. Deux stratégies faisant appel à des nanoparticules peuvent être adoptées pour améliorer la détection.

Nous pourrions exploiter le cœur hydrophobe de certaines nanoparticules de silice afin d'immobiliser de façon non covalente les fluorophores à leur surface (en conservant leur fluorescence) et créer ainsi un environnement apolaire favorable à l'atrazine. De plus, il serait possible de contrôler la concentration en sondes lors de la synthèse, ce qui représente un avantage. Une fois les fluorophores adsorbés sur la nanoparticule, l'atrazine est à son tour ajoutée dans le milieu afin qu'elle interagisse avec les fluorophores. Les effets sur la fluorescence seront peut être amplifiés en raison de la forte concentration de l'analyte dans les nanoparticules.

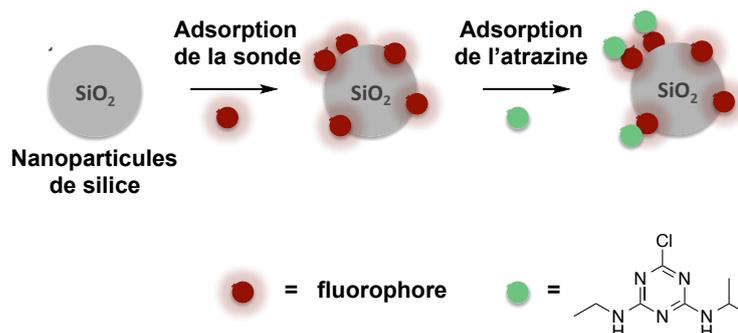


Figure 2 : Stratégie pour la détection de l'atrazine n°1.

Une autre stratégie est d'utiliser des fluorophores pour lesquels la fluorescence est éteinte après leur agrégation. Des nanoparticules de fluorophores seraient formées à la suite de leur agrégation en milieu aqueux. L'ajout d'atrazine pourrait permettre de désolidariser les fluorophores et de restaurer la fluorescence.

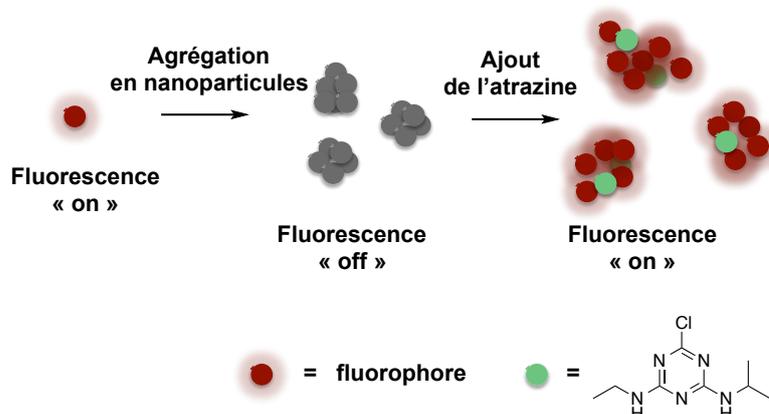


Figure 3 : Stratégie pour la détection de l'atrazine n°2.

Enfin, nous pouvons proposer une amélioration du système fluorescent basé sur le calix[6]arène pour la détection des amines aliphatiques. En effet, il faudrait améliorer la photostabilité du fluorophore quinoléine en remplaçant la double liaison par une triple liaison. Il serait aussi envisageable d'utiliser des fluorophores solubles dans l'eau afin de permettre la détection d'amines dans les milieux biologiques, d'autant plus que le calixarène peut aisément être fonctionnalisé par des groupements solubilisants tels que des acides carboxyliques, groupements sulfonates ou phosphonates.

Partie expérimentale

Partie expérimentale

I) Synthèses effectuées

1.1) Généralités

1.1.1) Solvants, produits et chromatographies

Les solvants utilisés lors des synthèses ont été produits par la société Carlo Erba (Dasit group). Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice sur aluminium F₂₅₄ (Merck ou MACHEREY-NAGEL). Les purifications par chromatographie sur colonne de gel de silice ont été effectuées manuellement avec une silice de granulométrie 40-63 µm de chez Carlo-Erba/SDS ou MACHEREY-NAGEL) ou automatiquement par un collecteur Armen Instruments Spot II Ultimate avec des colonnes de silice prépacquées INTERCHIM.

1.1.2) Spectres RMN

L'ensemble des spectres de résonance magnétique a été enregistré à l'ENS Cachan à l'aide d'un spectromètre JEOL ECS 400 équipé d'une sonde large bande 40TH5AT/FG et d'un module d'accord automatisé. Pour les spectres du proton ¹H, le pic du solvant deutéré ou du TMS (tétraméthylsilane, 0 ppm) ont servi de référence. Pour les spectres du carbone ¹³C, les pics du solvant deutéré ont servi de référence. Le déplacement chimique δ est indiqué en partie par million (ppm) et les constantes de couplage scalaire *J* sont exprimées en Hertz (Hz).

1.1.3) Spectrométrie de masse

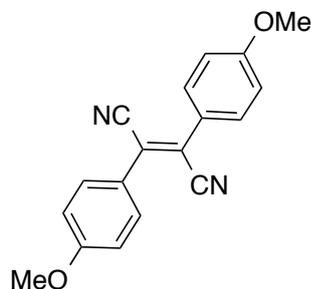
Les spectres de masse ont été effectués par le service de spectrométrie de masse IMAGIF/ICSN CNRS à Gif-sur-Yvette. Une tolérance de 5 ppm est admise pour les masses trouvées expérimentalement par rapport aux masses calculées.

2.2) Protocoles de synthèse

MALEIMIDE	224
BIS(4-METHOXYPHENYL)FUMARONITRILE: COMPOUND 53	224
3,4-BIS(4-METHOXYPHENYL)MALEIMIDE: MALEOME	225
NAPHTHALIMIDES	226
4-BROMO-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 60	226
4-N-BUTYLAMINO-1,8-NAPHTHALIMIDE: NAPHTH-NHBU	227
4-AZIDO-1,8-NAPHTHALIC ANHYDRIDE: COMPOUND 61	228
4-(4-PHENYL-[1,2,3]-TRIAZOL-1-YL)-1,8-NAPHTHALIC ANHYDRIDE: COMPOUND 62	229
4-(4-PHENYL-[1,2,3]-TRIAZOL-1-YL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: NAPHTH-TRIAZOLEOME	230
4-((4-METHOXYPHENYL)ETHYNYL)-1,8-NAPHTHALIC ANHYDRIDE: COMPOUND 63	231
4-((4-METHOXYPHENYL)ETHYNYL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: NAPHTH-ALCYNEOME	232
4-(TRIMETHYLSILYL)ETHYNYL-1,8-NAPHTHALIC ANHYDRIDE: COMPOUND 76	233
4-(TRIMETHYLSILYL)ETHYNYL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 77	234
4-(TRIMETHYLSILYL)ETHYNYL-N-(4-METHOXYBENZYL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 78	235
4-ETHYNYL-N-(4-METHOXYBENZYL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 79	236
TERT-BUTYL-1,3-DIOXO-4-((TRIMETHYLSILYL)ETHYNYL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 80	237
TERT-BUTYL-1,3-DIOXO-4-ETHYNYL-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 81	238
4-ETHYNYL-1,8-NAPHTHALIMIDE: NAPHTH-ALCYNEH	239
4-((4-HYDROXYPHENYL)ETHYNYL)-1,8-NAPHTHALIMIDE: NAPHTH-ALCYNEOH	240
TERT-BUTYL-4-((4-HYDROXYPHENYL)ETHYNYL)-1,3-DIOXO-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 82	241
4-BROMO-N-BUTYL-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 93	242
4-(TRIMETHYLSILYL)ETHYNYL-N-BUTYL-1,8-NAPHTHALIMIDE: COMPOUND 94	243
4-ETHYNYL-N-BUTYL-1,8-NAPHTHALIMIDE: BUTYL-NAPHTH-ALCYNEH	244
DERIVES DE L'ACIDE BARBITURIQUE	245
5-(4-(DIPHENYLAMINO)BENZYLIDENE)PYRIMIDINE-2,4,6(1H,3H,5H)-TRIONE: TPA-BARB	245
(E)-5-(3-(4-(DIMETHYLAMINO)PHENYL)ALLYLIDENE)PYRIMIDINE-2,4,6(1H,3H,5H)-TRIONE: DMAP-BARB	246
MELAMINES ALKYLEES	247
2,4-DIAMINO-6-CHLORO-1,3,5-TRIAZINE: COMPOUND 67	247
2,4-DIAMINO-6-DI(2-ETHYLHEXYL)AMINO-1,3,5-TRIAZINE: MA1	248
6-CHLORO-N ² ,N ⁴ -BIS(2-ETHYLHEXYL)-1,3,5-TRIAZINE-2,4-DIAMINE: COMPOUND 68	249
6-AMINO-N ² ,N ⁴ -BIS(2-ETHYLHEXYL)-1,3,5-TRIAZINE-2,4-DIAMINE: MA2	250
CALIX[4]ARENES	251

CALIX[4]ARENE: COMPOUND 84	251
26,28-DIMETHOXYCALIX[4]ARENE-25,27-DIOL: COMPOUND 85	252
TETRAETHYLENE GLYCOL DI(P-TOLUENESULFONATE): COMPOUND 83	253
25,27-DIMETHOXYCALIX[4]ARENECROWN-5: COMPOUND 86.....	254
25,27-DIHYDROXYCALIX[4]ARENECROWN-5: COMPOUND 87.....	255
11,23-DIIODO-25,27-DIHYDROXYCALIX[4]ARENECROWN-5: COMPOUND 88	256
11,23-DIIODO-25,27-DIHYDROXYCALIX[4]ARENECROWN-6: COMPOUND 90	257
COMPOUND 91	258
COMPOUND 92	259
DERIVES DE LA QUINOLEINE	260
6-BROMO-2-METHYLQUINOLINE: COMPOUND 96	260
(E)-6-(4-METHOXYSTYRYL)-2-METHYLQUINOLINE: COMPOUND 97	261
(E)-6-(4-METHOXYSTYRYL)QUINOLINE-2-CARBALDEHYDE: COMPOUND 98	262
(E)-N-(4-METHOXYPHENYL)-1-(6-((E)-4-METHOXYSTYRYL)QUINOLIN-2-YL)METHANIMINE: COMPOUND 99.....	263
(E)-4-METHOXY-N-((6-(4-METHOXYSTYRYL)QUINOLIN-2-YL)METHYL)ANILINE: COMPOSE MODELE	264

MALEIMIDE

Bis(4-methoxyphenyl)fumaronitrile: Compound 53

53

The literature procedure was modified.

In a round bottom flask under argon, 1.85 mL (13.6 mmol) of 4-methoxybenzyl cyanide and 3.47 g (13.6 mmol) of iodine were added in 6.8 mL of anhydrous diethyl ether. The mixture was stirred and cooled to -78°C . 6.85 mL (29.90 mmol) of a sodium methoxide solution (25 wt.% in methanol) were added dropwise for 30 minutes. The reaction solution was allowed to warm up at -5°C , the previous bath was replaced by an ice bath and the reaction solution was stirred for 12 h. The reaction was quenched with 3% hydrochloric acid at less than 10°C . The precipitate was collected by filtration and washed with cold methanol–water solution to remove ionic substances. 1.53 g of the product as brown powder were obtained (78%).

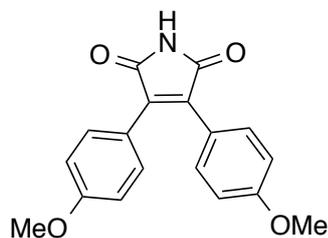
Reference:^[7]

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): $\delta = 7.79$ (d, 4H, $J = 9.0$ Hz, ArH); 7.01 (d, 4H, $J = 9.1$ Hz, ArH); 3.89 (s, 6H, OMe).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): $\delta = 162.1$; 131.2; 130.6; 124.7; 122.8; 117.5; 114.7; 55.7.

$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $M = 290.32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Brown solid

3,4-bis(4-methoxyphenyl)maleimide: MaleOMe

The literature procedure was modified.

Bis(4-methoxyphenyl)fumaronitrile (100 mg, 0.345 mmol) was dissolved in dry toluene (1.7 mL) and methanol (1.2 mL). Sodium methoxide methanol solution (25%, 240 μ L), was added to the reaction solution at room temperature. The solution mixture was then stirred overnight at 50°C. The reaction was quenched with a solution of HCl (3%) and then extracted using dichloromethane. The product was purified by column chromatography on silica gel using PE/AE (8:2) as eluent giving a yellow solid (21 mg, 20%).

Reference: [8],[7]

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.46 (d, 4H, ArH, J = 8.8 Hz); 6.88 (d, 4H, ArH, J = 8.8 Hz); 3.83 (s, 6H, OMe).

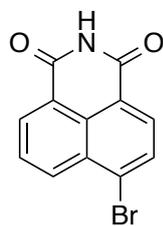
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 171.0; 160.9; 135.1; 131.6; 121.4; 114.3; 55.5.

$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_4$

$M = 309.32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow solid

NAPHTHALIMIDES

4-bromo-1,8-naphthalimide: Compound 60**60**

The literature procedure was modified.

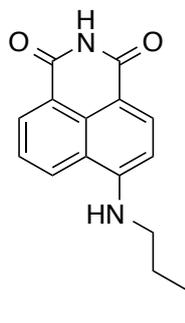
4-Bromo-1,8-naphthalic anhydride (0.90 g, 3.25 mmol) was suspended in 150 mL of absolute ethanol and the solution was stirred and heated to reflux. A solution of ammonium hydroxide (30%, 1.66 mL) was then slowly added. After 20 h of reflux, the mixture was cooled to room temperature and the solvent was evaporated to yield a white solid. The solid was filtered and washed with absolute ethanol (0.84 g, 96%).

Reference: ^[3]

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 11.88 (s, 1H); 8.56 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 8.52 (d, J = 7.2 Hz, 1H); 8.29 (d, J = 7.6 Hz, 1H); 8.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H); 7.99 (t, J = 8.0 Hz, 1H).

C₁₂H₆BrNO₂ **M = 276.09 g.mol⁻¹**

White solid

4-*N*-butylamino-1,8-naphthalimide: Naphth-NHBu

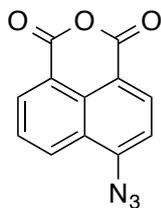
4-bromo-1,8-naphthalimide (210 mg, 0.76 mmol) was dissolved in 5 ml of *N*-methylpyrrolidinone (NMP). Then *n*-butylamine (75 μ L, 0.76 mmol) and diisopropylamine (132 μ L, 0.76 mmol) were added and heated at 85 $^{\circ}$ C for 29h. The mixture was poured into 150 ml water. The resulting precipitate was filtered, washed with water. The residue was purified by column chromatography on silica gel using chloroforme yielding a white powder (151 mg, 74%).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.57 (d, J = 7.2 Hz, 1H); 8.45 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 8.31 (br s, 1H); 8.12 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 7.60 (t, J = 7.6 Hz, 1H); 6.74 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 3.43 (t, J = 7.2 Hz, 2H); 1.81 (m, 2H); 1.56 (m, 2H); 1.03 (t, J = 7.2 Hz, 4H).

$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$

$M = 268.32 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White solid

4-Azido-1,8-naphthalic anhydride: Compound 61**61**

To a suspension of 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride (2.0 g, 7.22 mmol) in DMF (30 mL) at room temperature was added a suspension of sodium azide (703 mg, 27 mmol) in water (2 mL). The mixture was stirred for 6 h at room temperature, and the solution was poured into ice water. The precipitate was filtered to give the desired yellow product (1.63 g, 95%).

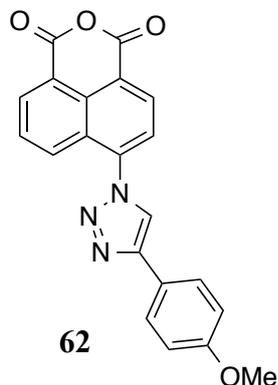
Reference: ^[4]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.68 (d, J = 7.2 Hz, 1H); 8.62 (d, J = 8.1 Hz, 1H); 8.56 (d, J = 8.5 Hz, 1H); 7.83 (d, J = 7.4 Hz, 1H); 7.53 (d, J = 7.9 Hz, 1H).

C₁₂H₅N₃O₃

M = 239.19 g.mol⁻¹

Yellow solid

4-(4-Phenyl-[1,2,3]-triazol-1-yl)-1,8-naphthalic anhydride: Compound 62

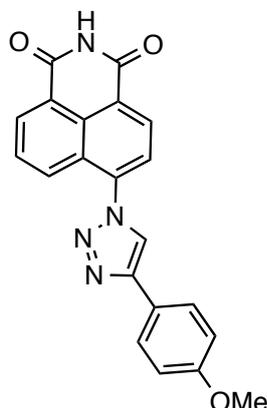
4-Azido-1,8-naphthalic anhydride (0.20 g, 0.84 mmol) and 4-ethynylanisole (0.11 g, 0.84 mmol) were suspended in DMF (10 mL). Sodium ascorbate (33 mg, 0.17 mmol) was added, followed by copper (II) sulfate pentahydrate (21 mg, 0.08 mmol). The mixture was heated at 110°C for 14h and poured into ice water, and the product was collected by filtration. After washing the precipitate with cold water, the desired product was obtained as a yellow powder (0.212 g, 68%).

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 9.27 (s, 1H, H_{Triazole}); 8.70 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH); 8.67 (d, J = 7.2 Hz, 1H, ArH); 8.45 (d, J = 8.5 Hz, 1H, ArH); 8.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH); 8.03 (t, 1H, ArH); 7.95 (d, J = 8.6 Hz, 2H, MeOArH); 7.11 (d, J = 8.7 Hz, 2H, MeOArH); 3.83 (s, 3H, OMe).

HRMS (TOF MS ES+): Calculated for C₂₁H₁₄N₃O₄: 372.0984; found 372.0974 [M+H]⁺.

C₂₁H₁₃N₃O₄ **M = 371.35 g.mol⁻¹**

Yellow solid

4-(4-Phenyl-[1,2,3]-triazol-1-yl)-1,8-naphthalimide: Naphth-TriazoleOMe

In a round bottom flask, 4-(4-Phenyl-[1,2,3]-triazol-1-yl)-1,8-naphthalic anhydride (0.212 g, 0.571 mmol) was dissolved in absolute EtOH (25 mL) and the mixture was heated to reflux. A solution of 30% aqueous ammonia (1 mL, 7.42 mmol) was added and the reaction mixture was refluxed for 20h. Then solvents were removed under reduced pressure to yield a brown solid (quant).

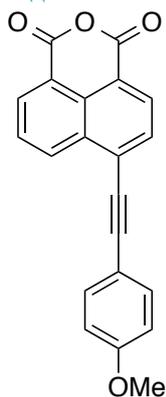
¹H NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 11.99 (br s, 1H, NH); 9.21 (s, 1H, H_{Triazole}); 8.61 (d, J = 6.9 Hz, 1H, ArH); 8.58 (d, J = 7.3 Hz, 1H, ArH); 8.29 (d, J = 8.7 Hz, 1H, ArH); 8.14 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ArH); 7.98 (t, 1H, ArH); 7.95 (d, J = 7.5 Hz, 2H, MeOArH); 7.10 (d, J = 7.7 Hz, 2H, MeOArH); 3.82 (s, 3H, OMe).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 163.9; 163.3; 159.4; 147.0; 137.8; 130.9; 129.7; 129.6; 129.5; 128.8; 126.9; 126.1; 124.1; 123.8; 123.2; 123.0; 122.5; 114.5; 55.2.

HRMS (TOF MS ES+): Calculated for C₂₁H₁₅N₄O₃: 371.1144; found 371.1140 [M+H]⁺.

C₂₁H₁₄N₄O₃ M = 370.37 g.mol⁻¹

Brown solid

4-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-1,8-naphthalic anhydride: Compound 63**63**

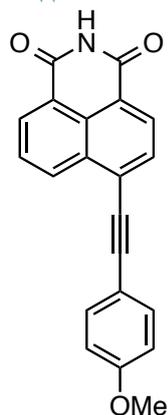
To a solution of 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride (0.20 g, 0.722 mmol) in 20 mL of a mixture of DMF/Et₃N (1: 1) under argon, Pd(PPh₃)₄ (27 mg; 0.023 mmol), a solution of sodium ascorbate (10 mg; 0.05 mmol; 0.033 M) in DMF, a solution of copper(II) sulfate (2 mg; 0.008 mmol; 0.053 M) in DMF and 4-ethynylanisole (93.6 μL, 0.722 mmol) were added. The reaction mixture was stirred for 4 h at 80°C. After completion of the reaction monitored by TLC, the reaction mixture was extracted with ethyl acetate, washed with NH₄Cl and brine, and dried over Na₂SO₄. The product was dissolved in AcOEt, precipitated with diethyl ether and collected by filtration. The product was isolated as an orange solid with 77% yield.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.84 (dd, J = 8.3, J' = 0.9 Hz, 1H, ArH); 8.68 (dd, J = 7.3, J' = 0.9 Hz, 1H, ArH); 8.58 (d, J = 7.7 Hz, 1H, ArH); 7.98 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH); 7.90 (t, v1H, ArH); 7.63 (d, J = 8.8 Hz, 2H, *p*-methoxybenzyl group); 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 2H *p*-methoxybenzyl group); 3.88 (s, 3H, OMe).

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₂₁H₁₃O₄: 329.0814; found 329.0802 [M+H]⁺.

C₂₁H₁₂O₄ **M = 328.32 g.mol⁻¹**

Orange solid

4-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-1,8-naphthalimide: Naphth-AlcyneOMe

In a round bottom flask, 4-((4-methoxyphenyl)ethynyl)-1,8-naphthalic anhydride (245 mg, 0.764 mmol) was dissolved in absolute EtOH (25 mL) and the mixture was heated to reflux. A solution of 30% aqueous ammonia (1.73 mL, 13 mmol) was added and the reaction mixture was refluxed for 24h. Then solvents were removed under reduced pressure and the crude product was purified by column chromatography on silica gel (DCM/PE (5:5)) to yield a yellow solid (250 mg, quant.).

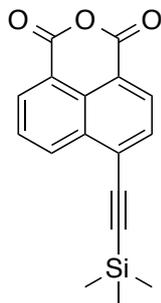
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H,ArH); 8.64 (d, J = 7.3 Hz, 1H,ArH); 8.55 (d, J = 7.6 Hz, 1H,ArH); 8.39 (br s, 1H,NH); 7.95 (d, J = 7.6 Hz, ArH); 7.86 (t, 1H); 7.63 (d, J = 8.7 Hz, 2H,ArH); 6.97 (d, J = 8.7 Hz, 2H, ArH); 3.88 (s, 3H, OMe).

¹³C NMR ((CD₃)₂SO, 100 MHz): δ = 163.9; 163.7; 160.4; 133.7; 132.1; 131.1; 130.57; 130.50; 129.4; 128.7; 128.1; 126.8; 123.1; 122.0; 114.7; 113.3; 99.3; 85.2; 55.5.

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₂₁H₁₄NO₃: 328.0974; found 328.0971 [M+H]⁺.

C₂₁H₁₃NO₃ **M = 327.34 g.mol⁻¹**

Yellow solid

4-(trimethylsilyl)ethynyl-1,8-naphthalic anhydride: Compound 76**76**

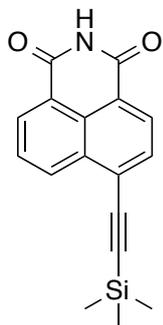
In a schlenk under argon, 1.51 g (5.4 mmol) of 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride were dissolved in 30 mL of anhydrous THF. Then, 0.64 g (0.6 mmol) of tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0), 0.21 g (1.1 mmol) of copper(I) iodide, 3.82 mL (27.1 mmol) of trimethylsilylacetylene and 3.5 mL (20.1 mmol) of DIPEA were added. The mixture was stirred for 5h at room temperature. 50 mL of AcOEt were added and the organic layer was washed with a saturated solution of NH₄Cl and dried over Na₂SO₄. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (PE then PE/DCM (7:3)) to give 1.26 g (80%) of the desired product.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.73 (d, 1H, J = 8.3 Hz, ArH); 8.67 (d, 1H, J = 7.3 Hz, ArH); 8.55 (d, 1H, J = 7.4 Hz, ArH); 7.95 (d, 1H, J = 7.4 Hz, ArH); 7.90 (t, 1H, J = 7.8 Hz, ArH); 0.37 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 160.5; 160.3; 135.3; 134.1; 133.9; 132.7; 132.1; 131.6; 130.2; 128.1; 119.2; 118.3; 107.4; 100.6; 0.15.

C₁₇H₁₄O₃Si **M = 294.38 g·mol⁻¹**

White solid

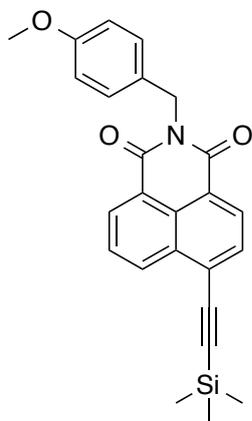
4-((trimethylsilyl)ethynyl)-1,8-naphthalimide: Compound 77**77**

In a round bottom flask, 4-(trimethylsilyl)ethynyl-1,8-naphthalic anhydride (502 mg, 1.71 mmol) was dissolved in absolute EtOH (50 mL) and the mixture was heated to reflux. A solution of 30% aqueous ammonia (3.02 mL, 25.5 mmol) was added and the reaction mixture was refluxed for 12h. Then solvents were removed under reduced pressure to afford 4-((trimethylsilyl)ethynyl)-1,8-naphthalimide as a yellow solid (quant.).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.69 (dd, 1H, J = 8.0 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.63 (dd, 1H, J = 7.2 Hz, J' = 1.2 Hz, ArH); 8.51 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 8.42 (br s, 1H, NH); 7.92 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.85 (t, 1H, J = 7.2 Hz, ArH); 0.37 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2\text{Si}$ $M = 293.40 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Yellow solid

**4-(trimethylsilyl)ethynyl-N-(4-methoxybenzyl)-1,8-naphthalimide:
Compound 78****78**

The original procedure has been modified.

In a round bottom flask under argon, 0.39 g (1.3 mmol) of 4-(trimethylsilyl)ethynyl-1,8-naphthalic anhydride and 0.21 mL (1.6 mmol) of 4-methoxybenzylamine were dissolved in 45 mL of anhydrous ethanol. The mixture was stirred and refluxed for 46 h. The solvent was evaporated yielding 0.55 g (quant.) of the product as brown solid.

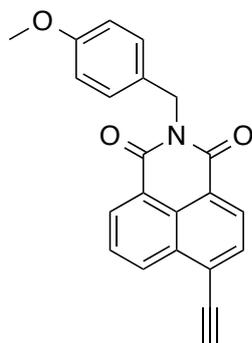
Reference: ^[5]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.65 (d, 2H, J = 7.5 Hz, ArH); 8.52 (d, 1H, J = 7.5 Hz, ArH); 7.88 (d, 1H, J = 7.5 Hz, ArH); 7.81(t, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.52 (d, 2H, J = 8.6 Hz, *p*-methoxybenzyl group); 6.83 (d, 2H, J = 8.7 Hz, *p*-methoxybenzyl group); 5.30 (s, 2H, CH₂N); 3.76 (s, 3H, OMe); 0.36 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 164.2; 159.1; 132.7; 131.92; 131.35; 130.80; 130.59; 129.6; 128.1; 127.7; 123.1; 122.5; 113.9; 106.5; 104.2; 102.5; 100.5; 55.4; 43.2; 31.1; 0.15.

C₂₅H₂₃NO₃Si **M = 413.55 g·mol⁻¹**

Brown solid

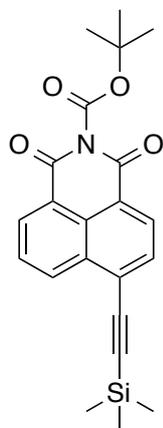
4-ethynyl-N-(4-methoxybenzyl)-1,8-naphthalimide: Compound 79**79**

In a round bottom flask under argon, potassium carbonate (0.01 g; 0.1 mmol) was added to a solution of 4-(trimethylsilyl)ethynyl-N-(4-methoxybenzyl)-1,8-naphthalimide (0.10 g; 0.3 mmol) in anhydrous MeOH. The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h. The solvent was removed under reduced pressure and the crude product was dissolved in DCM (30 mL). The organic layer was washed with a saturated solution of NH_4Cl and concentrated under vacuum. The product was purified by column chromatography on neutral alumina (cyclohexane/ AcOEt (8:2)) to afford a yellow solid (73.1 mg; 89%).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 8.65 (d, 2H, J = 7.5 Hz, ArH); 8.54 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.93 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.82 (t, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.52 (d, 2H, J = 8.6 Hz, *p*-methoxybenzyl group); 6.83 (d, 2H, J = 8.7 Hz, *p*-methoxybenzyl group); 5.31 (s, 2H, CH_2N); 3.76 (s, 3H, OMe); 3.73 (s, 1H, H_{alkyne}).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 164.4; 159.1; 132.40; 132.03; 131.96; 131.73; 130.72; 130.43; 129.5; 128.0; 127.78; 126.4; 123.0; 122.9; 91.7; 86.7; 55.3; 43.2; 31.1; 27.0.

 $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ **$M = 341.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$** **Yellow solid**

***tert-butyl-1,3-dioxo-4-((trimethylsilyl)ethynyl)-1,8-naphthalimide:
Compound 80*****80**

4-((trimethylsilyl)ethynyl)-1,8-naphthalimide (456 mg, 1.55 mmol) was dissolved in dry acetonitrile (5 mL). Boc₂O (509 mg, 2.33 mmol) and DMAP (19 mg, 0.15 mmol) were added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 12 h. The mixture was concentrated under vacuum and the residue was purified by silica gel chromatography (DCM/cyclohexane = 5:5) to give the product (610 mg, quant.).

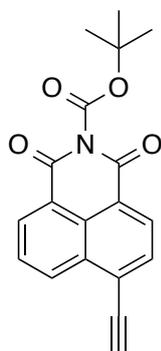
¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ = 8.70 (dd, 1H, J = 8.4 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.64 (dd, 1H, J = 7.2 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.52 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.92 (d, 1H, J = 8.0 Hz, ArH); 7.85 (t, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 1.67 (s, 9H, *tert*-butyl); 0.37 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

C₂₂H₂₃NO₄Si **M = 393.51 g·mol⁻¹**

Yellow solid

tert-butyl-1,3-dioxo-4-ethynyl-1,8-naphthalimide: Compound 81

The easiest way to synthesize this product is described here.

**81**

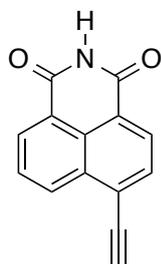
Naphth-AlcyneH (679 mg, 3.07 mmol) was dissolved in dry acetonitrile (5 mL). Boc₂O (1 g, 4.60 mmol) and DMAP (37 mg, 0.303 mmol) were added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 24 h. The mixture was concentrated under vacuum and the residue was purified by silica gel chromatography (DCM/cyclohexane = 5:5) to give the product (572 mg, 58%).

¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ = 8.73 (dd, 1H, J = 8.4 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.65 (dd, 1H, J = 7.2 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.55 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.96 (d, 1H, J = 8.0 Hz, ArH); 7.86 (t, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 3.78 (s, 1H, H_{alkyne}); 1.67 (s, 9H, *tert*-butyl).

C₁₉H₁₅NO₄**M = 321.33 g·mol⁻¹****Yellow powder**

4-ethynyl-1,8-naphthalimide: Naphth-AlcyneH

The easiest way to synthesize this product is described here.



4-(trimethylsilyl)ethynyl-1,8-naphthalic anhydride (1.86 mg, 6.31 mmol) was dissolved in dry ethanol (5 mL) and the solution was heated to reflux. A solution of 30% aqueous ammonia (11.5 mL, 88.6 mmol) was added and the reaction mixture was refluxed for 12 h. Then the solvent was removed under reduced pressure and the residue was dissolved in CHCl₃. A precipitate was formed after the addition of diethyl ether and collected by filtration to yield a brown solid (1.13 g, 70%).

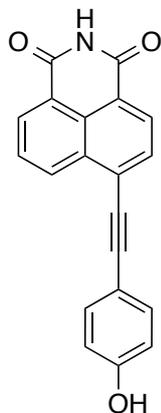
¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ = 8.73 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH); 8.64 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 8.54 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 8.42 (s, 1H, NH); 7.97 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.86 (t, 1H, J = 8.4 Hz, ArH); 3.77 (s, 1H, H_{alkyne}).

HRMS (TOF MS ES+): Calculated for C₁₄H₈NO₂: 222.0555; found 222.0547 [M+H]⁺.

C₁₄H₇NO₂

M = 221.22 g·mol⁻¹

Brown powder

4-((4-hydroxyphenyl)ethynyl)-1,8-naphthalimide: Naphth-AlcyneOH

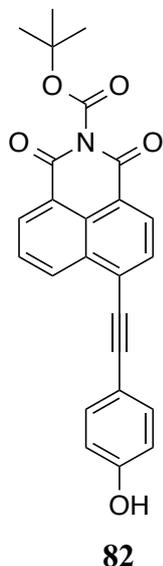
CuI (13 mg, 0.068 mmol) and PdCl₂(PPh₃)₂ (12 mg, 0.022 mmol) were added to a solution of Naphth-AlcyneH (100 mg, 0.452 mmol) and iodophenol (199 mg, 0.904 mmol) in a mixture of toluene (14 mL) and diisopropylamine (7 mL). The resulting mixture was stirred at 50°C for 19 h, then cooled to room temperature and concentrated under vacuum. The residue was dissolved in DMF, precipitated with CHCl₃. Centrifugation of the suspension give the product (42 mg, 30%).

¹H NMR (CD₃CN, 400 MHz): δ = 7.67-7.59 (m, 6H, ArH); 7.54-7.50 (m, 3H, ArH).

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₂₀H₁₂NO₃: 314.0817; found 314.0828 [M+H]⁺.

C₂₀H₁₁NO₃ M = 313.31 g·mol⁻¹

Yellow powder

***tert-butyl-4-((4-hydroxyphenyl)ethynyl)-1,3-dioxo-1,8-naphthalimide:
Compound 82***

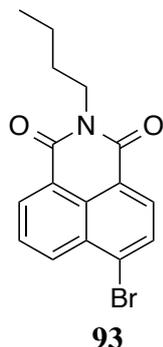
CuI (9 mg, 0.047 mmol) and PdCl₂(PPh₃)₂ (11 mg, 0.031 mmol) were added to a solution of Boc-Naphth-AlcyneH (100 mg, 0.311 mmol), iodophenol (137 mg, 0.622 mmol) in a mixture of toluene (10 mL), and diisopropylamine (5 mL). The resulting mixture was stirred at 50°C for 17 h, then cooled to room temperature and concentrated under vacuum. Cyclohexane was added to remove the excess of iodophenol. After centrifugation, the solid was collected and purified by silica gel chromatography (ethyl acetate/cyclohexane 1:5) to give the product (32 mg, 25%).

¹H NMR (CD₃Cl, 400 MHz): δ = 8.79 (dd, 1H, J = 8.4 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.65 (dd, 1H, J = 7.2 Hz, J' = 0.8 Hz, ArH); 8.55 (d, 1H, J = 8.0 Hz, ArH); 7.94 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.84 (t, 1H, J = 8.4 Hz, ArH); 7.56 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH); 6.90 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH); 1.67 (s, 9H, *tert*-butyl).

C₂₀H₁₁NO₃

M = 313.31 g·mol⁻¹

Yellow powder

4-bromo-N-butyl-1,8-naphthalimide: Compound 93

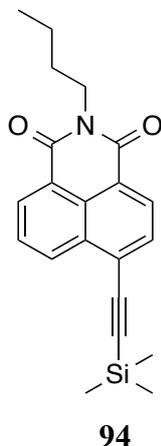
The original procedure has been modified.

In a dry round bottom flask, 4-bromo-1,8-naphthalic anhydride (3 g, 10.8 mmol) was dissolved in absolute EtOH (200 mL) and 1-butylamine (1.28 mL, 12.7 mmol) was added. The mixture was heated to 60°C under argon atmosphere for 20 h. After cooling to room temperature, the solid was filtered off and washed with H₂O (200 mL) to give the product as a beige solid (2.08 g, 58%).

Reference:^[6]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.66 (dd, J = 7.3, J' = 1.0 Hz, 1H, ArH); 8.57 (dd, J = 8.4, J' = 1.2 Hz, 1H, ArH); 8.42 (d, 1H, J = 7.8 Hz, ArH); 8.05 (d, 1H, J = 7.9 Hz, ArH); 7.85 (t, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 4.17 (t, 2H, J = 7.6 Hz, CH₂-N); 1.71 (qt, 2H, J = 7.6 Hz, CH₂-CH₂-N); 1.45 (sx, 2H, J = 7.6 Hz, CH₂-CH₂-CH₂-N); 0.98 (t, 3H, J = 7.4 Hz, CH₃).

C₁₆H₁₄BrNO₂**M = 332.19 g.mol⁻¹****Beige solid**

4-(trimethylsilyl)ethynyl-N-butyl-1,8-naphthalimide: Compound 94

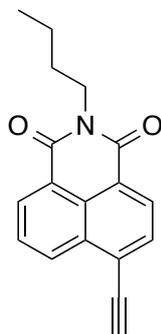
In a dry flask under inert atmosphere were placed 4-bromo-N-butyl-1,8-naphthalimide (1.9 g, 5.72 mmol), dry THF (23 mL), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (80.3 mg, 0.11 mmol, 0.02 equiv.), PPh₃ (60 mg, 0.23 mmol, 0.04 equiv.), CuI (44 mg, 0.23 mmol, 0.04 equiv.) and NEt₃ (19 mL) followed by trimethylsilylacetylene (0.785 g, 8 mmol, 1.4 equiv.). It was refluxed for 6 h. Then the reaction mixture was cooled to room temperature and the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, DCM/PE = 1:1 v/v) to yield the compound as a yellow solid (0.76 g, 40%).

Reference:^[6]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.61 (m, 1H, ArH); 8.63 (m, 1H); 8.52 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH); 7.89 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.82 (t, 1H, J = 7.0 Hz, ArH); 4.17 (t, 2H, J = 8.0 Hz, CH₂N); 1.71 (qt, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂); 1.46 (sx, 2H, J = 7.6 Hz, CH₂); 0.98 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH₃); 0.36 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

C₁₆H₁₄BrNO₂ **M = 332.19 g.mol⁻¹**

Yellow solid

4-ethynyl-N-butyl-1,8-naphthalimide: Butyl-Naphth-AlcyneH

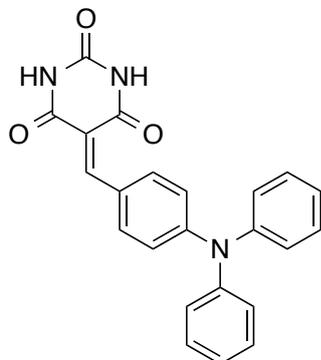
In a round bottom flask under argon, potassium carbonate (1.23 g, 8.9 mmol) was added to a solution of 4-(trimethylsilyl)ethynyl-N-butyl-1,8-naphthalimide (0.76 g, 2.29 mmol) in anhydrous MeOH (56 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 min. Then, DCM was added (35 mL) to the reaction mixture and the organic layer was washed with water. The combined organic phases were dried over Na₂SO₄ and concentrated under vacuum. The product was purified by column chromatography (silica gel, DCM/ AcOEt (8:2)) to afford a yellow solid (0.53 g, 84%).

Reference:^[6]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.61 (m, 1H, ArH); 8.63 (m, 1H); 8.52 (d, J = 7.6 Hz, 1H, ArH); 7.93 (d, 1H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.82 (t, 1H, J = 7.0 Hz, ArH); 4.17 (t, 2H, J = 8.0 Hz, CH₂N); 3.73 (s, 1H, H_{alkyne}); 1.71 (qt, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂); 1.46 (sx, 2H, J = 7.6 Hz, CH₂); 0.98 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH₃).

C₁₈H₁₅NO₂**M = 277.32 g.mol⁻¹****Yellow solid**

DERIVES DE L'ACIDE BARBITURIQUE

5-(4-(diphenylamino)benzylidene)pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione:
TPA-BARB

A mixture of barbituric acid (0.5 g, 3.90 mmol) and 4-(diphenylamino)-benzaldehyde (1.07 g, 3.90 mmol) in dry DMF (14 ml) was heated at 120°C for 2h. The reaction was cooled to room temperature and solvents were evaporated. The crude product was dissolved in a minimum amount of DMF and diethyl ether was added. The precipitate was filtered to give a red powder (1.49 g, 75%).

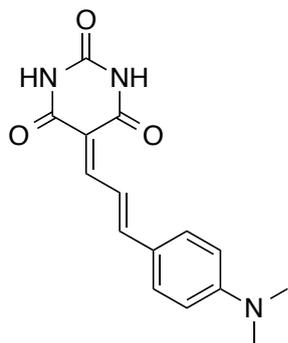
¹H NMR ((CD₃)₂CO, 400 MHz): δ = 10.01 (br s, 1H, NH); 9.90 (br s, 1H, NH); 8.37 (d, J = 8.80 Hz, 2H, ArH); 8.27 (s, 1H, H_{vinyl}); 7.37 (t, J = 8.40 Hz, 4H, ArH); 7.26 (m, 6H, ArH); 6.86 (d, J = 7.2 Hz, 2H, ArH)

¹³C NMR ((CD₃)₂SO, 100 MHz): δ = 164.1; 162.2; 154.6; 152.1; 150.1; 145.0; 137.6; 130.0; 126.7; 125.9; 123.9; 116.8; 113.5.

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₂₃H₁₈N₃O₃: 384.1348; found 384.1364 [M+H]⁺.

C₂₃H₁₇N₃O₃ M = 383.41 g·mol⁻¹

Red powder

(E)-5-(3-(4-(dimethylamino)phenyl)allylidene)pyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione: DMAP-BARB

A mixture of barbituric acid (0.219 g, 1.71 mmol) and (*E*)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)acrylaldehyde (0.300 g, 1.71 mmol) in dry DMF (6 ml) was heated at 120°C for 30 min. The reaction was cooled to room temperature and water was added (20 mL). The precipitate was filtered to give a dark violet powder (0.350 g, 72%).

¹H NMR ((CD₃)₂SO, 400 MHz): δ = 11.04 (br s, 1H, NH); 10.98 (br s, 1H, NH); 8.22 (t, 1H, CH-CH-CH); 7.98 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH₂); 7.60 (d, J = 14.8 Hz, 1H, CH); 7.53 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH); 6.79 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH); 3.05 (s, 6H, NMe).

¹³C NMR ((CD₃)₂CO, 100 MHz): δ = 163.7; 163.4; 156.0; 155.5; 152.9; 150.5; 131.6; 122.7; 119.0; 112.1; 110.4; 39.8*.

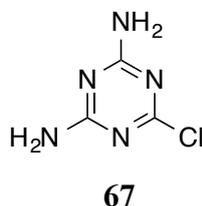
*The N-CH₃ signal was covered with the DMSO signal in the ¹³C NMR spectrum.

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₁₅H₁₆N₃O₃: 286.1192; found 286.1190 [M+H]⁺.

C₁₅H₁₅N₃O₃ **M = 285.11 g·mol⁻¹**

Dark violet powder

MELAMINES ALKYLEES

2,4-diamino-6-chloro-1,3,5-triazine: Compound 67

In a three-necked flask equipped with a dropping funnel and a magnetic stirrer, cyanuric chloride (2.02 g, 10.85 mmol) was dissolved in acetone (11 mL). Distilled water (11 mL) was then added and the mixture was cooled to 0 °C. A solution of 30% aqueous ammonia (5.63 mL, 43.38 mmol) was added dropwise. The solution was warmed to 25 °C, and stirring was maintained for an additional 14 h. The reaction solution was poured into water and a white precipitate was collected by filtration and washed with THF (1.35 g, 86%).

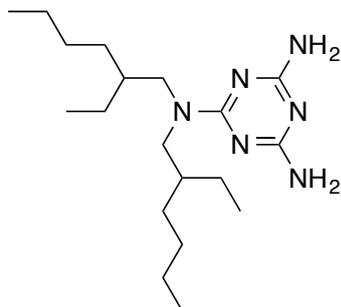
Reference: ^[9]

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): $\delta = 7.12\text{--}7.20$ (s, 4H, NH₂).

¹³C NMR (DMSO, 400 MHz): $\delta = 167.2; 168.8$.

C₃H₄ClN₅ **M = 145.55 g·mol⁻¹**

White solid

2,4-Diamino-6-di(2-ethylhexyl)amino-1,3,5-triazine: MA1

In a round bottom flask under argon, 0.39 g (2.7 mmol) of 2,4-diamino-6-chloro-1,3,5-triazine were dissolved in 15 mL of DMF. Then, 0.95 mL (3.2 mmol) of *bis*(2-ethylhexyl)amine and 0.25 g (3.0 mmol) of sodium bicarbonate were added and the mixture was heated at 140°C for 24h. The mixture was allowed to cool at room temperature and 50 mL of water were added. The product was extracted with DCM, washed with brine (2x15 mL) and concentrated under vacuum. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (AcOEt /PE (7: 3) then AcOEt 100%) to give a yellow oil. The oil was dissolved in diethyl ether and washed with water to remove DMF. The solvent was evaporated yielding 0.76 g of the desired product (79%).

Reference: ^[10]

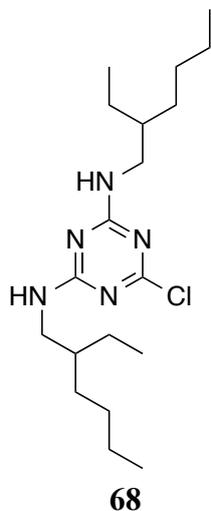
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 4.65 (s, 4H, NH₂); 3.41 (dd, 4H, J = 7.4, J' = 3.3 Hz, CH₂N); 1.75 (m, 2H, CH); 1.35 – 1.22 (m, 16H, CH₂); 0.88 (m, 12H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 166.9; 166.5; 49.5; 37.4; 30.6; 28.8; 23.92; 23.26; 14.3; 10.8.

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₁₉H₃₉N₆: 351.3236; found 351.3233 [M+H]⁺.

C₁₉H₃₈N₆ **M = 350.56 g·mol⁻¹**

Yellow oil

6-chloro-*N*²,*N*⁴-bis(2-ethylhexyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine: Compound 68

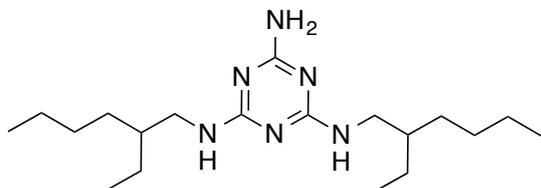
In a round bottom flask under argon, 2-ethyl-1-hexylamine (1.27 mL; 7.8 mmol) was dissolved in 12 mL of anhydrous THF. After cooling in an ice bath, cyanuric chloride (0.67 g; 3.7 mmol) and DIPEA (1.67 mL; 9.6 mmol) in 12 mL of anhydrous THF were added dropwise and the mixture was stirred for 1 h. Stirring was maintained for an additional 12h at room temperature. Upon cooling and removal of the solvent, the solid was washed with MeOH/H₂O (2:1) to afford a white solid (8.28 g, 94%). The crude product was purified by column chromatography on silica gel (AcOEt/PE (1: 1)) to yield 1.27 g of white solid (93%).

Reference:^[11]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 5.35 (br s, 1H, NH); 5.14 (br s, 1H, NH); 3.27 (m, 4H, CH₂N); 1.51 (m, 2H, CH); 1.35 – 1.28 (m, 16H, CH₂); 0.92– 0.87 (m, 12H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 168.5; 166.1; 43.7; 39.5; 31.2; 29.1; 24.4; 23.2; 14.23; 11.1.

C₁₉H₃₆N₅Cl**M = 369.98 g.mol⁻¹****White solid**

6-amino- N^2,N^4 -bis(2-ethylhexyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine: MA2

A solution of 6-chloro- N^2,N^4 -bis(2-ethylhexyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine (0.4 g, 1,09 mmol) and a solution of 30% aqueous ammonia (1.36 mL, 10.46 mmol) in 1,4-dioxane (2,8 mL) was heated at 80°C for 10 days. A saturated solution of NaHCO_3 was added and the suspension was extracted with DCM. The combined organic layers were washed with water, dried over $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ and the solvent was removed under reduced pressure. The product was obtained as a colorless oil without further purification (382 mg, 75%).

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 4.80 (br s, 1H, NH); 4.63 (br s, 2H, NH_2); 4.51 (br s, 1H, NH); 3.27 (m, 4H, CH_2N); 1.47 (m, 2H, CH); 1.35 – 1.28 (m, 16H, CH_2); 0.92– 0.87 (m, 12H, CH_3).

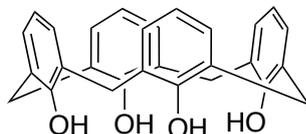
^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 165.9; 162.6; 43.4; 39.4; 30.9; 28.9; 24.1; 23.0; 14.1; 10.8.

HRMS (TOF MS ES+): Calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{N}_6$: 351.3236; found 351.3252 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{N}_6$ $\text{M} = 350.55 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Colorless oil

CALIX[4]ARENES

Calix[4]arene: Compound 84**84**

The original procedure has been modified.

In a round bottom flask under argon, 9.00 g (13.9 mmol) of *p-tert*-butylcalix[4]arene were dissolved in 250 mL of dry toluene. 11.10 g (83.3 mmol) of aluminum chloride were then added and the mixture was stirred at room temperature for 16 h. Thereafter, the mixture was treated with a 1M HCl solution. Then, the organic layer was extracted, washed with a saturated solution of NaCl, and evaporated to dryness. The resulting product was washed by acetone and collected by filtration yielding 3.02 g (52%) of the expected white product.

The filtrate was concentrated under vacuum and the product was precipitated with DCM and collected by filtration to afford a total amount of 4.34 g (74%).

Reference: ^[1]

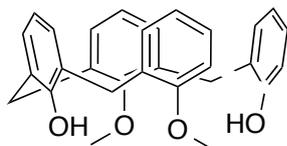
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 10.2 (s, 4H, ArOH); 7.05 (d, 8H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.73 (t, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 4.27 (s, 4H, ArCH₂Ar); 3.55 (s, 4H, ArCH₂Ar).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 148.9; 129.1; 128.4; 122.4; 31.8.

C₂₈H₂₄O₄

M = 424.50 g·mol⁻¹

White powder

26,28-dimethoxycalix[4]arene-25,27-diol: Compound 85**85**

In a round bottom flask under argon, 3.00 g (7.1 mmol) of calix[4]arene and 1.11 g (8.1 mmol) of anhydrous K_2CO_3 were dissolved in 150 mL of dry acetonitrile. 2.63 g (14.2 mmol) of methyl *p*-toluenesulfonate were then added and the mixture was refluxed overnight. The solvent was evaporated. Then 100 mL of a 1M HCl solution and 50 mL of DCM were added. The organic layer was dried with $MgSO_4$, and evaporated to dryness. The product was recrystallized in a $CHCl_3/MeOH$ mixture (1:1 v/v) and collected by filtration yielding 1.77 g (56%) of white powder.

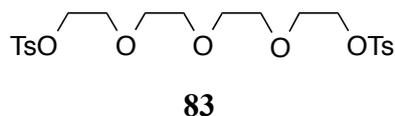
Reference:^[2]

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 7.79 (s, 2H, ArOH); 7.08 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.88 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.73 (t, 2H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.68 (t, 2H, J = 7.5 Hz, ArH); 4.30 (d, 4H, J = 13.2 Hz, ArCH₂Ar); 3.99 (s, 6H, ArOCH₃); 3.41 (d, 4H, J = 13.2 Hz, ArCH₂Ar).

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 153.31; 153.21; 133.1; 129.1; 128.48; 128.38; 125.5; 119.2; 63.9; 31.3.

$C_{30}H_{28}O_4$ $M = 452.55 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder

Tetraethylene glycol di(p-toluenesulfonate): Compound 83

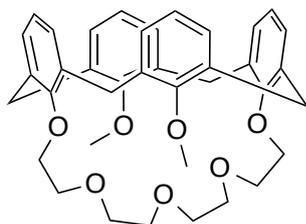
In a round bottom flask, 10.0 g (51.3 mmol) of tetraethylene glycol, 29.35 g (155 mmol) of *p*-toluenesulfonyl chloride and 130 mL of tetrahydrofuran were added. After cooling in an ice bath, 18 g of potassium hydroxide (336 mmol) dissolved in 20 mL of water were added dropwise. Then, the mixture was stirred at room temperature overnight. 130 mL of DCM and 70 mL of ice water were added. The organic layer was extracted and washed three times with water. The solvent was evaporated yielding 24.8 g (96%.) of the product as a colorless oil.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.78 (d, 4H, *J* = 8.4 Hz, ArH); 7.33 (d, 4H, *J* = 8.4 Hz, ArH); 4.14 (t, 4H, *J* = 5.2 Hz, crown ether); 3.66 (t, 4H, *J* = 4.8 Hz, crown ether); 3.55 (s, 8H); 2.43 (s, 6H, Me).

C₂₂H₃₀O₉S₂

M = 502.59 g·mol⁻¹

Colorless oil

25,27-dimethoxycalix[4]arene-crown-5: Compound 86**86**

In a round bottom flask under argon, 1.67 g (3.7 mmol) of 26,28-dimethoxycalix[4]arene-25,27-diol, 10.82 g (33.2 mmol) of Cs_2CO_3 and 450 mL of acetonitrile were added and the mixture was stirred for 5 minutes. Then, 2.04 g (4.1 mmol) of tetraethylene glycol di(*p*-toluenesulfonate) were added and the mixture was refluxed for 4 days. The solvent was removed under reduced pressure and the product was dissolved in DCM. 150 mL of a 1M HCl solution were added and the organic layer was extracted and dried with MgSO_4 . The crude product was concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography on silica gel (AcOEt/PE (1:9)) yielding 1.58 g (71%) of a white powder.

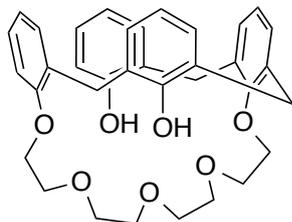
Reference:^[2]

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.13 (d, 4H, J = 7.3 Hz, ArH); 6.89 (t, 2H, J = 7.3 Hz, ArH); 6.52 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.42 (t, 2H, J = 7.5 Hz, ArH); 4.41 (d, 4H, J = 12.6 Hz, ArCH_2Ar); 4.12 (s, 6H, ArOCH_3); 3.99 (s, 4H, crown ether); 3.93 (s, 4H, crown ether); 3.76 (s, 4H, crown ether); 3.57 (s, 4H, crown ether); 3.19 (d, 4H, J = 12.6 Hz, ArCH_2Ar).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 159.4; 155.4; 136.8; 133.7; 128.51; 128.15; 122.60; 122.56; 73.1; 71.6; 71.2; 70.9; 61.3; 31.3.

$\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{O}_7$ $M = 610.75 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder

25,27-dihydroxycalix[4]arene-crown-5: Compound 87**87**

In a round bottom flask under argon, 1.58 g of 25,27-dimethoxycalix[4]arene-crown-5 (2.6 mmol) was added in 80 mL of dry CHCl_3 . Then 0.8 mL (5.62 mmol) of trimethylsilyl iodide were added and the mixture was refluxed for 5 h. The addition of 200 mL of a 1M HCl solution stopped the reaction. The organic layer was extracted and washed with 150 mL of a saturated solution of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ and 150 mL of distilled water. The solvent was evaporated and the crude product was dissolved in DCM and precipitated with methanol to afford 0.52 g (35%) of the product as a white solid. The filtrate was concentrated under vacuum to afford 0.69 g of the product as brown solid for a total yield of 80%.

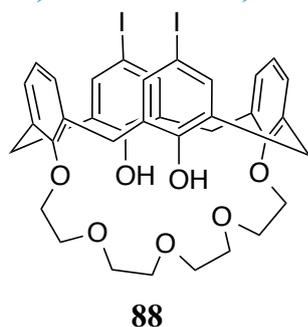
Reference:^[2]

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.75 (s, 2H, ArOH); 7.07 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.87 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.72 (t, 2H, J = 7.4 Hz, ArH); 6.67 (t, 2H, J = 7.4 Hz, ArH); 4.42 (d, 4H, J = 13.1 Hz, ArCH_2Ar); 4.10 (s, 8H, crown ether), 3.96 (t, 4H, J = 5.2 Hz, crown ether); 3.86 (t, 4H, J = 5.3 Hz, crown ether); 3.37 (d, 4H, J = 13.1 Hz, ArCH_2Ar).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 153.5; 152.9; 132.5; 128.85; 128.48; 128.22; 125.4; 118.9; 77.4; 71.2; 70.8; 70.5; 31.3.

$\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{O}_7$ $M=582.69 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

White powder

11,23-diiodo-25,27-dihydroxycalix[4]arene-crown-5: Compound 88

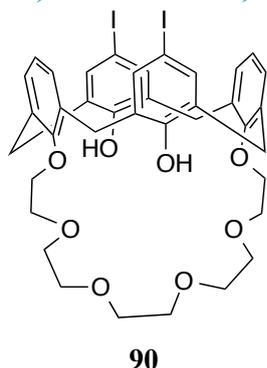
In a round bottom flask, 0.69 g (1.2 mmol) of 25,27-dihydroxycalix[4]arene-crown-5 and 1.03 g (2.4 mmol) of mercury(II) trifluoroacetate were dissolved in 30 mL of CHCl_3 . The mixture was stirred at room temperature for 18 h. The solvent was removed under reduced pressure to afford a yellowish product. The adduct was then dissolved in 120 mL of acetonitrile and 0.66 g (2.6 mmol) of iodine were added. Stirring was maintained for an additional 2 h at room temperature. 120 mL of DCM were added and the product was partially purified by column chromatography on silica gel. The mixture was treated with activated charcoal, filtered through celite and concentrated under reduced pressure yielding 0.69 g (70%) of the product as red-orange solid. The crude product was purified by column chromatography on silica gel (AcOEt/PE (3:7)) to give 335 mg of the product as yellowish powder (20%).

Reference:^[2]

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ = 7.85 (s, 2H, ArOH); 7.37 (s, 4H, ArH-I); 6.87 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.78 (t, 2H, J = 7.5 Hz, ArH); 4.35 (d, 4H, J = 13.1 Hz, ArCH₂Ar); 4.06 (s, 8H, crown ether); 3.92 (d, 4H, J = 5.1 Hz, crown ether); 3.82 (d, 4H, J = 4.8 Hz, crown ether); 3.29 (d, 4H, J = 13.1 Hz, ArCH₂Ar).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 153.5; 152.1; 136.8; 132.5; 130.8; 129.1; 125.6; 80.5; 77.3; 71.21; 71.12; 70.2; 31.8.

 $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_7\text{I}_2$ **$M = 834.49 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$** **Yellow solid**

11,23-diiodo-25,27-dihydroxycalix[4]arenecrown-6: Compound 90

An alternative method of iodination was tested. In a flask under inert atmosphere, 25,27-dihydroxycalix[4]arenecrown-6 (210 mg, 0.335 mmol) was dissolved in dry DCM (17 mL) and benzyltrimethylammonium dichloroiodate (257 mg, 6.7 mmol) was added. The solution was stirred for 30 min at room temperature and MeOH was added (7 mL). The solution was then stirred for 30 min, treated with CaCO₃ (168 mg, 1.68 mmol) and stirred for 27 h at room temperature. The reaction was quenched with a solution of 1 M HCl (conc., 0.86 mL). Then the orange solution was treated with NaHSO₃ (10%, 10 mL). The organic layer was separated, washed three times with water (20 mL), dried over Na₂SO₄ and solvent were removed in vacuo. The residue was purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane yielding a white powder (218 mg, 74%).

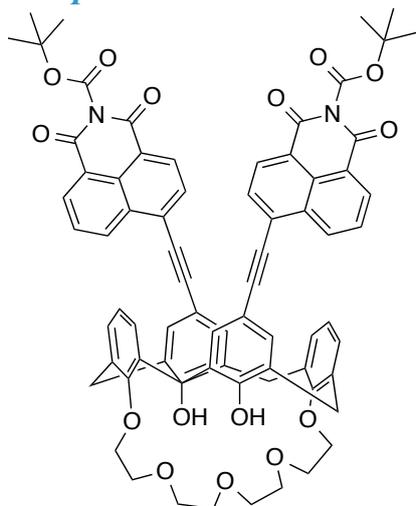
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.59 (s, 2H, ArOH); 7.36 (s, 4H, ArH-I); 6.84 (d, 4H, J = 7.5 Hz, ArH); 6.76 (t, 2H, J = 6.8 Hz, ArH); 4.35 (d, 4H, J = 13.2 Hz, ArCH₂Ar); 4.11 (m, 4H, crown ether); 3.96 (m, 4H, crown ether); 3.87 (m, 4H, crown ether); 3.81 (m, 4H, crown ether); 3.67 (s, 4H, crown ether); 3.29 (d, 4H, J = 13.2 Hz, ArCH₂Ar).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz): δ = 153.4; 152.0; 136.8; 132.4; 130.8; 129.3; 125.5; 80.6; 76.5; 71.7; 71.1; 71.0; 69.8; 31.22; 30.7.

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₃₈H₄₀I₂O₈Na: 901.0710; found 901.0745 [M+H]⁺.

C₃₈H₄₀I₂O₈ **M = 878.54 g.mol⁻¹**

White powder

Compound 91**91**

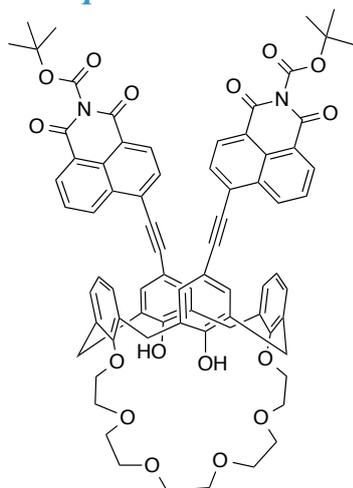
CuI (3.4 mg, 0.018 mmol) and PdCl₂(PPh₃)₂ (4.2 mg, 0.006 mmol) were added to a solution of 11,23-diiodo-25,27-dihydroxycalix[4]arene-crown-5 (100 mg, 0.119 mmol) and *tert*-butyl-1,3-dioxo-4-ethynyl-1,8-naphthalimide (154 mg, 0.479 mmol) in a mixture of toluene (3.8 mL) and diisopropylamine (1.9 mL). The resulting mixture was stirred at 50°C for 24 h, then cooled to room temperature and concentrated under vacuum. The residue was dissolved in DMF, precipitated with CHCl₃. Centrifugation of the suspension give the product (80 mg, 55%).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.82 (d, 2H, J = 8.4 Hz, ArH); 8.63 (d, 2H, J = 7.2 Hz, ArH); 8.52 (d, 2H, J = 7.6 Hz, ArH); 8.34 (s, 2H, ArOH); 7.94 (d, 2H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.85 (t, 2H, J = 8.0 Hz, ArH); 7.49 (s, 4H, ArH); 6.95 (d, 4H, J = 7.6 Hz, ArH); 6.77 (t, 2H, J = 7.6 Hz, ArH); 4.46 (d, 4H, J = 13.2 Hz, ArCH₂Ar); 4.11 (m, 8H, crown ether); 3.95 (t, 4H, J = 5.2 Hz, crown ether); 3.86 (t, 4H, J = 5.2 Hz, crown ether); 3.44 (d, 4H, J = 13.6 Hz, ArCH₂Ar); 1.68 (s, 18H, ArH);

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₇₄H₆₄N₂O₁₅Na: 1243.4204; found 1243.4214 [M+Na]⁺.

C₇₄H₆₄N₂O₁₅ **M = 1221.33 g.mol⁻¹**

Yellow powder

Compound 92

92

CuI (2.6 mg, 0.014 mmol) and PdCl₂(PPh₃)₂ (3.2 mg, 0.004 mmol) were added to a solution of 11,23-diiodo-25,27-dihydroxycalix[4]arene-crown-6 (81 mg, 0.092 mmol) and *tert*-butyl-1,3-dioxo-4-ethynyl-1,8-naphthalimide (118 mg, 0.368 mmol) in a mixture of toluene (2.9 mL) and diisopropylamine (1.45 mL). The resulting mixture was stirred at 50°C for 20 h, then cooled to room temperature and concentrated under vacuum. The residue was dissolved in DMF, precipitated with CHCl₃. Centrifugation of the suspension give the product (62 mg, 53%).

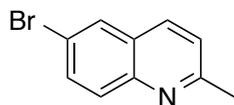
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.83 (d, 2H, J = 8.4 Hz, ArH); 8.66 (d, 2H, J = 7.2 Hz, ArH); 8.56 (d, 2H, J = 7.6 Hz, ArH); 8.05 (s, 2H, ArOH); 7.95 (d, 2H, J = 7.6 Hz, ArH); 7.88 (t, 2H, J = 8.0 Hz, ArH); 7.48 (s, 4H, ArH); 6.91 (d, 4H, J = 7.6 Hz, ArH); 6.72 (t, 2H, J = 7.6 Hz, ArH); 4.47 (d, 4H, J = 12.8 Hz, ArCH₂Ar); 4.20 (m, 4H, crown ether); 4.03 (m, 4H, crown ether); 3.92 (m, 4H, crown ether); 3.85 (m, 4H, crown ether); 3.69 (s, 4H, crown ether); 3.44 (d, 4H, J = 13.6 Hz, ArCH₂Ar); 1.68 (s, 18H, ArH).

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₇₆H₆₈N₂O₁₆Na: 1287.4467 found 1287.4459 [M+Na]⁺.

C₇₆H₆₈N₂O₁₆ M = 1265.38 g.mol⁻¹

Yellow powder

DERIVES DE LA QUINOLEINE

6-bromo-2-methylquinoline: Compound 96**96**

The literature procedure was modified.

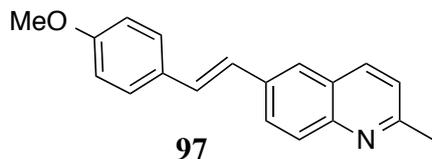
A mixture of 4-bromoaniline (1 g, 5.81 mmol), HCl (6N, 30ml), acetic acid (333 μ L, 5.81 mmol) was heated to 100 °C for 30 min. Then toluene was added (6 mL) and a solution of crotonaldehyde (962 μ L, 11.62 mmol) in toluene (1.5 mL) was added slowly at room temperature. The result mixture was refluxed for 6 hours under inert atmosphere until all starting material had disappeared. After cooling to room temperature, the flask was cooled in an ice bath and 40 mL of a 5M solution of NaOH was added. The mixture was extracted with dichloromethane. The organic phase was washed with water, dried over MgSO_4 and evaporated to give crude residue. The residue was purified by column chromatography on silica gel using cyclohexane/AE (3:1) as eluent giving a yellow solid (920 mg, 72%).

Reference: ^[13]

^1H NMR ((CDCl_3), 400 MHz): δ = 7.99 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 7.95 (m, 2H, ArH), 7.76 (d, 1H, J = 8.8 Hz, ArH), 7.32 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 2.75 (s, 3H, Me).

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{BrN}$ $M = 222.09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Beige powder

(E)-6-(4-methoxystyryl)-2-methylquinoline: Compound 97

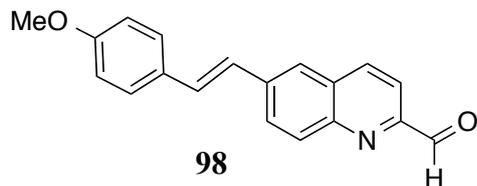
A mixture of 6-bromo-2-methylquinoline (400 mg, 1.92 mmol), 1-methoxy-4-vinylbenzene (310 mg, 2.31 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (47mg, 0.067 mmol), K₂CO₃ (778 mg, 5.63 mmol) and DMF (2 ml) was heated at 160 °C for 24h. After cooling to room temperature, the mixture was filtered and H₂O (50 mL) was added. The resulting mixture was extracted by DCM (15 mL×3). The organic phase were combined and evaporated. The residue was recrystallized in EtOAc/cyclohexane (450 mg, 85 %).

Reference: ^[14]

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.09 (d, 2H, J = 8.6 Hz, ArH), 7.95 (d, 1H, J = 8.9 Hz, ArH), 7.77 (s, 1H, ArH), 7.51 (d, 2H, J = 9.0 Hz, ArH), 7.31 (d, 1H, J = 8.3 Hz, ArH), 7.20 (d, 1H, H_{vinyl}, J = 16.7 Hz), 7.19 (d, 1H, J = 16.7 Hz, H_{vinyl}), 6.94 (d, 2H, J = 9.0 Hz, ArH), 3.85 (s, 3H, OMe), 2.79 (s, 3H, Me).

C₁₉H₁₇NO **M = 275.35 g.mol⁻¹**

Brown solid

(E)-6-(4-methoxystyryl)quinoline-2-carbaldehyde: Compound 98

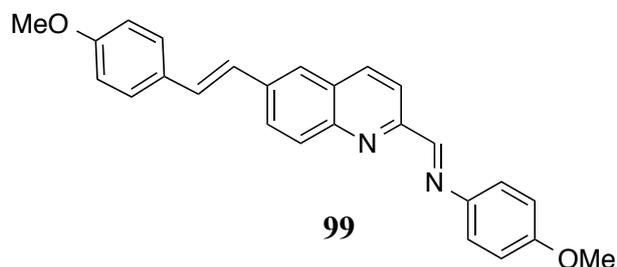
In a 50 mL round-bottomed flask under argon atmosphere, (E)-6-(4-methoxystyryl)-2-methylquinoline (124 mg, 0.45 mmol), selenium dioxide (75 mg, 0.68 mmol), dioxane (10 mL), and 0.17 mL of water were stirred and refluxed for 24 hours. The precipitate was filtered off and purified by column chromatography on silica gel using dichloromethane (95%).

¹H NMR (CD₂Cl₂, 400 MHz): δ = 10.23 (s, 1H, H_{aldehyde}), 8.29 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 8.23 (d, 1H, J = 8.8 Hz, ArH), 8.08 (d, 1H, J = 8.8 Hz, ArH), 8.04 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 7.87 (s, 1H, , ArH), 7.55 (d, 2H, J = 8.0 Hz, ArH), 7.32 (d, 1H, J = 16.4 Hz, H_{vinyllic}), 7.18 (d, 1H, J = 16 Hz, H_{vinyllic}), 6.97 (d, 2H, J = 8.0 Hz, ArH), 3.88 (s, 3H, OMe).

C₁₉H₁₅NO₂

M = 289.33 g.mol⁻¹

Yellow solid

(E)-N-(4-methoxyphenyl)-1-(6-((E)-4-methoxystyryl)quinolin-2-yl)methanimine: Compound 99

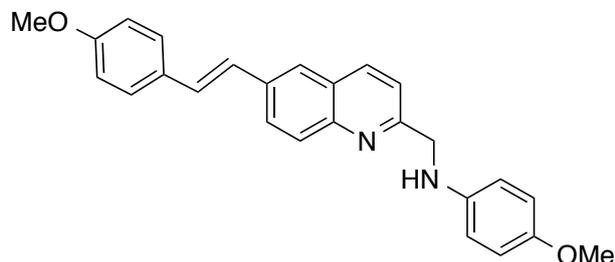
A solution of compound (E)-6-(4-methoxystyryl)quinoline-2-carbaldehyde (115 mg, 0.39 mmol) and *p*-anisidine (49 mg, 0.39 mmol) in EtOH (40ml) was refluxed under argon atmosphere. After 6h, completion of the reaction was checked by TLC and the mixture was cooled to room temperature and solvent was evaporated (quant.)

¹H NMR ((CDCl₃, 400 MHz): δ = 8.80 (s, 1H, H_{imine}), 8.34 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 8.20 (d, 1H, J = 8.4 Hz, ArH), 8.11 (d, 1H, J = 9.6 Hz, ArH), 8.00 (d, 1H, J = 9.2 Hz, ArH), 7.83 (s, 1H, ArH), 7.53 (d, 2H, J = 6.8 Hz, ArH), 7.41 (d, 2H, J = 8.8 Hz, ArH), 7.26 (d, 1H, J = 15.6 Hz, H_{vinyllic}), 7.16 (d, 1H, J = 15.6 Hz, H_{vinyllic}), 6.98 (d, 2H, J = 9.2 Hz, ArH), 6.96 (d, 2H, J = 8.4 Hz, ArH), 3.85 (s, 6H, OMe).

C₂₆H₂₂N₂O₂

M = 394.47 g.mol⁻¹

Yellow solid

(E)-4-methoxy-N-((6-(4-methoxystyryl)quinolin-2-yl)methyl)aniline: Composé modèle

A solution of compound (E)-N-(4-methoxyphenyl)-1-(6-((E)-4-methoxystyryl)quinolin-2-yl)methanimine (101 mg, 0.26 mmol) and NaBH₄ (58 mg, 1.54 mmol) in EtOH under inert atmosphere was refluxed for 12 h. Excess NaBH₄ was destroyed by addition of a HCl 1M solution. The mixture was evaporated to dryness, taken up in DCM (40 mL) and NaOH 3M (4 mL). The aqueous phase was extracted with DCM (2 x 20 mL). The organic phases were gathered and washed with water (2 x 10 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated (quant).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 8.06 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H_b); 8.04 (d, 1H, J = 7.7 Hz, H_c); 7.95 (dd, 1H, J = 7.7 Hz, J' = 1.8 Hz, ArH); 7.78 (d, 1H, J = 1.8 Hz, ArH); 7.51 (d, 2H, J = 8.5 Hz, ArH); 7.43 (d, 1H, J = 8.5 Hz, ArH); 7.21 (d, 1H, J = 16.4 Hz, H_{vinyllic}); 7.12 (d, 1H, J = 16.4 Hz, H_{vinyllic}); 6.93 (d, 2H, J = 9.2 Hz, ArH); 6.80 (d, 2H, J = 9.2 Hz, ArH); 6.70 (d, 2H, J = 9.2 Hz, ArH); 4.78 (br, 1H, NH); 4.57 (s, 2H, CH₂); 3.85 (s, 3H, OMe); 3.74 (s, 3H, OMe).

¹³C NMR (CD₃CN, 125 MHz, 300 K): δ = 50.9; 55.5; 55.9; 114.3; 114.4; 115.1; 120.3; 125.3; 125.9; 127.4; 127.8; 127.9; 129.3; 129.6; 130.0; 135.7; 136.5; 142.4; 147.4; 152.3; 158.8; 159.7.

HRMS (TOF MS ES⁺): Calculated for C₂₆H₂₅N₂O₂: 397.1911; found 397.1905 [M+H]⁺.

C₂₆H₂₄N₂O₂ **M = 396.49 g.mol⁻¹**

Yellow product

Bibliography for experimental section

- [1] C. D. Gutsche, J. A. Levine, P. K. Sujeeth, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5802–5806.
- [2] H. Yu, A. E. Pullen, M. G. Büschel, T. M. Swager, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3700–3.
- [3] C. L. Fang, J. Zhou, X. J. Liu, Z. H. Cao, D. Shangguan, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 899–903.
- [4] X. Li, Y. Lin, Q. Wang, Y. Yuan, H. Zhang, X. Qian, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1274–1279.
- [5] S. S. Bag, M. K. Pradhan, R. Kundu, S. Jana, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 96–101.
- [6] S. Ast, T. Fischer, H. Müller, W. Mickler, M. Schwichtenberg, K. Rurack, H. J. Holdt, *Chem. Eur. J* **2013**, *19*, 2990–3005.
- [7] H.-C. Yeh, W. C. Wu, Y. S. Wen, D. C. Dai, J. K. Wang, C. T. Chen, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6455–6462.
- [8] E. Awuah, A. Capretta, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3122–30.
- [9] K. Saito, N. Nishimura, S. Sasaki, Y. Oishi, Y. Shibasaki, *React. Funct. Polym.* **2013**, *73*, 756–763.
- [10] F. Würthner, C. Thalacker, A. Sautter, W. Schärftl, W. Ibach, O. Hollricher, *Chem. Eur. J* **2000**, *6*, 3871–3886.
- [11] W. Zhang, D. T. Nowlan, L. M. Thomson, W. M. Lackowski, E. E. Simanek, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8914–8922.
- [12] Z. Zhou, D. Bong, *Langmuir* **2013**, *29*, 144–150.
- [13] Z. Yan, H. Xu, S. Guang, X. Zhao, W. Fan, X. Y. Liu, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 345–352.
- [14] S. Wang, X. Meng, M. Zhu, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2840–2843.

II) Mesures spectroscopiques

2.1) Absorption

2.1.1) Instruments et conditions de mesure

Les spectres d'absorption ont été enregistrés sur le spectrophotomètre UV-Vis Uvikon-940 KONTRON ou sur les spectrophotomètres Cary 100, Cary 4000 ou Cary 5000 de chez Agilent Technologies. Le domaine spectral des deux lampes (arc deutérium pour l'UV et halogène au tungstène pour le visible et le proche infrarouge) est étendu entre 175 et 3300 nm avec une précision inférieure à 0,05 nm. Les cuves utilisées sont de la marque Hellma. Elles sont en quartz avec les quatre faces polies et transparentes, de trajet optique 1 cm, de volume 4 mL. Les solvants utilisés lors des études spectroscopiques proviennent de la société Carlo Erba (Dasit group).

2.1.2) Détermination des coefficients d'extinction molaire

Afin de déterminer le coefficient d'extinction molaire, une solution mère du composé d'intérêt, pour laquelle la concentration est connue, est préparée dans un solvant de qualité spectroscopique. Puis plusieurs dilutions sont réalisées afin d'aboutir à plusieurs solutions filles (au moins cinq) dont nous mesurons le spectre d'absorption. Le coefficient d'extinction molaire $\epsilon(\lambda)$ est alors déterminé grâce à la loi de Beer-Lambert (voir ci-dessous). La régression linéaire est effectuée avec les logiciels de traitement Microsoft Excel 2011.

$$A(l) = \epsilon(\lambda) l c$$

où $A(l)$ est l'absorbance à la longueur d'onde λ , l la longueur du trajet optique (cm), $\epsilon(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) et c la concentration de la solution en chromophore ($mol \cdot L^{-1}$). Les coefficients d'extinction molaires de cette thèse ont été mesurés au maximum d'absorption de la bande d'absorption correspondante.

2.2) Fluorescence

2.2.1) Instruments et conditions de mesure

Les spectres d'émission ont été enregistrés sur un spectrofluorimètre Fluoromax-4 ou FluoroLog 3 (FL3-221) de chez HORIBA JOBIN-YVON. Le premier est doté d'une lampe à arc Xénon de 150 W, dont le domaine spectral s'étend de 200 à 950 nm tandis que pour le deuxième, la source d'excitation est une lampe d'excitation à arc Xénon de 450 W dont le domaine spectral s'étend de 200 nm à 850 nm. Les spectres d'émission de fluorescence

présentés ont été corrigés de la fonction d'appareil. La largeur des bandes passantes des monochromateurs est réglée par ordinateur.

2.2.2) Mesure du rendement quantique de fluorescence

Afin de calculer le rendement quantique en solution, le spectre d'émission du fluorophore est comparé avec celui d'une référence dont le rendement quantique est connu. La référence est choisie de façon à ce que son émission de fluorescence soit proche du composé d'intérêt. Cela permet d'éviter le problème de non-linéarité de la détection par le photomultiplicateur. Les deux molécules fluorescentes sont utilisées à des concentrations similaires avec l'absorbance inférieure à 0,1 pour chacune des solutions (cela permet de s'affranchir des phénomènes de filtre interne). Le rendement quantique de fluorescence est alors défini selon l'équation suivante :

$$\frac{\Phi_{\text{molécule}}}{\Phi_{\text{référence}}} = \frac{n_{\text{molécule}}^2}{n_{\text{référence}}^2} \times \frac{\int_0^{\infty} I_{F \text{ molécule}}(\lambda_{\text{exc}}, \lambda_{\text{em}}) d\lambda_{\text{em}}}{\int_0^{\infty} I_{F \text{ référence}}(\lambda_{\text{exc}}, \lambda_{\text{em}}) d\lambda_{\text{em}}} \times \frac{1 - 10^{A_{\text{référence}}(\lambda_{\text{exc}})}}{1 - 10^{A_{\text{molécule}}(\lambda_{\text{exc}})}}$$

où les paramètres $\Phi_{\text{molécule}}$ et $\Phi_{\text{référence}}$, représentent respectivement les rendements quantiques de fluorescence de la molécule d'intérêt et de la référence, $n_{\text{molécule}}^2$ et $n_{\text{référence}}^2$ les indices de réfraction du solvant, $\int_0^{\infty} I_{F \text{ molécule}}$ et $\int_0^{\infty} I_{F \text{ référence}}$, les aires sous la courbe d'émission, $A_{\text{molécule}}(\lambda_{\text{exc}})$ et $A_{\text{référence}}(\lambda_{\text{exc}})$, les absorptions relevées à la longueur d'onde d'excitation.

2.2.3) Fluorescence résolue en temps : mesure de la durée de vie

La durée de vie correspond au temps moyen durant lequel la molécule fluorescente reste à l'état excité. La fluorimétrie impulsionnelle nous a permis de la mesurer. L'excitation de l'échantillon s'effectue par un train d'impulsions lumineuses très courtes délivrées par une lampe flash ou un laser, de largeur à mi-hauteur allant de la microseconde à la femtoseconde.

Le montage mis en place à l'ENS Cachan est décrit ci-dessous. Les courbes de déclin de fluorescence sont obtenues à partir d'une carte de comptage TCSPC et d'une source d'excitation laser femtoseconde. Elle est composée d'un laser Titane-Saphir (Tsunami, Spectra-Physics) et d'un laser Nd:YVO₄ (Millenia Xs, Spectra-Physics). Les impulsions sont produites avec un taux de récurrence de 80 MHz dans un domaine compris entre 700 et 1000 nm. Le taux de répétition du train d'impulsions laser est ensuite ramené à 4 MHz à l'aide d'un

crystal acousto-optique. Puis les fréquences sont doublées à l'aide d'un cristal non-linéaire afin que les longueurs d'onde d'excitation se situent entre 350 et 500 nm. Les photons sont détectés à 90° par un monochromateur qui permet de sélectionner le domaine de longueur d'onde d'observation, un polariseur et un photomultiplicateur Hamamatsu MCP R3809U, connecté à un module SPC-630 TCSPC de Becker & Hickl.

Le nombre de canaux sur lequel est enregistré le déclin est en général 4096. Les retards sont choisis de façon à faire apparaître dans la fenêtre d'observation le bruit de fond localisé sur les 50 à 100 premiers canaux, le déclin complet sur les 3500 canaux suivants et le bruit résiduel sur les derniers canaux.

Le temps d'acquisition d'une courbe de déclin est de quelques minutes à quelques heures selon l'intensité de fluorescence du fluorophore choisi. L'enregistrement des déclins est stoppé pour une valeur supérieure à 10^4 coups. Les déclins ont ensuite été analysés à l'aide du logiciel Globals. L'ajustement numérique des différents paramètres du modèle est effectué selon la méthode des moindres carrés non linéaire. Le critère déterminant est la quantité χ_R^2 , évaluant l'erreur entre les données expérimentales et le modèle mathématique :

$$\chi_R^2 = \frac{\sum_i R_i^2}{N - n} \text{ avec } R_i = \frac{I_F^{exp} - I_F^{calc}}{\sqrt{I_F^{exp}}}$$

où R_i représentent les résidus pondérés (dans le cas du comptage de photons), N est le nombre de points expérimentaux et n le nombre de paramètres à ajuster.

Un ajustement numérique est satisfaisant pour une valeur de χ_R^2 proche de 1 (comprise entre 0,8 et 1,2).

2.3) Déterminations des constantes de complexation

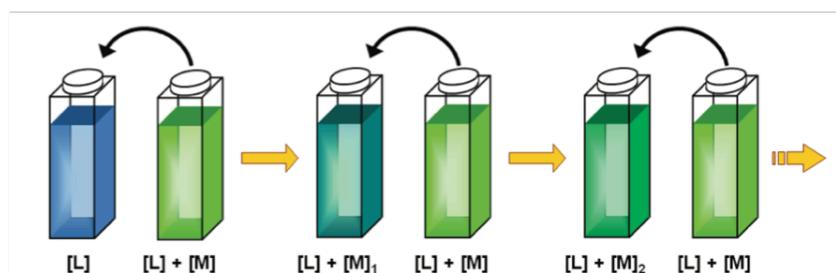


Figure 1 : Dosage d'un analyte avec une concentration constante en sonde et une concentration en analyte croissante.

Les constantes d'association entre une sonde et un analyte sont déterminées par dosage spectrophotométrique et spectrofluorimétrique. Les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence ont été mesurés après ajouts croissants en analyte en gardant la concentration en sonde fluorescente constante. Les valeurs des constantes d'association ont été calculées à l'aide d'une analyse globale des spectres par le logiciel SPECFIT/32™ Global Analysis System V3.0 32-bit pour Windows^{1,2}. Ce logiciel permet d'accéder aux spectres des différentes espèces et à la proportion de chacune d'elles selon la concentration en analyte.

2.4) Modélisation moléculaire

Les calculs de modélisation moléculaire ont été effectués d'un supercalculateur Dell PowerEdge R820 équipé de 24 processeurs Intel Xeon E5-4617 2.90GHz. RAM 128Go. L'analyse de ces calculs a été réalisée à l'aide du logiciel Gaussian 09.

¹ Gampp, H.; Maeder, M.; Meyer, C. J.; Zuberbuhler, A. D. *Talanta*, **1985**, 32, 95-101.

² Gampp, H.; Maeder, M.; Meyer, C. J.; Zuberbuhler, A. D. *Talanta*, **1985**, 32, 257-264.

Titre : Synthèse et étude de récepteurs moléculaires fluorescents pour la détection de molécules neutres

Mots clés : fluorescence, sonde, détection, atrazine, mélamine, amine

Résumé :

La détection de molécules toxiques pour l'Homme et son environnement est d'une importance cruciale. Elle représente l'une des préoccupations majeures de la société actuelle. Les résidus de pesticides tels que l'atrazine ainsi que la mélamine font notamment partie de ces molécules dangereuses pour la santé humaine. Ces deux molécules sont principalement dosées par des techniques lourdes et coûteuses comme la spectrométrie de masse, la chromatographie ou l'électrochimie. De même, la détection des amines biogéniques représente un intérêt sociétal. Elles sont produites par des bactéries durant la décarboxylation des acides aminés dans les cellules. Leur détection permet ainsi d'évaluer la contamination microbiologique et la dégradation potentielle d'un aliment. Elles sont aujourd'hui dosées par chromatographie en phase liquide ou en phase gaz, par électrochromatographie capillaire et par spectroscopie UV-visible. Quelques exemples de détection par fluorescence ont déjà été décrits dans la littérature mais il est nécessaire de développer de nouveaux récepteurs fluorescents efficaces. La fluorescence est une technique qui offre de multiples avantages tels que la sensibilité, la sélectivité et un faible coût. De nombreuses sondes fluorescentes capables de détecter des métaux lourds ont été développées au laboratoire PPSM. Cependant, la détection de molécules neutres par fluorescence représente un défi supplémentaire en raison de la nature plus faible de l'interaction, comparée à celle existant entre espèces chargées. La première étape de cette thèse a été de concevoir et de synthétiser un ensemble de sondes moléculaires fluorescentes, aussi bien pour la détection de l'atrazine, de ses

produits de dégradation et des dérivés de la mélamine que pour la détection des amines biogéniques. Des fluorophores dérivés de la molécule de maléimide, de naphthalimide et de l'acide barbiturique ont ainsi été développés pour sonder les dérivés de triazine en exploitant leur système de trois liaisons hydrogène pour la reconnaissance moléculaire. De même, un calix[6]arène fluorescent a été conçu pour déceler la présence des amines biogéniques qui provoquent une réponse fluorescente par encapsulation dans le calixarène. La deuxième étape a consisté à étudier les propriétés photophysiques de ces sondes. La sonde Naphth-AlcyneOMe possède un rendement quantique élevé et s'est révélée fortement solvatochrome. Elle est de plus sensible à la déprotonation de sa fonction imide. Des études RMN et de modélisation moléculaire ont également été menées afin de caractériser les sondes de manière plus approfondie et d'en comprendre plus précisément la réactivité. La spectroscopie RMN a confirmé l'interaction par liaison hydrogène entre les sondes maléimide et naphthalimides et la molécule d'atrazine. Celle-ci a aussi mis en évidence l'encapsulation de l'heptylamine dans le calix[6]arène. Pour sa part, la modélisation moléculaire nous a permis de mieux comprendre la photophysique de la sonde Naphth-TriazoleOMe. Enfin, la capacité des sondes à détecter les divers analytes cibles par fluorescence a été évaluée lors de la dernière étape de ce projet. La sonde TPA-BARB a présenté une forte exaltation de fluorescence en présence des dérivés de mélamine alors que le calix[6]arène-quinoléine Calix-Quino est capable de détecter les amines aliphatiques par fluorescence.

Title : Synthesis and photophysical studies of fluorescent molecular receptors for the detection of neutral molecules

Keywords : fluorescence, probe, detection, atrazine, melamine, amine

Abstract :

The detection of molecules toxic for man and his environment is one of the major concerns of our society. Melamine and the pesticide residues such as atrazine are some of these dangerous molecules. These two molecules are usually measured with time-consuming and costly techniques like mass-spectrometry, chromatography or electrochemistry. In the same way, the detection of biogenic amines is of the greatest importance. They are produced by some bacteria during the decarboxylation of amino acids in the cells. So their detection allows to assess the microbiologic contamination and the potential degradation of a food. Today they are measured by chromatography in the liquid or gas phase, capillary electrochromatography and UV-visible spectroscopy. Some examples of detection by fluorescence have been described in scientific literature, but it is really necessary to develop some new efficient fluorescent receptors. The first step of this thesis was to design and synthesize a set of fluorescent molecular probes designed to detect atrazine, the products of its degradation and melamine derivatives as well as biogenic amines. Some fluorophores based on maleimide, naphthalimide and barbituric acid moieties have been developed for the detection of the triazines derivatives by exploiting their three hydrogen bonds for molecular recognition.

In order to detect the presence of biogenic amines, a fluorescent calix[6]arene which lead to a fluorescent change upon encapsulation in the calixarene cavity has been designed. The second step consisted in studying the photophysical properties of these probes. Naphth-AlcyneOMe probe which has a high quantum yield turned out to be highly solvatochromic. Moreover it is sensitive to the deprotonation of its imide function. NMR studies and molecular modeling were conducted in order to deepen the characteristics of the probes and better understand their reactivity. NMR spectroscopy confirmed the interaction through hydrogen bonding between maleimide and naphthalimide probes and the atrazine molecule. It highlighted the encapsulation of heptylamine in the calix[6]arene. Molecular modeling enabled us to better understand the photophysics of Naphth-TriazoleOMe probe. Finally the capacity of probes to detect the various analytes by fluorescence was assessed in our last part. TPA-BARB probe presented a high exaltation of fluorescence in presence of melamine derivatives whereas the calix[6]arène-quinoleine Calix-Quino is able to detect aliphatic amines by fluorescence.

