



HAL
open science

Ingénierie moléculaire de nouveaux émetteurs à l'état solide et élaboration de nanoparticules coeur-coquilles pour l'imagerie médicale

Gwenaelle Eucat

► **To cite this version:**

Gwenaelle Eucat. Ingénierie moléculaire de nouveaux émetteurs à l'état solide et élaboration de nanoparticules coeur-coquilles pour l'imagerie médicale. Chimie organique. Université de Grenoble, 2014. Français. NNT : 2014GRENV035 . tel-01553464

HAL Id: tel-01553464

<https://theses.hal.science/tel-01553464>

Submitted on 3 Jul 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.

UNIVERSITE DE GRENOBLE

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Chimie organique**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentation soutenue publiquement par

EUCAT GWENAELLE

Le 26 novembre 2014

Thèse dirigée par **Chantal Andraud** et **Alain Ibanez**

préparée au sein de l'Institut Néel–CNRS, département MCMF Grenoble
et du laboratoire de chimie de l'ENS Lyon, Lyon
dans l'École Doctorale de Chimie et Science du Vivant

Ingénierie moléculaire de nouveaux émetteurs à l'état solide et élaboration de nanoparticules cœur- coquilles pour l'imagerie médicale

devant le jury composé de :

Mr Pansu Robert

DR – ENS Cachan, Cachan

rapporteur

Mr Ramondenc Yvan

Pr. – Université de Rouen, Rouen

rapporteur

Mr Boury Bruno

Pr. – Institut Charles Gerhardt, Montpellier

examineur

Mr Chauvin Jérôme

DR – Université de Grenoble, Grenoble

examineur

Mme Andraud Chantal

DR – ENS Lyon, Lyon

directrice de thèse

Mr Ibanez Alain

DR – Institut Néel CNRS, Grenoble

directeur de thèse



Remerciements

Je vais conclure ces trois années de thèse en remerciant l'ensemble des personnes qui ont contribué à sa réalisation et qui m'ont apporté conseils et soutien. Une page se tourne une autre commence.

Dans un premier temps, je tiens à remercier mes deux directeurs de thèses, Mme Chantal Andraud du laboratoire de chimie de l'ENS Lyon et M. Alain Ibanez directeur du département MCMF de l'Institut Néel, pour m'avoir fait confiance et m'avoir guidée pour mener à bien ce projet tout au long de ces trois années.

Je souhaiterais remercier M. Robert Pansu et M. Yvan Ramondenc pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail. Je remercie également M. Bruno Boury et M. Jérôme Chauvin pour avoir accepté de participer au Jury de soutenance.

Mes remerciements vont également à M. Yann Bretonnière, pour son encadrement, la grande liberté qu'il m'a accordé et pour les nombreux conseils dispensés tout au long de cette thèse. Je le remercie pour son enthousiasme et son optimisme.

Je remercie M. Fabien Dubois, M. Xavier Cattoen et Marine Liotaud pour m'avoir donné de précieux conseils, m'avoir initié à la chimie du sol-gel et m'avoir formé au *spin coating*.

Je remercie aussi M. Cyrille Monnereau et M. Olivier Maury et l'ensemble des membres du groupe chimie pour l'optique, à L'ENS Lyon pour les conseils et les discussions scientifiques lors des réunions des groupes.

Je tiens aussi à remercier les nombreuses collaborations qui m'ont permis de caractériser mes molécules et mes solutions. Sans ordre particulier ;

Mme Isabelle Gautier-Luneau, Cyprien Lemouchi et M. Olivier Leynaud pour m'avoir montré et initié à la résolution de structures cristallographique sur monocristal et m'avoir formé sur les appareils de diffractomètres sur poudre. Ainsi que M. Erwann Jeanneau pour m'avoir résolu une partie des structures cristallographiques.

M. Guillaume Micouin pour m'avoir formée à la microscopie confocale.

Mme Yuan Yuan Liao et M. Patrice-Lucien Baldeck, pour les caractérisations des propriétés spectroscopiques à deux photons de mes composés et pour toutes les explications qui en découlent.

M. Sébastien Pairis pour m'avoir formé au MEB pour que je puisse visualiser mes nanoparticules pour en déterminer le meilleur taux de chromophores.

M. Christophe Bouchard pour sa disponibilité et sa rapidité pour changer les pièces du réacteur (joints, débitmètre et j'en passe...).

M. Bruno Boury de l'Institut Charles Gerhardt à Montpellier pour avoir synthétisé des précurseurs en un temps record pour que je puisse continuer mes synthèses de couche mince et de nanoparticules.

M. Rachid Mahiou, directeur du laboratoire des Matériaux Inorganiques à l'ENSCCF pour m'avoir accueillie à Clermont-Ferrand afin d'y effectuer des mesures de rendements quantique à l'état solide sur mes composés.

Je remercie tous les membres du laboratoire de chimie de l'ENS Lyon et ceux de l'équipe MatONLP pour leur accueil chaleureux et leurs gentilleses. Un grand merci également à tous les thésards et post doc pour tous ces bons moments aussi bien au laboratoire qu'à l'extérieur. En particulier à Joséphine Zimmermann pour m'avoir formé sur la méthode du *spray drying*, d'avoir travaillé avec moi en étroite collaboration sur la synthèse des nanoparticules cœur-coquilles et d'avoir été présente lors des périodes difficiles.

Finalement, je tiens à remercier tout mon entourage pour leur soutien et leur aide. Tout d'abord un grand merci à ma famille, ma mère Evelyne, mon beau-père Joël et mon petit frère Arnaud, sans qui je n'aurais probablement pas pu faire toutes ces études. Je remercie également mes amis d'avoir été présents dans les bons comme dans les mauvais moments et d'avoir réussi à me faire oublier les problèmes du quotidien, en particulier Marie-Line pour ces longues conversations autour de notre belle région qu'est l'Alsace. Merci à l'homme qui partage ma vie et qui a su m'épauler tout au long de cette rédaction et qui m'a redonné le sourire après une période bien difficile.

Je dédie cette thèse à ma famille,

Ma mère, mon frère, mon beau-père

Et une pensée toute particulière pour mon père

Tables des matières

Tables des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE 1 : CONTEXTE ET OBJECTIFS	5
1. IMAGERIE BIOLOGIQUE : INTERET DE LA BIPHOTONIQUE DANS LA RECHERCHE MEDICALE	7
1.1. PRINCIPE ET AVANTAGES DE LA TPFE	8
1.2. MARQUEURS FLUORESCENTS EN BIOLOGIE.....	11
1.2.1. Marqueurs endogènes.....	11
1.2.2. Marqueurs exogènes.....	12
2. NANOPARTICULES COMME MOYEN DE TRANSPORT DES CHROMOPHORES	14
2.1. NANOPARTICULES DE SILICE FONCTIONNELLES.....	15
2.2. EXEMPLE DE NANOPARTICULES DE SILICE LUMINESCENTES	17
2.3. SYNTHÈSE DE NANOPARTICULES DE SILICE	17
3. PROCÉDE AEROSOL MIS EN PLACE A L'INSTITUT NEEL.....	18
3.1. EXPERTISE.....	18
3.2. MONTAGES ET SYNTHÈSE	19
3.3. CONCLUSION ET OBJECTIFS	22
BIBLIOGRAPHIE	24
CHAPITRE 2 : INGENIERIE MOLECULAIRE POUR LA FLUORESCENCE A L'ETAT SOLIDE.....	33
1. INTRODUCTION	35
1.1. ETAT DE L'ART SUR LES MOLÉCULES FLUORESCENTES À L'ÉTAT SOLIDE.....	35
1.2. FLUOROPHORES DIPOLAIRES	41
1.3. AGRÉGATS J ET AGRÉGATS H.....	43
1.4. TRAVAUX PRÉLIMINAIRES	47
2. ETUDE D'UNE PREMIERE SERIE DE COMPOSES.....	50
2.1. PRÉSENTATION.....	50
2.2. SYNTHÈSE DES MOLÉCULES.....	53

2.2.1.	Rétrosynthèse	53
2.2.2.	Synthèse des différents groupements	54
2.3.	ETUDE DES PROPRIÉTÉS SPECTROSCOPIQUES DES FLUOROPHORES EN SOLUTION	56
2.3.1.	Absorption	56
2.3.2.	Emission	58
2.3.3.	Déplacement de Stokes, solvatochromisme	60
2.4.	ETUDE DES PROPRIÉTÉS SPECTROSCOPIQUES À L'ÉTAT SOLIDE	63
2.4.1.	Mesure en suspension : émission induite par agrégation (AIE).....	63
2.4.2.	Mesure en solide (poudre cristalline).....	65
2.4.3.	Mesure du rendement quantique avec une sphère d'intégration.....	67
2.4.4.	Discussion	72
2.5.	ETUDE CRISTALLOGRAPHIQUE	78
2.5.1.	Cristallisation	78
2.5.2.	Etude de la structure de la molécule	78
2.5.3.	Etudes des arrangements cristallins	80
3.	PREMIERES CONCLUSIONS.....	86
4.	ETUDE D'UNE SECONDE FAMILLE DE FLUOROPHORE	87
4.1.	PRÉSENTATION.....	87
4.2.	SYNTHÈSE DES MOLÉCULES.....	90
4.2.1.	Synthèse générale.....	90
4.2.2.	Synthèse des groupements donneurs	91
4.2.3.	Synthèse des groupements attracteurs	92
4.3.	ETUDE DES PROPRIÉTÉS SPECTROSCOPIQUES DES FLUOROPHORES	94
4.3.1.	Etude de la fluorescence en solution.....	94
4.3.2.	Etudes des propriétés spectroscopiques à l'état solide.....	98
4.3.3.	Discussion	100
4.4.	ETUDE DES PROPRIÉTÉS CRISTALLOGRAPHIQUES	103
4.4.1.	Cristallisation	103

4.4.2. Etude de la structure cristalline	103
4.4.3. Etude des arrangements cristallins	104
5. CONCLUSION	107
6. PROPRIETES D'OPTIQUE NON LINEAIRE DES CHROMOPHORES SELECTIONNES.....	109
6.1. MONTAGE EXPERIMENTAL	110
6.2. DÉPENDANCE QUADRATIQUE AVEC L'INTENSITÉ INCIDENTE.....	110
6.3. RÉSULTATS	111
6.3.1. Influence des groupements accepteur	113
6.3.2. Influence des groupements donneur	114
6.4. CONCLUSION.....	115
BIBLIOGRAPHIE	116
CHAPITRE 3 : NANOCRISTALLISATION DE MOLECULES ORGANIQUES EN MATRICES SILICATEES : COUCHES MINCES SOL-GEL ET NANOPARTICULES CŒUR-COQUILLE.....	127
1. LE PROCÉDE SOL-GEL.....	130
1.1. MÉCANISME	130
1.2. INFLUENCE DES PARAMÈTRES DE SYNTHÈSE.....	132
1.3. CHOIX DES PRÉCURSEURS SOL-GEL	134
2. NANOCRISTALLISATION DES CHROMOPHORES EN COUCHES MINCES	137
2.1. LA MÉTHODE DE <i>SPIN COATING</i>	137
2.2. NANOCRISTALLISATION DES CHROMOPHORES EN COUCHES MINCES SOL-GEL	139
2.2.1. Caractérisation par microscope optique confocale.....	139
2.2.2. Etude de la fluorescence des nanocristaux, résultats.....	140
2.2.3. Etude du composé 2	143
2.2.4. Etude des autres composés en couches minces sol-gel	147

3. ENCAPSULATION DES CHROMOPHORES EN COQUILLES ORGANOSILICATEES	150
3.1. PRINCIPAUX PARAMÈTRES POUR LE PROCÉDÉ DE NÉBULISATION ET SÉCHAGE DES SOLS	150
3.2. OPTIMISATION DES PARAMÈTRES ANTÉRIEURS	154
3.3. ENCAPSULATION DES NOUVEAUX CHROMOPHORES SÉLECTIONNÉS	156
3.3.1. Optimisation du taux de chromophores dans les nanoparticules	157
3.3.2. Optimisation de la taille et de la dispersion des nanoparticules en solution ...	160
3.3.3. Caractérisations spectroscopiques des nanoparticules	162
3.3.4. Mesure du rendement quantique des nanoparticules.....	163
4. CONCLUSIONS.....	164
BIBLIOGRAPHIE	165
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	171
PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	175
SYNTHESIS	177
SPECTROSCOPY	211
ANNEXES	215

Abréviations et symboles

A	Groupement Accepteur d'électrons
ACQ	Aggregation Caused Quenching
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADP	Absorption Deux Photons
AIE(E)	Aggregation Induced Emission (enhancement)
Agrégats de type J / H	Agrégats de type Jeley / Hypsochrome
BODIPY	BOre DIPYrométhène
^t BuOK	Tert-butylate de potassium
CH ₃ COOH / CH ₃ COONa	Acide acétique / Acétate de sodium
CMONS	1-cyano-1-(4-nitrophenyl)-2-(4-methoxyphenyl)ethene
CN-MBE	1-cyano- <i>trans</i> -1,2-bis-(4'-méthylbiphényl)-éthylène
C ₃ O ₄	1,16-bis(triméthoxysilyl)-4,7,10,13-tétraoxahexadécane
D	Groupement Donneur d'électrons
d	Taux de molécules organiques
DAPI	4',6'-diamidino-2-phénylindole
DCM	DiChloroMéthane
DCIP	DiCyanoIsoPhorone
DLS	Difusion dynamique de la lumière
DMF	N,N-diméthylformamide
DMSO	DiMethylSulfOxyde
éq	Equivalent
Em	Emission
EtOH	Ethanol
Exc	Excitation
FAD	Flavine Adénine Dinucléotide
h	Taux d'hydrolyse
HCl	Acide Chlorhydrique
HeLa	Henrietta Lacks
H ₃ PO ₄	Acide phosphorique
ICT	Intramolecular Charge Transfer
IR	InfraRouge
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LE	Localement Excité
M	Masse molaire (en g.mol ⁻¹)
MCF	MonoCyanoFurane
MEB	Microscope Electronique à Balayage
MeOH	Méthanol
MeONa	Méthanolate de sodium
MTMOS	MéthylTriMéthOxySilane
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucléotide

NaOH	Soude
NH ₃	Ammoniaque
PEG	PolyEthylène Glycol
PIC	Chlorure de pseudocyanine
POCl ₃	Trichlorure de phosphoryle
QDs	Quantum dots
OLED	Diode electroluminescentes organiques
RIR	Restricted intramolecular rotation
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RX	Rayons X
s	Taux de solvant
S _N 2	Substitution Nucléophile du deuxième ordre
S _N Ar	Substitution nucléophile aromatique
T _{filtre}	Température du filtre
T _{fus}	Température de fusion
TCF	TriCyanoFurane
TEOS	TétraEthyle OrthoSilicate
THF	TétraHydroFurane
TMOS	TétraMéthOxySilane
TMSE	1,2-bis(TriMéthoxySilyl)Etane
TPEF	Two Photon Excited Fluorescence
UV	Ultra Violet
ε	Coefficient d'absorption molaire (en L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
λ	Longueur d'onde (en nm)
δ	Déplacement chimique (en ppm)
Φ _F	Rendement quantique de fluorescence (en %)
Δν	Déplacement de stokes (en cm ⁻¹)
θ	Angles (en degré)

Introduction Générale

Introduction générale

Au cours des dernières années, l'imagerie médicale a permis de grandes avancées dans la détection et le suivi des cancers. En particulier, la tomographie (CT) [1-2], l'imagerie par résonance magnétique (IRM) [3-4], ou encore l'ultra sonographie [5] ont permis de visualiser des organes et des objets invisibles à l'œil nu. Cependant, l'imagerie optique est encore très peu employée *in vivo* malgré sa résolution micrométrique. Ceci est dû en particulier à la très faible pénétration de la lumière visible dans les tissus (< 1 mm). Pour pallier à cet inconvénient, des techniques d'imagerie optique de fluorescence sous excitation biphotonique dans le proche infra-rouge (700-1000 nm) sont actuellement développées, avec comme avantages une profondeur de pénétration accrue et une imagerie tridimensionnelle avec une résolution spatiale de l'ordre du μm^3 . Pour mettre au point ces techniques d'imagerie de fluorescence sous excitation biphotonique, il est nécessaire de concevoir des marqueurs exogènes fluorescents, excitables à deux photons dans le proche infrarouge et émettant dans le rouge. De plus, afin de permettre l'imagerie de la microvascularisation des tumeurs, il faut s'assurer de la furtivité de ces marqueurs dans le sang. Pour ce faire, les fluorophores peuvent être encapsulés sous forme de nanoparticules silicatées, qui sont rigides, biocompatibles, inertes chimiquement et peuvent être facilement fonctionnalisées en surface pour moduler les propriétés d'interface et cibler les cellules cancéreuses.

Le but de cette thèse, réalisée conjointement entre le Laboratoire de Chimie de l'ENS Lyon et l'Institut Néel de Grenoble, est de concevoir des marqueurs fluorescents ultrabrillants pour l'angiographie cérébrale par imagerie de fluorescence sous excitation biphotonique. Ces marqueurs seront constitués d'un cœur nanocristallin fluorescent à l'état solide, enrobé d'une coquille silicatée.

Le premier chapitre de cette thèse est consacré à une étude bibliographique présentant l'imagerie biologique par fluorescence et les marqueurs couramment utilisés, ainsi que les techniques d'encapsulation des fluorophores sous forme de nanoparticules silicatées.

Le deuxième chapitre décrit l'ingénierie moléculaire réalisée pour obtenir une bibliothèque de molécules fluorescentes à l'état solide et émettant dans le rouge. Les propriétés spectroscopiques en solution et à l'état solide sont présentées, ainsi qu'une étude

mettant en relation la fluorescence à l'état solide et les structures cristallines. Sur la base de ces études, cinq composés ont été sélectionnés pour l'application envisagée.

Le troisième chapitre décrit l'encapsulation des fluorophores sélectionnés précédemment sous forme de nanoparticules cœur-coquille (nanocristal organique enrobé d'une matrice silicatée) par la méthode de *spray drying*. Les propriétés de fluorescence de ces nano-objets sont alors présentées.

Bibliographie de l'introduction générale

[1]: O.R. Brook, A. Hirshenbaum, E. Talor, A. Engel, Arterial air emboli on computer tomography (CT) autopsy, *Injury, Int. J Care Injured.*, **2012**, *43*, 1556-1561.

[2]: A.K. Ganiyusufoglu, L. Onat, O. Karatoprak, M. Enercan, A. Hamzaoglu, Diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging versus computed tomography in stress fractures of the lumbar spine, *Clin. Radiol.*, **2010**, *65*, 902-907.

[3]: R.M. Botnar, M.R. Makowski, 8-Cardiovascular magnetic resonance imaging (MRI), *Biomedical Imaging: Applications and Advanced*, **2014**, 214-234.

[4]: T. Karamitsos, S. Neubauer, Cardiovascular magnetic resonance imaging, *Medicine*, **2014**, *42* (8), 461-467.

[5]: C.-L. Yen, H.-Y. Chang, S.-Y. Huang, Y.-C. Huang, C.-M. Jeng, Combination of tissue harmonic sonography, real-time spatial compound sonography and adaptive image processing technique for the detection of carotid plaques and intima-medial thickness, *Eur. J. Radiol.*, **2009**, *71* (1).

Chapitre 1 :

Contexte et objectifs

Chapitre 1 :

Contexte et objectifs

Dans ce chapitre, nous exposerons le principe de la microscopie de fluorescence biphotonique et son intérêt dans la recherche médicale. Différents types de marqueurs (endogènes et exogènes) utilisés pour cette technique seront décrits, ainsi que les systèmes existants pour véhiculer les chromophores dans l'organisme (nanoparticules organiques et inorganiques).

1. Imagerie biologique : intérêt de la biphotonique dans la recherche médicale

Au cours des dernières décennies, la microscopie de fluorescence est devenue un outil indispensable en biologie et en médecine. Ainsi, il est possible de détecter *in vivo* des particules et des structures qui ne peuvent pas être visualisées par microscopie optique classique. Cependant, la profondeur de pénétration de la lumière visible est en générale très faible, inférieure au millimètre. Ceci résulte majoritairement de deux phénomènes : la diffusion et l'absorption par les tissus.

Les tissus biologiques sont constitués de structures complexes (mitochondries, cytoplasmes,...) et hétérogènes (en taille et forme) avec des indices de réfraction très variés d'une structure à l'autre. Par conséquent, la lumière traversant les tissus est fortement diffusée [1]. Empiriquement, il a été montré que dans les tissus, la probabilité de diffusion (\mathcal{P}) dépend de la longueur d'onde λ selon une loi $\mathcal{P} \propto \lambda^{-n}$, le coefficient n ($0 < n < 4$) dépendant fortement de la nature des espèces diffusantes, et donc de la composition du tissu étudié [2-3]. De façon générale, la lumière bleue ($\lambda = 400$ nm) est bien plus fortement diffusée que la lumière rouge ($\lambda = 700$ nm).

De plus, certains composés et tissus absorbent dans des gammes de longueurs d'ondes allant de 200 à 700 nm (**Figure 1**). Ainsi, les profondeurs de pénétration dans cette région sont extrêmement faibles.

Il est donc indispensable d'utiliser des marqueurs fluorescents absorbant et émettant dans la région du rouge ou du proche infrarouge (entre 700 et 1000 nm), où l'absorption des tissus biologiques et les phénomènes de diffusion sont minimaux. Cette zone est appelée « fenêtre de transparence biologique ».

Afin d'atteindre des profondeurs plus importantes, une nouvelle technique a été mise au point par Denk et al. en 1990 [4] : la microscopie de fluorescence sous excitation à deux photons (TPEF : two photon excited fluorescence). Depuis, son application dans le domaine de l'imagerie biologique a connu un véritable essor [5-9].

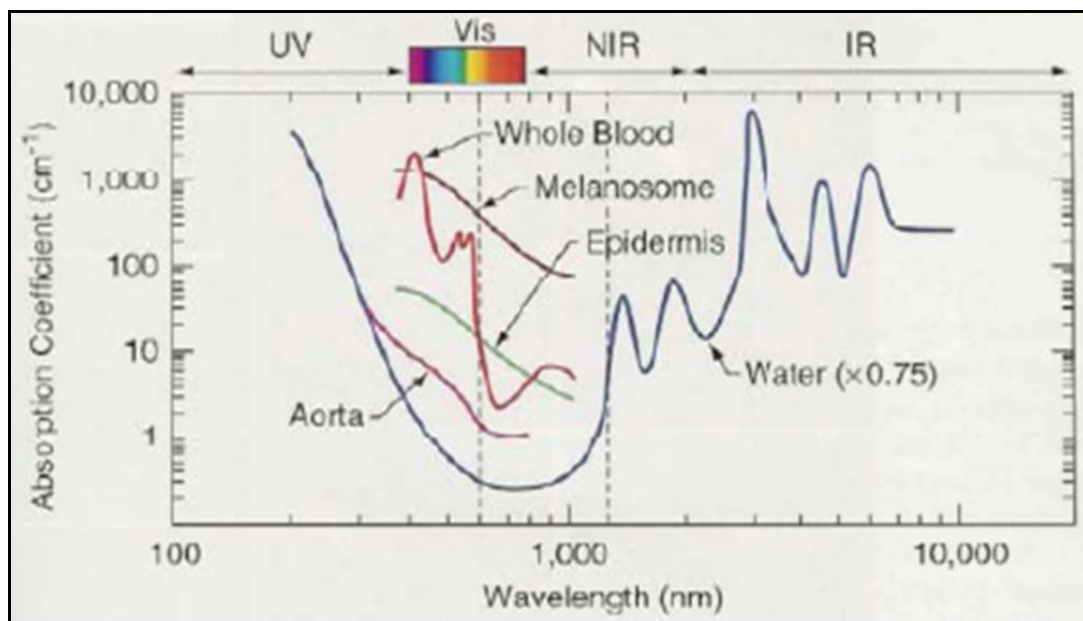


Figure 1: Exemples d'absorption de certains tissus en fonction de la longueur d'onde [1].

1.1. Principe et avantages de la TPFE

La fluorescence à un photon d'une molécule est un phénomène relativement bien connu. Sous excitation par une source lumineuse, un photon est absorbé, portant la molécule dans un état électronique excité. Une partie de l'énergie absorbée est restituée sous forme de vibrations moléculaire, qui est rapidement transmise à l'environnement ($\#10^{-12}$ s). La molécule se désexcite alors au bout d'un certain temps ($\#10^{-9}$ s) en émettant un photon.

La fluorescence à deux photons repose sur le même principe, sauf qu'au lieu d'absorber un photon, la molécule absorbe quasi simultanément deux photons (ADP) qui

peuvent être de même fréquence ν (ADP dégénérée) ou bien de fréquences différentes ν_1 et ν_2 (ADP non dégénérée), par l'intermédiaire d'un état virtuel (**Figure 2**). L'énergie de cet état virtuel ne correspond à aucune résonance de la molécule. L'énergie combinée de ces deux photons doit être suffisante pour induire une transition électronique de l'état fondamental vers un état excité S_m , suivie d'une désexcitation non radiative pour aller vers l'état excité S_1 , de plus basse énergie. La molécule retourne ensuite à l'état fondamental S_0 en émettant un photon d'énergie égale à la différence entre l'énergie S_1 et l'énergie S_0 (**Figure 2**). Il faut noter que la probabilité de cette absorption biphotonique est beaucoup plus faible qu'à un photon, c'est pourquoi ce type d'excitation nécessite des sources laser produisant des impulsions femtosecondes très intenses. De plus, la probabilité d'absorption biphotonique est proportionnelle au carré de l'intensité lumineuse, ce qui limite cette absorption au point focal du faisceau lumineux.

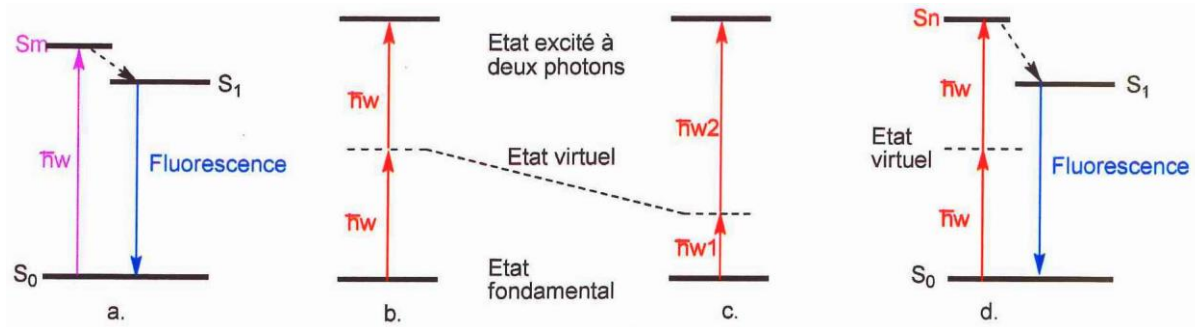


Figure 2 : Diagramme de Jablonski simplifié représentant la fluorescence à un et à deux photons avec le phénomène d'ADP dégénérée et non dégénérée.

La TPFE présente plusieurs avantages par rapport aux techniques classiques de fluorescence à un photon qui rendent son utilisation intéressante pour l'imagerie en milieu biologique.

- Augmentation de la profondeur de pénétration :

La profondeur de pénétration des rayons incidents et émis est souvent limitée en microscopie de fluorescence classique (λ_{exc} 400 – 600 nm), à cause de l'absorption et de la diffusion des milieux biologiques à ces longueurs d'ondes. L'ADP offre l'avantage de pouvoir travailler avec des longueurs d'ondes d'excitation situées dans le proche infrarouge, typiquement vers 700 - 1000 nm. Cela permet donc d'effectuer une imagerie des couches plus profondes [10].

- Résolution spatiale :

L'ADP étant proportionnelle au carré de l'intensité incidente, cela implique que seul le point de focalisation du laser est excitateur (**Figure 3**) ($\approx 1\mu\text{m}^3$). Cette résolution tridimensionnelle augmente de manière significative le rapport signal/bruit dans un milieu épais. En effet, pour une excitation à un photon, la fluorescence est générée sur tout le trajet de l'illumination (**Figure 3**), le signal de fluorescence au point focal est noyé dans le bruit de fond constitué par la fluorescence hors du point focal. En microscopie biphotonique, toute la fluorescence émise par l'échantillon provient du volume focal.

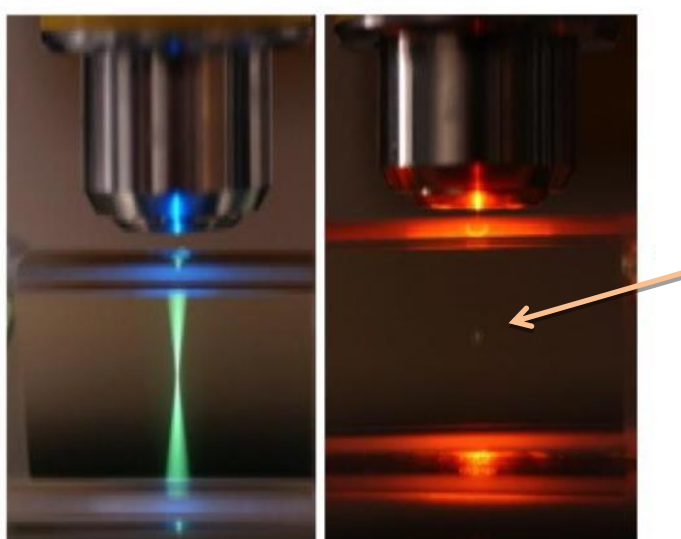


Figure 3 : Illustration de la résolution tridimensionnelle de la TPEF (droite) en comparaison de la fluorescence à un photon (gauche), la flèche montre la fluorescence au point focal du laser [11].

- Limitation de la photodégradation et de la phototoxicité:

La diminution de l'énergie des photons utilisés permet de réduire la toxicité pour les cellules, mais aussi le photoblanchiment des fluorophores. Il en résulte que cette technique diminue fortement les problèmes de photodégradation et de phototoxicité (libération de radicaux libres toxiques) liés à l'excitation des chromophores.

La microscopie biphotonique dépend d'une part des nouvelles sources lumineuses, mais également de la molécule sonde. Nous verrons par la suite que de nombreuses études d'optimisation de marqueurs fluorescents à deux photons ont été réalisées au cours de ces dernières années.

1.2. Marqueurs fluorescents en biologie

Il existe une grande variété de marqueurs utilisables en biologie. D'une part, plusieurs protéines endogènes sont capables de fluorescence excitée à deux photons, permettant ainsi de révéler des caractéristiques importantes sans nécessité d'un marquage par une molécule extérieure. D'autre part, les fluorophores organiques artificiels sont bien souvent plus efficaces. Ils offrent une plus grande variété spectrale (variété de longueur d'onde d'excitation et d'émission). Ils sont dits marqueurs « exogènes », c'est-à-dire que les molécules ou les nanoparticules luminescentes qui sont utilisées comme agents de contraste sont étrangères à la cellule, au tissu ou au petit animal que l'on souhaite étudier par imagerie. Jusqu'en 2003, les études de marqueurs fluorescents à deux photons étaient majoritairement de nature moléculaire. Depuis, de nouveaux marqueurs à base de nanoparticules d'or ou de silice ont été utilisés pour l'imagerie *in vivo*.

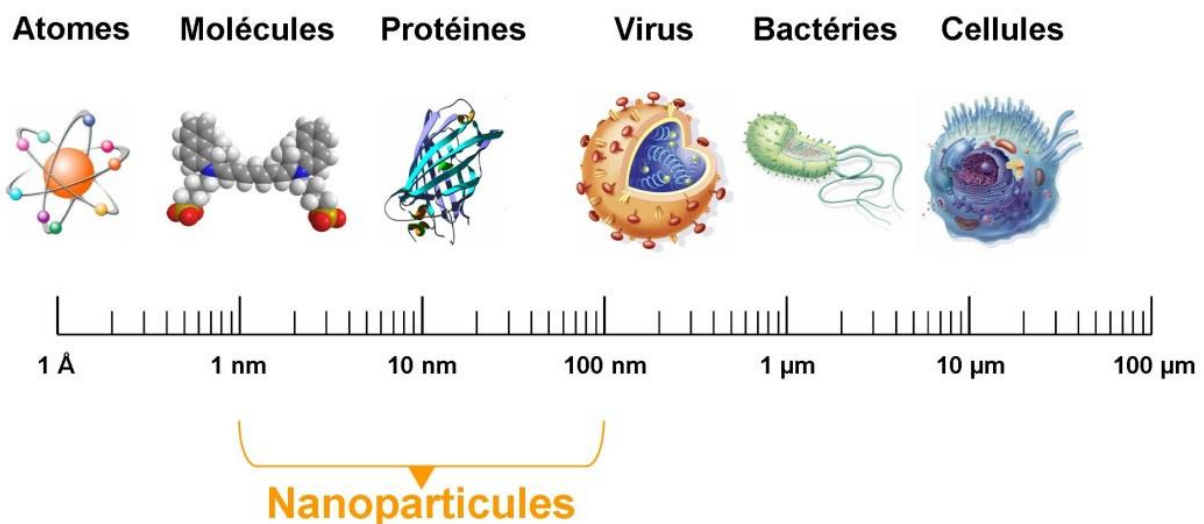


Figure 4: Tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques. [12]

1.2.1. Marqueurs endogènes

Il existe de nombreuses molécules fluorescentes présentes dans les tissus biologiques qui ne nécessitent pas de marquage par un chromophore extérieur. Cependant, elles sont peu diversifiées, et peu différenciables en spectroscopie à cause de leurs longueurs d'onde d'absorption et d'émission proches. L'une des familles, largement étudiée, regroupe les coenzymes d'oxydoréduction, comme la Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD) (**Figure**

5) [13-15] et les flavines [16-17]. Ces dernières sont essentiellement utilisées pour étudier les potentiels d'oxydoréduction de la cornée et de la peau [18-19].

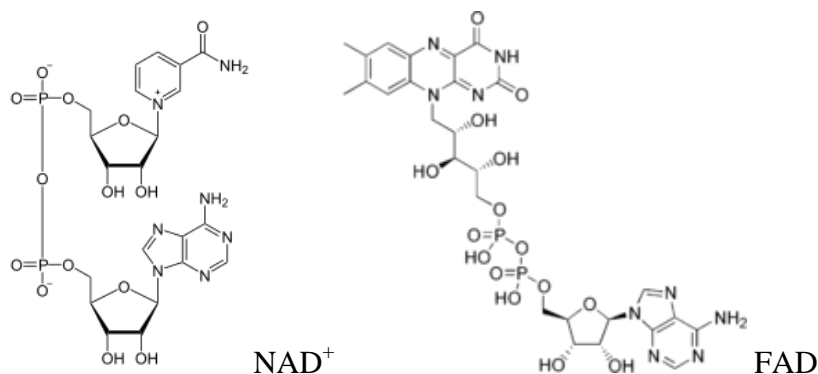


Figure 5: Structure des marqueurs endogènes fluorescents : NAD et FAD.

Cependant, la plupart des marqueurs endogènes existants n'ont pas des propriétés optimales pour la TPEF (déplacements de Stokes relativement faibles et longueur d'onde de fluorescence en dehors de la fenêtre de transparence biologique). Pour une meilleure optimisation, il est nécessaire de développer de nouveaux marqueurs de type exogènes afin d'améliorer les propriétés d'absorption biphotonique pour des applications spécifiques.

1.2.2. Marqueurs exogènes

De nombreux colorants organiques ont été développés pour marquer certaines structures et organites subcellulaires. Ils sont en général plus efficaces que les marqueurs endogènes, offrent une grande variété spectrale et fournissent davantage de fonctionnalités ; certains sont aussi utilisables en TPEF. Par exemple, on peut citer les molécules basées sur l'hétérocycle xanthène dont la fluorescéine, synthétisée dès 1871 par Adolf Von Bayer (**Figure 6**). Cette famille a été largement étudiée [20] en modifiant la nature des groupements donneur et accepteur ou encore la substitution du cycle. D'autres chromophores ont été synthétisés, comme le DAPI [21] (diamidinophénylindole), utilisé pour marquer spécifiquement l'ADN.

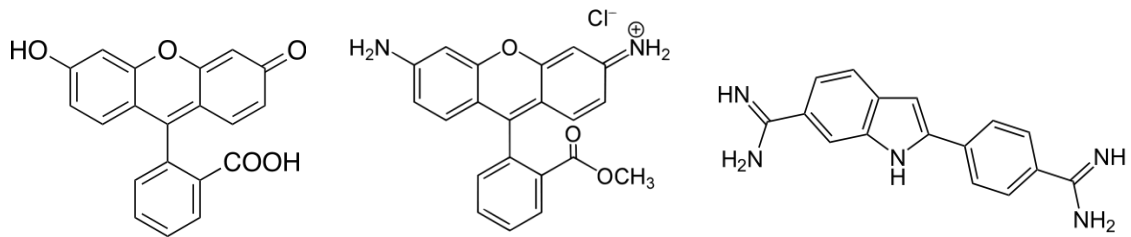


Figure 6: Structure des molécules : fluorescéine, rhodamine B, DAPI.

Ces chromophores sont en général spécifiques d'une structure biologique précise et ne présentent pas de sections efficaces d'ADP importants. Il est donc crucial de développer de nouveaux marqueurs pour des applications spécifiques. La plupart des groupes de recherche travaillent sur des systèmes quadripolaires, de type D- π -D ou A- π -A [22-26] ou encore dipolaires de type D- π -A [27-30] (chromophores développés dans le **chapitre 2**) en fonction des applications biologiques visées et de leurs contraintes (solubilité dans l'eau, photostabilité importante, grande section efficace d'ADP dans le domaine du proche infrarouge,...).

De même, on peut citer les nanocristaux semi-conducteurs fluorescents, plus communément appelés « quantum dots » (QDs) [31-33]. Ces objets qui mesurent entre 2 et 10 nm de diamètre sont composés d'un cœur cristallin semi-conducteur dont la fluorescence repose sur le confinement quantique dû au nombre réduit d'atomes dans le nanocristal [34-35]. Ainsi, les longueurs d'onde d'émission sont dépendantes de leur taille (**Figure 7**), qui peut être parfaitement contrôlée (pour le CdSe, une taille de 2 nm conduit à une émission dans le bleu et une taille de 6 nm à émission dans le rouge). Les couples d'éléments les plus couramment utilisés sont les suivants : Cd/Se, Cd/Te, In/As ou In/P. Ils sont utilisés comme agents de contraste en microscopie de fluorescence. Cependant, l'utilisation de ces luminophores est limitée par la toxicité des éléments qui les composent, en particulier le cadmium. De plus, ces luminophores sont en général sensibles aux variations de pH [36].

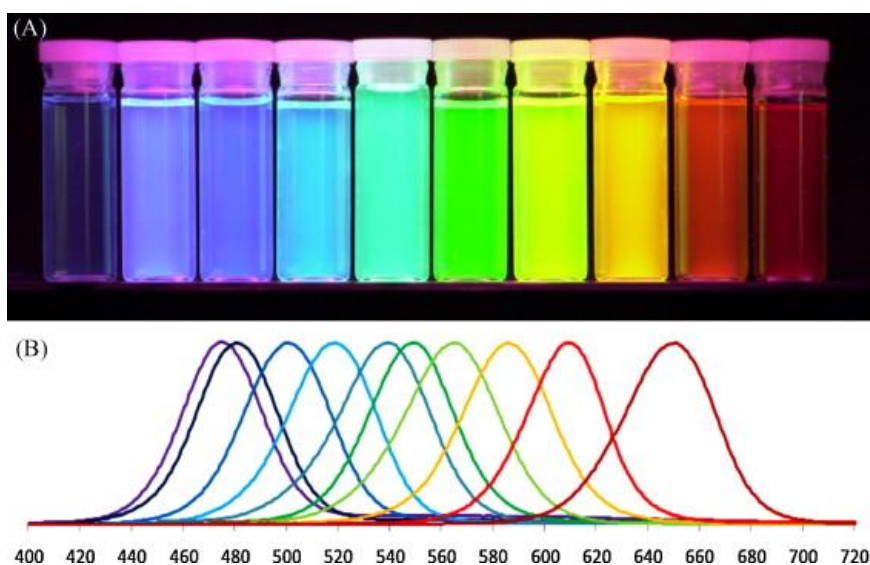


Figure 7: Fluorescence des QDs (CdSe) en fonction de leurs tailles. [35]

Afin de pouvoir transporter les marqueurs exogènes dans l'organisme, une solution serait de combiner les propriétés des chromophores organiques (luminescence dans le rouge) et les propriétés des matériaux inorganiques (résistance mécanique, thermique et chimique). En effet, les chromophores organiques sont sensibles au photoblanchiment et possèdent une faible stabilité thermique. En les encapsulant dans une matrice inorganique, les chromophores organiques sont protégés. De plus, la matrice peut être fonctionnalisée pour un éventuel ciblage.

2. Nanoparticules comme moyen de transport des chromophores

Les nanoparticules véhiculant des agents de contrastes ou délivrant un principe actif dans les cellules cible offrent un grand intérêt pour la médecine. En effet, elles sont peu volumineuses (de quelques nm à une centaine de nm), ce qui permet d'envisager une administration intravasculaire. De plus, elles présentent une grande surface externe fonctionnalisable pouvant permettre le ciblage spécifique de certaines cellules. Généralement, on les recouvre de polyéthylène glycol (PEG) pour les rendre furtives et qu'elles ne soient pas éliminées par le système réticuloendothélial trop rapidement. Leur caractère parfois multifonctionnel (encapsulation ou greffage de plusieurs molécules ayant différentes

fonctions sur un même objet) leur permet de jouer plusieurs rôles à la fois (nano-sonde, agent de contraste, vecteurs de principe actif ou encore agent thérapeutique).

Une très grande variété de nanoparticules a été développée pour vectoriser des marqueurs. On distingue les nanoparticules organiques (micelles [37], liposomes [38-40], nanoparticules lipidiques [41-42],...) des nanoparticules inorganiques (nanoparticules d'oxydes métalliques [43-44]). Généralement, les nanoparticules organiques sont non toxiques et biocompatibles ce qui est très intéressant pour des applications *in vivo*. Cependant, la capacité d'encapsulation pour ce type de nanoparticules reste faible et un relargage précoce des principes actifs dans le sang est souvent constaté. Les nanoparticules inorganiques sont des structures plus rigides et plus stables thermiquement. Leur capacité d'encapsulation est également plus importante. Dans le cadre de ce projet, nous nous intéresserons uniquement aux matrices de silice. En effet, l'encapsulation de chromophores moléculaires dans une matrice de silice présente de nombreux avantages :

- Synthèse des nanoparticules reproductibles
- Nanoparticules de silices permettant de protéger le fluorophore à l'intérieur de la matrice silicatée
- Greffage d'agents de furtivité
- Nanoparticules de silice fonctionnalisable

2.1. Nanoparticules de silice fonctionnelles

L'emploi de nanoparticules fonctionnelles se situe à l'interface entre la biologie, la physique et la chimie [45-47]. Ces nanoparticules peuvent être utilisées soit pour véhiculer des agents thérapeutiques vers une zone ciblée, soit pour le diagnostic et plus particulièrement pour l'imagerie médicale. Dans ce dernier cas, les nanoparticules jouent le rôle de traceur ou d'agent de contraste.

Les nanoparticules de silices fonctionnelles sont biocompatibles [48-49], transparentes dans des gammes spectrales intéressantes (de l'UV au proche infrarouge) et possèdent une grande stabilité physico-chimique. Par ailleurs, la surface de la silice est facilement fonctionnalisable (greffage de nombreux groupes fonctionnels), ce qui est indispensable pour des applications en biotechnologie. De plus, afin de pouvoir manipuler ces nanoparticules (par exemple, fonctionnalisation de surface ou injection dans l'organisme), il est indispensable de

les mettre en solution (en général de l'eau). On parle alors de silice colloïdale car les particules de silice sont dispersées de manière homogène en solution (taille variant de 10 à 1000 nm). Ces solutions sont caractérisées par leur stabilité, elles ne sédimentent et ne s'agrègent pas. Deux familles de nanoparticules silicatées sont principalement utilisées : les nanoparticules « denses » et les nanoparticules mésoporeuses [50-53]. Ces dernières, actuellement très étudiées pour le relargage contrôlé de principes actifs mais également pour encapsuler des molécules fluorescentes, ne seront pas développées dans ce manuscrit.

Il existe plusieurs architectures de nanoparticules de silice dense en fonction des propriétés recherchées (**Figure 8**). En effet, les paramètres comme la nature, la taille, ou encore l'affinité des éléments encapsulés vont influencer le type de structure des nanoparticules. Si les éléments encapsulés sont de petite taille (inférieure à quelques nm), alors ils se répartissent de façon homogène au sein de la matrice minérale. En revanche, si les éléments encapsulés sont plus gros ou s'ils subissent des phénomènes d'aggrégation, les nanoparticules présenteront plutôt une architecture de type cœur-coquille.

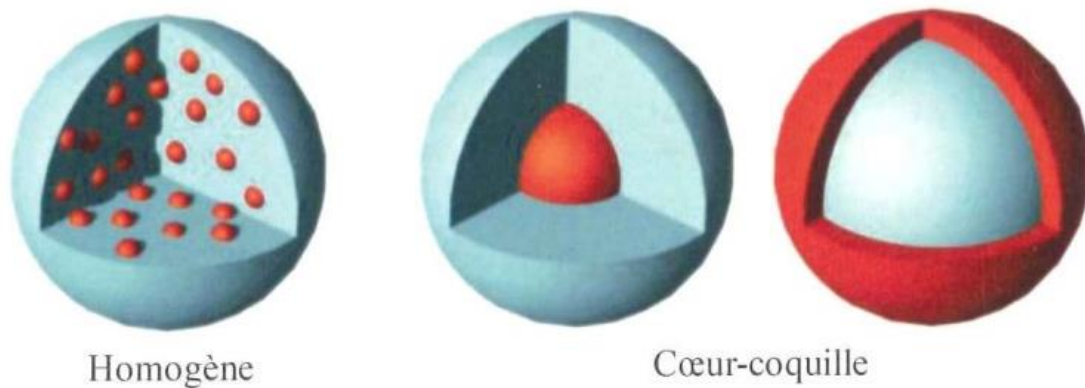


Figure 8 : Schéma des différentes architectures de nanoparticules de silice. [54]

De nombreuses études sur les nanoparticules ont permis d'encapsuler un grand nombre de fluorophores. Les plus courants sont les chromophores moléculaire [45] (décrits ci-dessus), les complexes organo-métalliques, ou encore les quantum dots.

2.2. Exemple de nanoparticules de silice luminescentes

Un des objectifs principaux est d'augmenter la durée de vie des nanoparticules dans le compartiment sanguin [55]. En effet, les nanoparticules « étrangères » sont rapidement phagocytées par les macrophages du foie, de la rate, des poumons, voire même par les macrophages circulants. Ainsi afin de limiter ce processus, les nanoparticules sont recouvertes d'agents de furtivité pour créer une couche protectrice autour des transporteurs [56-57]. Les agents utilisés sont en général biocompatibles, solubles en milieu aqueux et non toxiques. De plus, la silice étant facilement fonctionnalisable, il est possible d'ajouter des ligands (anticorps [58], peptides [59], ou encore oligonucléotides [60]) à la surface des nanoparticules pour permettre un éventuel ciblage vers une zone spécifique que l'on souhaite étudier. Cependant, ces ajouts favorisent leur capture par les macrophages [61].

Afin de synthétiser les nanoparticules de silice via le procédé sol-gel, de nombreuses techniques de synthèse ont été développées. Il existe essentiellement deux méthodes dérivées des procédés sol-gel ; la méthode de Stöber et la microémulsion inverse.

2.3. Synthèse de nanoparticules de silice

Un protocole de synthèse de particules de silice amorphe dans une solution d'alcool a été mis au point, en 1968, par Stöber, Fink et Bohn appelé « procédé Stöber » [62]. Il permet de synthétiser des colloïdes de silice sphériques concentrés, de diamètre moyen contrôlé compris entre 30 nm et 1 μm [63]. Cette méthode de synthèse est basée sur l'hydrolyse et la condensation du tétraéthoxysilane (TEOS) dans l'éthanol à température ambiante, en présence d'eau et d'ammoniaque (catalyse basique). Il existe de nombreuses variantes : en changeant les températures de réaction [64], en utilisant des électrolytes [65] ou via une activation ultrasonique [66]. Cette technique est facile à mettre en œuvre mais ne permet qu'un contrôle limité de la dispersion en taille des nanoparticules.

La synthèse de particules de silice en microémulsion inverse (phase aqueuse minoritaire par rapport à la phase organique) [67-68], apparue dans les années 1990, a été développée par F.J. Arriagada et K. Osseo-Asare. Ce procédé a permis d'encapsuler de nombreux matériaux comme des quantum dots [69] ou des particules d'oxyde de fer Fe_3O_4 [70]. L'originalité de ce procédé est le milieu de synthèse qui est biphasique alors que dans le procédé Stöber le milieu est monophasique. Cette technique consiste en une dispersion

homogène de nanogouttelettes (appelées micelles inverses) d'eau dans une phase organique, et qui sont stabilisées à leur interface par des molécules de tensioactif. Le cœur de ces nanogouttelettes est le siège des réactions d'hydrolyse et de condensation du TEOS [71-72] (cœur contenant l'eau et le catalyseur). La taille des nanogouttelettes étant homogène et dépendante des proportions de chaque constituant, le diamètre des nanoparticules obtenu est reproductible et d'une faible dispersion. Cependant la microémulsion doit être déstabilisée en fin de synthèse afin que les nanoparticules puissent être recueillies. Cette dernière étape provoque l'adsorption de tensioactif à leur surface. De nombreux lavages sont alors nécessaires. Cependant pour qu'un chromophore organique soit encapsulé dans une matrice de silice avec un tel procédé, il faut rendre le chromophore hydrosoluble, ce qui n'est souvent pas chose aisée.

Dans le but de synthétiser des nanoparticules cœur-coquilles composées d'un cœur cristallin enrobé d'une matrice silicatée, et sur la base de travaux sur la nanocristallisation en matrice sol-gel, l'équipe d'Alain Ibanez a mis au point un procédé sol-gel original par séchage d'aérosol [73-74]. L'avantage de cette technique repose notamment sur l'encapsulation de chromophores non hydrosolubles avec un contrôle des tailles des nanoparticules.

3. Procédé aérosol mis en place à l'Institut Néel

3.1. Expertise

Depuis 1997, l'équipe d'Alain Ibanez combine la chimie sol-gel et la formation de nanocristaux organiques en milieu confiné. Elle a ainsi pu acquérir une expertise dans l'élaboration de matériaux composites par « chimie douce » à des températures de synthèse proche de l'ambiante [75]. Les premières études concernaient la synthèse de xérogels monolithiques contenant des nanocristaux organiques [76-78]. Puis les recherches se sont axées sur l'élaboration de nanocristaux organiques en couches minces sol-gel obtenues par *spin coating* [79-80]. Le contrôle des paramètres expérimentaux a permis l'obtention de couches minces d'épaisseur contrôlée (100 nm à 1 μ m) ainsi que la maîtrise de la nanocristallisation confinée de la phase organique dans les pores de la matrice sol-gel, permettant ainsi de limiter et de contrôler la taille des nanocristaux entre 20 et 800 nm [81]. Enfin, à la suite des observations faites en couche minces [82], une étude a été menée afin de maîtriser la nucléation et la croissance de nanocristaux organiques dans des sphères silicatées au travers d'un triple confinement : temporel par une évaporation très rapide du solvant,

spatial au sein du gel silicaté en cours de densification, le tout associé à un confinement spatial pour la formation de cette matrice silicatée à l'intérieur de chaque gouttelette de l'aérosol initial. C'est ainsi qu'un montage de séchage d'aérosol (*spray drying*) a été mis en place [73-74], et les conditions opératoires ont été optimisées avec comme molécule référence le 1-cyano-1-(4-nitrophenyl)-2-(4-methoxyphenyl)ethene communément appelé **CMONS** [83].

3.2. Montages et synthèse

Le montage est composé d'un nébuliseur (2) permettant au sol d'être dispersé en un nuage de gouttelettes extrêmement fines (brouillard), d'un four (4) qui induit le séchage des gouttelettes et d'un filtre électrostatique (5) pour récolter les nanoparticules formées (**Figure 9**).

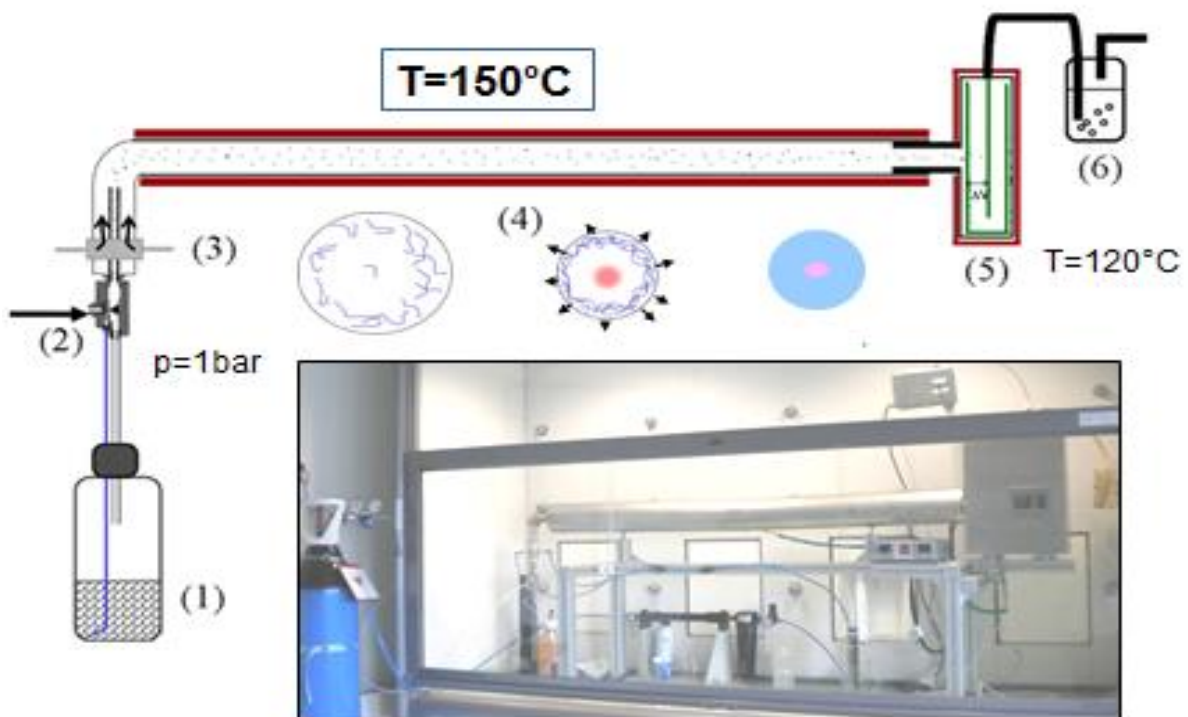


Figure 9 : Schéma du réacteur du nébulisateur couplé avec un four et un filtre électrostatique. [87]

- Nébuliseur :

Un nébuliseur est un appareil qui permet de transformer une solution en un nuage de particules fines. Il peut être décomposé en deux parties distinctes : un réservoir qui permet de stocker le liquide à nébuliser et une chambre de nébulisation qui permet de produire l'aérosol.

Il est également nécessaire d'alimenter le nébuliseur par une source d'énergie. Cette source peut être pneumatique ou ultrasonique.

La nébulisation ultrasonique utilise comme source d'énergie des ondes acoustiques. Les vibrations créées par une source piézoélectrique engendrent des ondes qui progressent jusqu'au liquide à nébuliser et le fractionne en fines gouttelettes. Les particules vont alors flotter au-dessus du liquide pour apparaître comme un brouillard. Une aspiration achemine les particules dans un conduit. Néanmoins, cette méthode semble plus difficile à mettre en œuvre que le nébuliseur pneumatique [83]. Pour notre projet, la source permettant la nébulisation du sol est donc pneumatique [84-85]. Ce type d'appareil utilise une source de gaz (dans notre cas l'azote) arrivant perpendiculairement par rapport au film liquide (**Figure 10**). Le liquide, qui se trouve dans le réservoir, est donc aspiré par effet Venturi puis accéléré et propulsé sur un impacteur entraînant l'éclatement du liquide en fines gouttelettes.

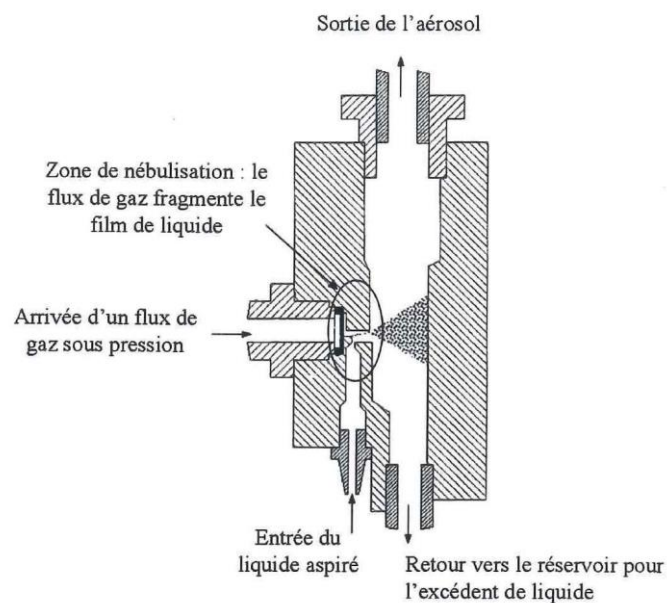


Figure 10 : Représentation schématique de la buse de nébulisation utilisée dans le montage de synthèse des nanoparticules cœur-coquilles à l'Institut Néel. [83]

Cette méthode est très utilisée dans l'élaboration de particules mésoporeuses [86-87] ou bien dans la préparation de polymères destinés au relargage des médicaments [88-89]. L'inconvénient de cette méthode est l'augmentation progressive de la concentration en composé et en alcoxydes de silicium dans le réservoir en cours d'utilisation. En effet, le réservoir, fermé hermétiquement, est traversé par deux capillaires, dont un assure le retour du surplus de la solution dans le réservoir.

- Arrivée d'air comprimé en sortie de buse de pulvérisation :

Afin d'assurer un bon flux laminaire et un bon transport du brouillard dans le four thermostaté à une température de 150 °C, une arrivée d'air comprimé (purifié par une membrane desséchante et un filtre de charbon) a été placée en sortie de buse de pulvérisation. Les fines gouttelettes sont alors séchées dans le four.

- Séchage des gouttelettes dans le four à 150 °C :

Au cours de l'évaporation du solvant il va tout d'abord se former une croûte silicatée en surface de la gouttelette (2) avec au cœur le chromophore en solution qui est de plus en plus concentré. Puis, en fin d'évaporation du solvant, la forte concentration au cœur de la nanoparticule génère la nucléation et la croissance confinée des nanocristaux dans la coquille de silice (3-4).

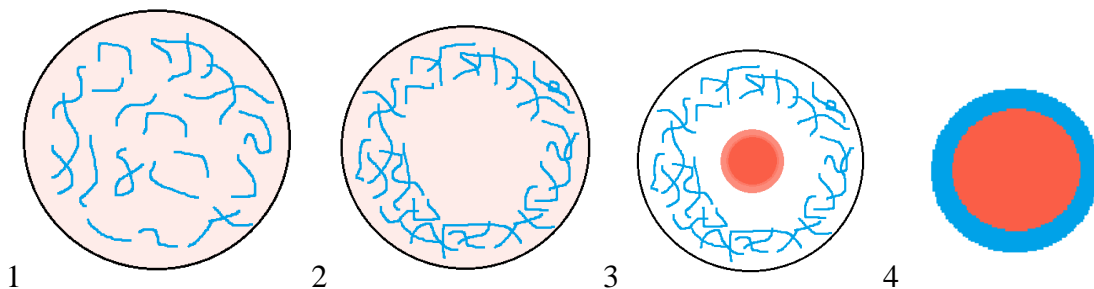


Figure 11: Evolution d'une goutte issue de la nébulisation d'un sol parfaitement homogène au départ (1) puis progressivement séché (2-4) en passant sous flux laminaire d'un gaz vecteur dans un four tubulaire.

- Filtre électrostatique thermostaté en sortie de four :

En sortie du four, les nanoparticules de silice sont recueillies sur un filtre électrostatique thermostaté afin de s'assurer qu'elles soient bien sèches (possibilité de rester pendant plusieurs heures sur le filtre), tout en empêchant toute condensation des différentes vapeurs générées durant le passage dans le four (solvants organiques, alcool et eau issus du procédé sol-gel).

Les conditions de nébulisation ainsi que les compositions des sols ont été optimisées durant la thèse de Cécile Philippot [87] afin d'obtenir de petites nanoparticules hybrides, de moins de 100 nm de diamètre, avec un cœur organique monocristallin encapsulé au sein d'une matrice silicatée amorphe la plus fine possible. Ce travail sera décrit plus en détail dans le **chapitre 3**.

3.3. Conclusion et objectifs

La microscopie de fluorescence biphotonique (TPEF) est une technique en plein essor constituant une avancée importante pour l'imagerie biologique. D'une part, la TPEF réduit considérablement la phototoxicité et la photodégradation. D'autre part, elle permet d'imager des milieux épais avec une profondeur de pénétration allant jusqu'à quelques centaines de micromètres. De plus, elle permet également la formation d'images de haute résolution en éliminant le bruit de fond provenant de la lumière d'excitation du signal de fluorescence. C'est pourquoi, il est important de développer de nouveaux marqueurs fluorescents pour la biophotonique. De plus, les nanoparticules de silice représentent de bons moyens de transport (biocompatible, protection du fluorophore au cœur de la nanoparticule, possibilité de greffage d'agents de furtivité et fonctionnalisable) pour une utilisation *in vivo*. Le procédé original par séchage d'aérosol développé à l'Institut Néel permet de synthétiser des nanoparticules cœur-coquille (cœur composé d'un monocristal de fluorophore enrobé d'une matrice de silice) de façon reproductible. L'utilisation de chromophores non nécessairement hydrosolubles en comparaison des autres méthodes (Stöber, microémulsion inverse) est également un avantage très intéressant.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre le Laboratoire de Chimie de l'ENS Lyon qui développe l'ingénierie moléculaire de fluorophores et la spectroscopie à un et à deux photons, et l'Institut Néel à Grenoble où sont étudiés les procédés sol-gel et la croissance de cristaux. Cette thèse s'insère dans une étude ambitieuse de développement de traceurs cœur-coquille ultrabrillants pour l'imagerie médicale et, en particulier, pour l'angiographie cérébrale.

Dans le **chapitre 2**, nous décrirons l'ingénierie moléculaire développée à l'ENS Lyon, afin de concevoir des familles de fluorophores excitables à deux photons à 700 – 1000 nm et émettant à l'état solide dans le rouge. Ils devront également satisfaire plusieurs contraintes supplémentaires liées au procédé de séchage d'aérosol: une température de fusion supérieure à 150 °C et une solubilité dans le THF importante (environ 10^{-2} - 10^{-1} M).

Dans le **chapitre 3**, nous verrons comment les chromophores ont été encapsulés dans une matrice de silice, par le procédé de *spray drying* afin d'obtenir des nanoparticules fluorescentes de diamètres inférieur à 100 nm.

Bibliographie

- [1]: T. Vo-Dinh, *Biomedical photonics handbook*, ed. Press,D.C. **2003**.
- [2]: J.V. Frangioni, In vivo near-infrared fluorescence imaging, *Curr. Opin. Chem. Bio*, **2003**, 7, 626-634.
- [3]: Y.T. Lim, S. Kim, A. Nakayama, N.E. Stott, M.G. Bawendi, J.V. Frangioni, Selection of quantum dot wavelengths for biomedical assays and imaging, *Mol. Imaging*, **2003**, 2 (1), 50-64.
- [4]: W. Denk, J.H. Strickler, W.W. Webb, Two-photon laser scanning fluorescence microscopy, *Science*, **1990**, 248 (4951), 73-76.
- [5]: R.M. Williams, W.R. Zipfel, W.W. Webb, Multiphoton microscopy in biological research, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2001**, 5 (5), 603–608.
- [6]: T. Pons, J. Mertz, *Images de la physique*, **2005**, 159-165.
- [7]: W. Denk, K. Svoboda, Photon upmanship: why multiphoton imaging is more than a gimmick, *Neuron*, **1997**, 18 (3), 351-357.
- [8]: M. Wühr, N.D. Obholzer, S.G. Megason, H.W. Detrich, T.J. Mitchison, Live imaging of the cytoskeleton in early cleavage-stage zebrafish embryos., *Methods Cell Biol.* **2011**, 101, 1–18.
- [9]: H.M. Kim, B.R. Cho, Two-photon probes for intracellular free metal ions, acidic vesicles, and lipid rafts in live tissues., *Acc. Chem. Res.*, **2009**, 42 (7), 863–72.
- [10]: V.E. Centonze, J.G. White, Multiphoton excitation provides optical sections from deeper within scattering specimens than confocal imaging, *Biophys. J.*, **1998**, 75 (4), 2015-2024.
- [11]: <http://mcb.berkeley.edu/labs2/robey/content/2-photon-imaging>.
- [12]: M. Goutayer, Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques ; étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo, Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie (**2008**).

- [13]: J. Luong, A. Mulchandani, Applications of NADH-dependent fluorescence sensors for monitoring and controlling bioprocesses, *Sens. Bioprocess Control*, **1990**, *1*, 75–94.
- [14]: B. Kierdaszuk, H. Malak, I. Gryczynski, P. Callis, J. Lakowicz, Fluorescence of reduced nicotinamides using one- and two-photon excitation, *Biophys. Chem.*, **1996**, *62 (1-3)*, 1–13.
- [15]: C. Estes, A. Duncan, B. Wade, C. Lloyd, W. Ellis, L. Powers, Reagentless detection of microorganisms by intrinsic fluorescence, *Biosens. Bioelectron.* **2003**, *18 (5-6)*, 511–519.
- [16]: S.A. Glazier, H.H. Weetall, *J. Microbiol. Methods*, **1994**, *20*, 23-27.
- [17]: K. Nealson, J. Hastings, Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance, *Microbiol. Rev.*, **1979**, *43 (4)*, 496–518.
- [18]: D.W. Piston, B.R. Masters, W.W. Webb, three-dimensionally resolved NAD(P)H cellular metabolic redox imaging of the in situ cornea with two-photon excitation laser scanning microscopy, *J. Microsc.*, **1995**, *178 (1)*, 20-27.
- [19]: B.R. Masters, P.T.C. So, E. Gratton, Multiphoton excitation fluorescence microscopy and spectroscopy of in vivo human skin, *Biophys. J.*, **1997**, *72 (6)*, 2405-2412.
- [20]: J.P. Hermann, J. Ducuing, Dispersion of the two-photon cross section in rhodamine dyes, *Opt. Commun.*, **1972**, *6 (2)*, 101-105.
- [21]: C. Xu, R.M. Williams, W. Zipfel, W.W. Webb, Multiphoton excitation cross-sections of molecular fluorophores, *Bioimaging*, **1996**, *4 (3)*, 198–207.
- [22]: O.-K. Kim, K.-S. Lee, H.Y. Woo, K.-S. Kim, G.S. He, J. Swiatkiewicz, P.N. Prasad, New class of two-photon-absorbing chromophores based on dithienothiophene, *Chem. Mater.*, **2000**, *12 (2)*, 284-286.
- [23]: L. Ventelon, S. Charier, L. Moreau, J. Mertz, M. Blanchard-Desde, Nanoscale push-pull dihydrophenanthrene derivatives as novel fluorophores for two-photon-excited fluorescence, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40 (11)*, 2098-2101.
- [24]: W.J. Yang, C.H. Kim, M.-Y. Jeong, S.K. Lee, M.J. Piao, S.-J. Jeon, B.R. Cho, Synthesis and Two-Photon Absorption Properties of 9,10-Bis(arylethynyl)anthracene Derivatives, *Chem. Mater.*, **2004**, *16 (14)*, 2783-2789.

- [25]: J.E. Ehrlich, X.L. Wu, I.-Y.S. Lee, Z.-Y. Hu, H. Röckel, S.R. Marder, et al., Two-photon absorption and broadband optical limiting with bis-donor stilbenes, *Opt. Lett.*, **1997**, 22, 1843-1845.
- [26]: B.A. Reinhardt, L.L. Brott, S.J. Clarson, A.G. Dillard, J.C. Bhatt, R. Kannan, L. Yuan, G.S. He, P.N. Prasad, Highly active two-photon dyes: design, synthesis, and characterization toward application, *Chem. Mater.*, **1998**, 10 (7), 1863-1874.
- [27]: P. Nguyen, G. Lesley, T.B. Marder, I. Ledoux, J. Zyss, Second-Order Nonlinear Optical Properties of Push–Pull Bis(phenylethynyl)benzenes and Unsymmetric Platinum Bis(phenylacetylide) Complexes, *Chem. Mater.*, **1997**, 9, 406–408.
- [28]: N.S. Makarov, M. Drobizhev, A. Rebane, Two-photon absorption standards in the 550-1600 nm excitation wavelength range, *Opt. Express.*, **2008**, 16 (6), 4029-4047.
- [29]: A. Reinhardt, L.L. Brott, S.J. Clarson, A.G. Dillard, J.C. Bhatt, R. Kannan, et al., Highly Active Two-Photon Dyes: Design, Synthesis, and Characterization toward Application, *Chem. Mater.*, **1998**, 10 (7), 1863–1874.
- [30]: L. Beverina, J. Fu, A. Leclercq, E. Zojer, P. Pacher, S. Barlow, et al., Two-photon absorption at telecommunications wavelengths in a dipolar chromophore with a pyrrole auxiliary donor and thiazole auxiliary acceptor., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127 (20), 7282–7283.
- [31]: M.A. Walling, J.A. Novak, J.R.E. Shepard, Quantum dots for live cell and in vivo imaging., *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, 10 (2), 441–491.
- [32]: C.E. Probst, P. Zrazhevskiy, V. Bagalkot, X. Gao, Quantum dots as a platform for nanoparticle drug delivery vehicle design., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2013**, 65 (5), 703–718.
- [33]: E. Cassette, M. Helle, L. Bezdetnaya, F. Marchal, B. Dubertret, T. Pons, Design of new quantum dot materials for deep tissue infrared imaging., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2013**, 65 (5), 719–731.
- [34]: P. Zrazhevskiy, X. Gao, Multifunctional Quantum Dots for Personalized Medicine, *Nano Today*, **2009**, 4 (5), 414–428.
- [35]: P. Zrazhevskiy, M. Sena, X. Gao, Designing multifunctional quantum dots for bioimaging, detection and drug delivery, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39 (11), 4326-4354.

- [36]: V. Roullier, Micelles de nanocristaux fluorescents et magnétiques comme sondes pour la bio-imagerie, Doctorat de l'Université de Rennes 1 (2009).
- [37]: N. Nasongkla, X. Shuai, H. Ai, B. D. Weinberg, J. Pink, D. A. Boothman and J. Gao, cRGD-functionalized polymer micelles for targeted doxorubicin delivery, *Angew Chem Int Ed*, **2004**, *43* (46), 6323-6327.
- [38]: V.P. Torchilin, Multifunctional nanocarriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2006**, *58* (14), 1532–1555.
- [39]: T.M. Allen, P.R. Cullis, Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2013**, *65* (1), 36–48.
- [40]: H. Pinto-Alphandary, A. Andremont, P. Couvreur, Targeted delivery of antibiotics using liposomes and nanoparticles: research and applications, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2000**, *13* (3), 155–168.
- [41]: W. Mehnert, K. Mäder, Solid lipid nanoparticles, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2012**, *64*, 83–101.
- [42]: S.A. Wissing, O. Kayser, R.H. Müller, Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2004**, *56* (9), 1257–1272.
- [43]: J.R.G. Navarro, F. Lerouge, C. Ceperaga, G. Micouin, A. Favier, D. Chateau, et al., Nanocarriers with ultrahigh chromophore loading for fluorescence bio-imaging and photodynamic therapy., *Biomater.*, **2013**, *34*, 8344–8351.
- [44]: Y. Liu, M.K. Shipton, J. Ryan, E.D. Kaufman, S. Franzen, D.L. Feldheim, Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers., *Anal. Chem.*, **2007**, *79*, 2221–2229.
- [45]: H. Giesche, E. Matijević, Well-defined pigments: I. Monodispersed silica-acid dyes systems, *Dyes Pigm.*, **1991**, *17* (4), 323–340.
- [46]: M. Ohmori, E. Matijević, Preparation and properties of uniform coated colloidal particles. VII. Silica on hematite, *J. Colloid Interface Sci.*, **1992**, *150* (2), 594–598.

- [47]: Y. Jin, A. Li, S.G. Hazelton, S. Liang, C.L. John, P.D. Selid, et al., Amorphous silica nanohybrids: Synthesis, properties and applications, *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, *253*, 2998–3014.
- [48]: S. Kim, H.E. Pudavar, A. Bonoiu, P.N. Prasad, Aggregation-Enhanced Fluorescence in Organically Modified Silica Nanoparticles: A Novel Approach toward High-Signal-Output Nanoprobes for Two-Photon Fluorescence *Bioimaging Adv. Mater.*, **2007**, *19* (22), 3791–3795.
- [49]: H. Zhang, D.R. Dunphy, X. Jiang, H. Meng, B. Sun, D. Tarn, M. Xue, X. Wang, S. Lin, Z. Ji, R. Li, F.L. Garcia, J. Yang, M.L. Kirk, T. Xia, J.I. Zink, A. Nel, J. Brinker, Processing Pathway Dependence of Amorphous Silica Nanoparticle Toxicity: Colloidal vs Pyrolytic, *J.Am.Chem.Soc.*, **2012**, *134* (38), 15790-15804.
- [50]: I.I. Slowing, J.L. Vivero-Escoto, B.G. Trewyn, V.S.Y. Lin, Mesoporous silica nanoparticles: structural design and applications, *J. Mater. Chem.*, **2010**, *20* (37), 7924-7937.
- [51]: C. Argyo, V. Weiss, C. Bräuchle, T. Bein, Multifunctional Mesoporous Silica Nanoparticles as a Universal Platform for Drug Delivery, *Chem. Mater.*, **2014**, *26* (1), 435-451.
- [52]: E.-B Cho, D.O. Volkov, I. Solokov, Ultrabright Fluorescent Silica Mesoporous Silica Nanoparticles: Control of Particle Size and Dye Loading, *Adv. Funct. Mater.*, **2011**, *21* (16), 3129-3135.
- [53]: S. Palantavida, R. Tang, G.P. Sudlow, W.J. Akers, S. Achilefu, I. Sokolov, Ultrabright NIR fluorescent mesoporous silica nanoparticles, *J. Mater. Chem. B*, **2014**, *2* (20), 3107-3114.
- [54]: T; Aubert, Nanoparticules de silice fonctionnelles à base de clusters d'éléments de transition, Doctorat de l'Université de Rennes 1 (2011).
- [55]: V.P. Torchilin, Multifunctional nanocarriers, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2006**, *58* (14), 1532-1555.
- [56]: S.M. Moghimi, A.C. Hunter, J.C. Murray, Long-circulating and target-specific nanoparticles: Theory to practice, *Pharmacol. Rev.*, **2001**, *53* (2), 283-318.
- [57]: C. Monfardini, F.M. Veronese, Stabilization of Substances in Circulation. *Bioconjugate Chem.*, **1998**, *9* (4), 418-450.

- [58]: H. Tada, H. Higuchi, T.M. Wanatabe, N. Ohuchi, In vivo real-time tracking of single quantum dots conjugated with monoclonal anti-HER2 antibody in tumors of mice, *Cancer Research*, **2007**, *67* (3), 1138-1144.
- [59]: W. Cai, D.W. Shin, K. Chen, O. Gheysens, Q. Cao, S.X. Wang, S.S. Gambhir, X. Chen, Peptide-labeled near-infrared quantum dots for imaging tumor vasculature in living subjects. *Nano Lett.*, **2006**, *6* (4), 669-676.
- [60]: O.C. Farokhzad, J. Cheng, B.A. Teply, I. Sherifi, S. Jon, P.W. Kantoff, J.P. Richie, R. Langer, Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy *in vivo*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **2006**, *103* (16), 6315-6320.
- [61]: K.M. McNeeley, A. Annapragada, R.V. Bellamkonda, Decreased circulation time offsets increased efficacy of PEGylated nanocarriers targeting folate receptors of glioma. *Nanotechnology*, **2007**, *18* (38), 1-11.
- [62]: W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range, *J. Colloid Interface Sci.*, **1968**, *26*, 62–69.
- [63]: D. Green, J. Lin, Y.-F. Lam, M.Z.-C. Hu, D.W. Schaefer, M. Harris, Size, volume fraction, and nucleation of Stober silica nanoparticles, *J. Colloid Interface Sci.*, **2003**, *266* (2), 346–358.
- [64]: C.G. Tan, B.D. Bowen, N. Epstein, Production of monodisperse colloidal silica spheres: Effect of temperature, *J. Colloid Interface Sci.*, **1987**, *118* (1), 290–293.
- [65]: I.A. Rahman, P. Vejayakumaran, C.S. Sipaut, J. Ismail, C.K. Chee, Effect of the drying techniques on the morphology of silica nanoparticles synthesized via sol–gel process, *Ceram. Int.*, **2008**, *34* (8), 2059–2066.
- [66]: K.S. Rao, K. El-Hami, T. Kodaki, K. Matsushige, K. Makino, A novel method for synthesis of silica nanoparticles., *J. Colloid Interface Sci.*, **2005**, *289* (1), 125–131.
- [67]: H. Yamauchi, T. Ishikawa, S. Kondo, Surface characterization of ultramicro spherical particles of silica prepared by w/o microemulsion method, *Colloids and Surf.*, **1989**, *37*, 71–80.

- [68]: F.J. Arriagada, K. Osseo-Asare, Phase and dispersion stability effects in the synthesis of silica nanoparticles in a non-ionic reverse microemulsion, *Colloids and Surf.*, **1992**, *69*, 105–115.
- [69]: M. Darbandi, R. Thomann and T. Nann, Single Quantum Dots in Silica Spheres by Microemulsion Synthesis, *Chem. Mater.*, **2005**, *17* (23), 5720–5725.
- [70]: S. Santra, R. Tapeç, N. Theodoropoulou, J. Dobson, A. Hebard W. Tan, Synthesis and Characterization of Silica-Coated Iron Oxide Nanoparticles in Microemulsion: The Effect of Nonionic Surfactants, *Langmuir*, **2001**, *17* (10), 2900–2906.
- [71]: F. Arriagada and K. Osseo-Asare, Synthesis of Nanosize Silica in a Nonionic Water-in-oil Microemulsion: Effects of the Water/Surfactant Molar Ratio and Ammonia Concentration, *J. Colloid Interface Sci.*, **1999**, *211* (2), 210–220.
- [72]: R. Bagwe, C. Yang, L. Hilliard and W. Tan, Optimization of Dye-Doped Silica Nanoparticles prepared using a Reverse Microemulsion Method, *Langmuir*, **2004**, *20* (19), 8336–8342.
- [73]: A. Ibanez, N. Marcellin, E. Djurano, C. Philippot, Nanocristaux fluorescents enrobés d'une coquille inorganique, **2009**, WO/2009/125086.
- [74]: C. Philippot, F. Dubois, M. Bacia, E. Djurado, A. Ibanez, Fluorescent organic nanocrystal confined in sol–gel matrix for bio-imaging, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **2011**, *57* (3), 253–257.
- [75]: N. Sanz, A. C. Gaillot, Y. Usson, P. L. Baldeck, and A. Ibanez, Organic nanocrystals grown in sol-gel coatings. *J. Mater. Chem.*, **2000**, *10* (12), 2723-2726.
- [76]: Sanz, N., Ibanez, A., Morel, Y., and Baldeck, P. L., Organic nanocrystals grown in gel glasses for optical-power-limiting applications. *Appl. Phys. Lett.*, **2001**, *78*, 2569-2571.
- [77]: N. Sanz, P.L. Baldeck, A. Ibanez, Organic nanocrystals embedded in sol–gel glasses for optical applications, *Synth. Met.*, **2000**, *115* (1-3), 229–234.
- [78]: N. Sanz, Elaboration, Caractérisation Structurale et Etude des propriétés Optiques Linéaires et Non Linéaires de Nanocristaux Organiques en Matrice Sol-Gel, Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble 1 (**2000**).

- [79]: V. Monnier, Elaboration et caractérisation structurale de nanocristaux moléculaires fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel: Application à la réalisation de capteurs chimiques et biologiques, Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I (2006).
- [80]: E. Dubuisson, Nanocristaux organiques fluorescents insérés en couche mince sol-gel : Vers le développement d'un nouveau type de biopuces, Institut Polytechnique de Grenoble (2009).
- [81]: E. Botzung-Appert, V. Monnier, T. H. Duong, R. Pansu, and A. Ibanez, Polyaromatic luminescent nanocrystals for chemical and biological sensors. *Chem. Mater.*, **2004**, *16* (9), 1609-1611.
- [82]: V. Monnier, N. Sanz, E. Botzung-Appert, M. Bacia, and A. Ibanez, Confined nucleation and growth of organic nanocrystals in sol-gel matrices. *J. Mater. Chem.*, **2006**, *16*, 1401-1409.
- [83]: C. Philippot, Elaboration et caractérisations de nanocristaux organiques fluorescents insérés en coquille sol-gel: vers le développement d'un nouveau type d'agent imageant, Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I (2010).
- [84]: TSI, Model 3076- Constant Output Atomizer.
- [85]: TSI, Model 3074A- Filtered Air Supply.
- [86]: S. Areva, C. Boissiere, D. Grosso, T. Asakawa, C. Sanchez, M. Linden, One-pot aerosol synthesis of ordered hierarchical mesoporous core-shell silica nanoparticles, *Chem. Commun.*, **2004**, *14*, 1630-1631.
- [87]: N. Baccile, D. Grosso, C. Sanchez, Aerosol generated mesoporous silica particles, *J. Mater. Chem.*, **2003**, *13* (12), 3011-3016.
- [88]: H. Eerikainen, E.I. Kauppinen, Preparation of polymeric nanoparticles containing corticosteroid by a novel aerosol flow reactor method, *Pharmaceut. Res.*, **2004**, *21*, 136-143.
- [89]: H. Eerikainen, W. Watanabe, E.I. Kauppinen, P.P. Ahonen, Aerosol flow reactor method for synthesis of drug nanoparticles, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2003**, *55* (3), 357-360.

Chapitre 2 :
Ingénierie moléculaire pour
la fluorescence à l'état solide

Chapitre 2 :

Ingénierie moléculaire pour la fluorescence à l'état solide

1. Introduction

Dans le premier chapitre, nous avons présenté le procédé de séchage par spray, qui sera utilisé pour la synthèse des nanoparticules cœur-coquilles, ainsi que les critères physico-chimiques (solubilité, point de fusion) imposés pour la molécule fluorescente constituant le cœur organique. Ce deuxième chapitre sera consacré à la synthèse des fluorophores et aux études de leurs propriétés spectroscopiques et physico-chimiques en étudiant deux séries de composés dipolaires, le but étant non seulement d'obtenir des fluorophores répondant aux cahiers des charges établis pour le procédé de séchage par spray, mais aussi d'essayer d'établir certaines règles d'ingénierie afin de concevoir des chromophores émettant intensément dans le rouge voire le proche infrarouge à l'état solide. Le procédé de séchage par spray utilisé nécessitant une quantité importante de produits (typiquement 20 mg pour un volume de 60 mL), nous essaierons lorsque c'est possible de concevoir des fluorophores les plus simples possible en termes de structure et de synthèse de façon à limiter le nombre d'étapes de synthèse. Après à ces études, les meilleures molécules répondant aux différents critères seront retenues pour la suite du projet. Un aspect qui ne sera pas abordé est l'optimisation des propriétés d'absorption à deux photons à l'état solide.

1.1. Etat de l'art sur les molécules fluorescentes à l'état solide

De nombreuses familles de molécules, qui fluorescent en solution diluées (Fluorescéine $\Phi = 0,97$ dans l'eau à pH = 12 ; Bodipy $\Phi = 0.81$ dans l'éthanol par exemple), ont été développées. Les règles d'ingénierie pour décaler les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission vers le rouge/proche infrarouge (extension de la conjugaison notamment à l'aide de polycycles entièrement conjugués, introduction de groupement fortement électro-donneurs ou électro-attracteurs...) sont connues, et ont permis d'obtenir des fluorophores efficaces avec des longueurs d'onde d'émission élevées (**Figure 1**).[1-2]

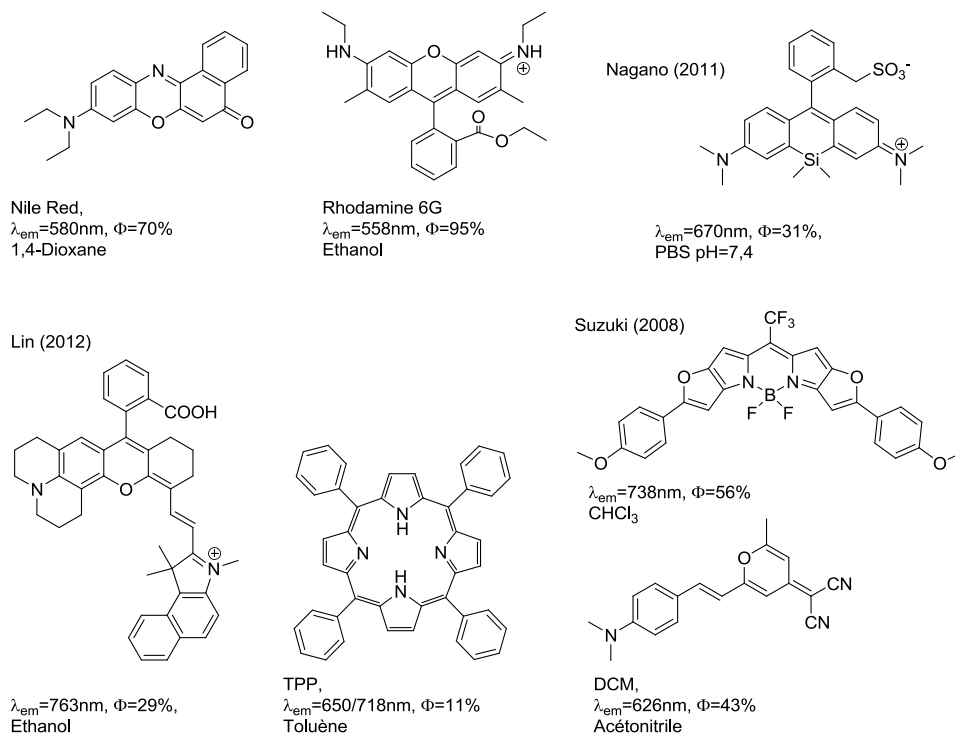


Figure 1 : Exemples choisis de fluorophores émettant dans le rouge/proche infrarouge.[2d, 2e, 2f]

En revanche, comme le montrent les exemples de la **Figure 2**, la plupart des fluorophores ayant des rendements quantiques élevés en solution diluée perdent cette fluorescence lorsqu'on augmente la concentration et à l'état solide. Une des principales causes est la formation d'agrégats dans lesquels de fortes interactions entre les molécules (interaction dipolaire, π -stacking...) favorisent les désexcitations non-radiatives au contraire d'un milieu dilué où le principal processus de désexcitation est radiatif. On rencontre parfois le terme *ACQ* (pour *aggregation caused quenching*) pour décrire ce phénomène. Ceci se retrouve à l'état solide, où l'arrangement des molécules est compact et les interactions intermoléculaires très fortes.[3]

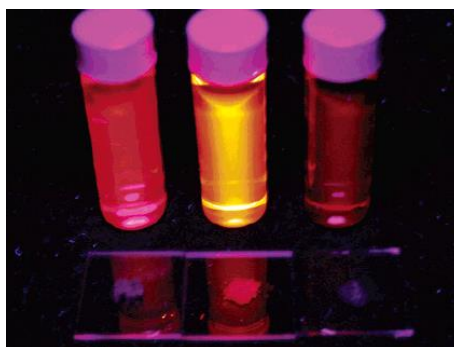
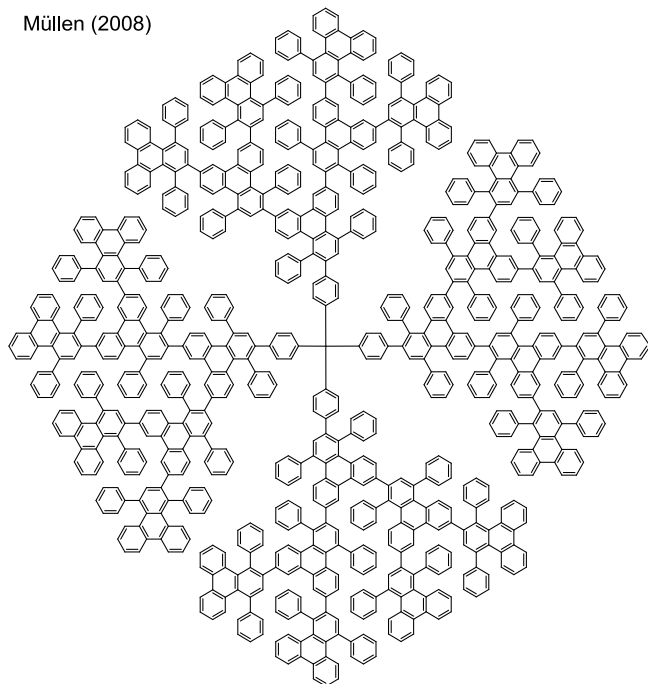
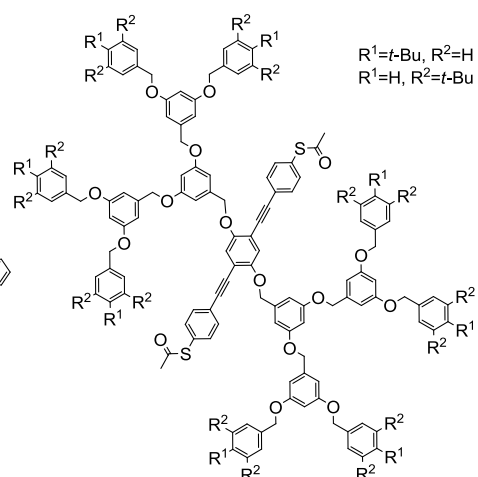


Figure 2 : Fluorescence du **Nile Red** (gauche), du **DCM** (milieu) et de la **TPP** (droite) en solution diluée et à l'état solide. La fluorescence des échantillons solides du **Nile Red** et de **TPP** est quasiment imperceptible (tirée de la référence [4]).

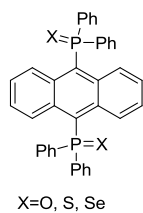
Müllen (2008)



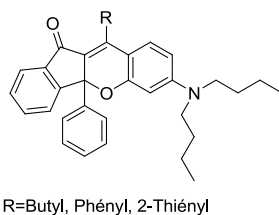
Cao et Zhang (2007)



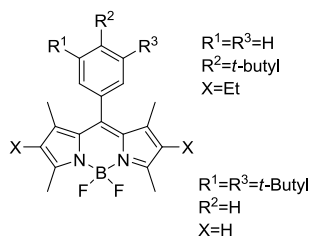
Stalke (2003)



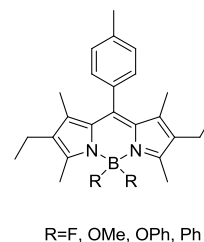
Yoshida (2006)



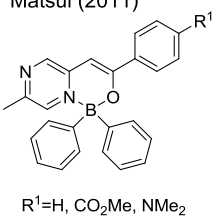
Akkaya (2009)



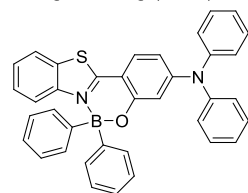
Matsui (2010)



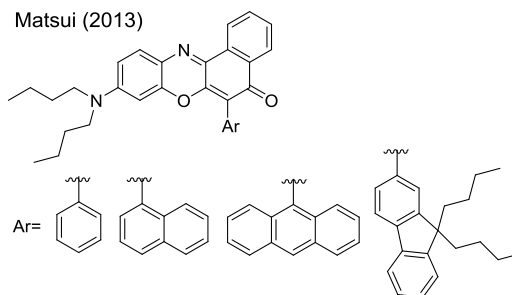
Matsui (2011)



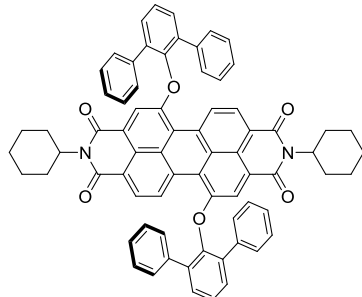
Zhang et Wang (2012)



Matsui (2013)



Würthner (2012)



Li et Shen (2012)

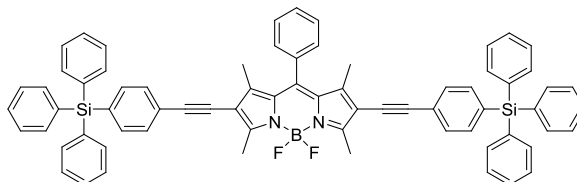


Figure 3 : Fluorophores émettant à l'état solide incorporant des groupes encombrants permettant de restaurer la fluorescence.[5-9]

La façon la plus évidente de restaurer la fluorescence à l'état solide est de limiter l'empilement π des fluorophores en les éloignant les uns des autres, soit en isolant le fluorophore dans une structure de type dendrimère,[5] soit en introduisant des groupes encombrant à la périphérie. Cette stratégie a été employée avec succès sur des composés fluorescents en solution et dont la fluorescence est conservée à l'état solide, comme des complexes de bore,[6] des dérivés de l'anthracène,[7] du pérylène [8] ou du Nile Red [9] (**Figure 3**).

Au contraire, certains composés particuliers, non fluorescents en solution diluée, voient leur fluorescence augmenter lorsqu'ils sont sous forme agrégés en solide. Ce phénomène décrit pour la première fois sur le 1-méthyl-1,2,3,4,5-pentaphénylsilole (**Figure 4**) par Tang *et al.* [10] a été nommé *AIE* (pour *Aggregation-Induced Emission*). Il a été observé sur de nombreuses familles de fluorophores aussi diverses que les siloles,[11] les dérivés du tétraphényléthylène,[12] des dérivés de l'anthracène [13] ou de la triphénylamine,[14] ainsi que de nombreuses molécules dipolaires.[15] On rencontre parfois le terme *AIEE* (pour *Aggregation-Induced Emission Enhancement*) dans le cas où un composé, fluorescent en solution, voit sa fluorescence augmenter à l'état agrégé. Il est à noter que le nombre de travaux portant sur les fluorophores organiques émettant à l'état solide et en particulier sur les molécules ayant des propriétés d'*AIE* a très fortement augmenté ces trois dernières années.

Plusieurs études menées, en particulier par les groupes de Tang sur les siloles, ont essayé de rationaliser ce phénomène complexe.[16] Dans le cas de composés contenant des groupements aromatiques flexibles, comme les siloles ou le tétraphényléthylène, les mouvements de rotations partielles des groupements phényles sont autant de chemins de désexcitation non-radiatives qui expliquent pourquoi ces molécules ne fluorescent pas en solution. Sous forme d'agrégats en solide, ces mouvements sont bloqués (restreints) limitant les processus de désexcitation non-radiatifs et expliquant la fluorescence intense observée. Ce phénomène de restriction de rotation intramoléculaire ou *RIR* (pour *restricted intramolecular rotation*) semble bien être l'un des principaux facteurs responsables de l'effet *AIE*. Il est ainsi possible de transformer certains fluorophores pour qu'ils ne soient plus soumis au phénomène d'extinction de fluorescence par agrégation. On se sert pour cela de molécule dite « *AIE-active* », comme le tétraphényléthène, en greffant ce motif sur le fluorophore cible pour créer un comportement favorable à l'*AIE*. De plus, comme il est conjugué électroniquement au fluorophore, sa fluorescence intrinsèque disparaît.

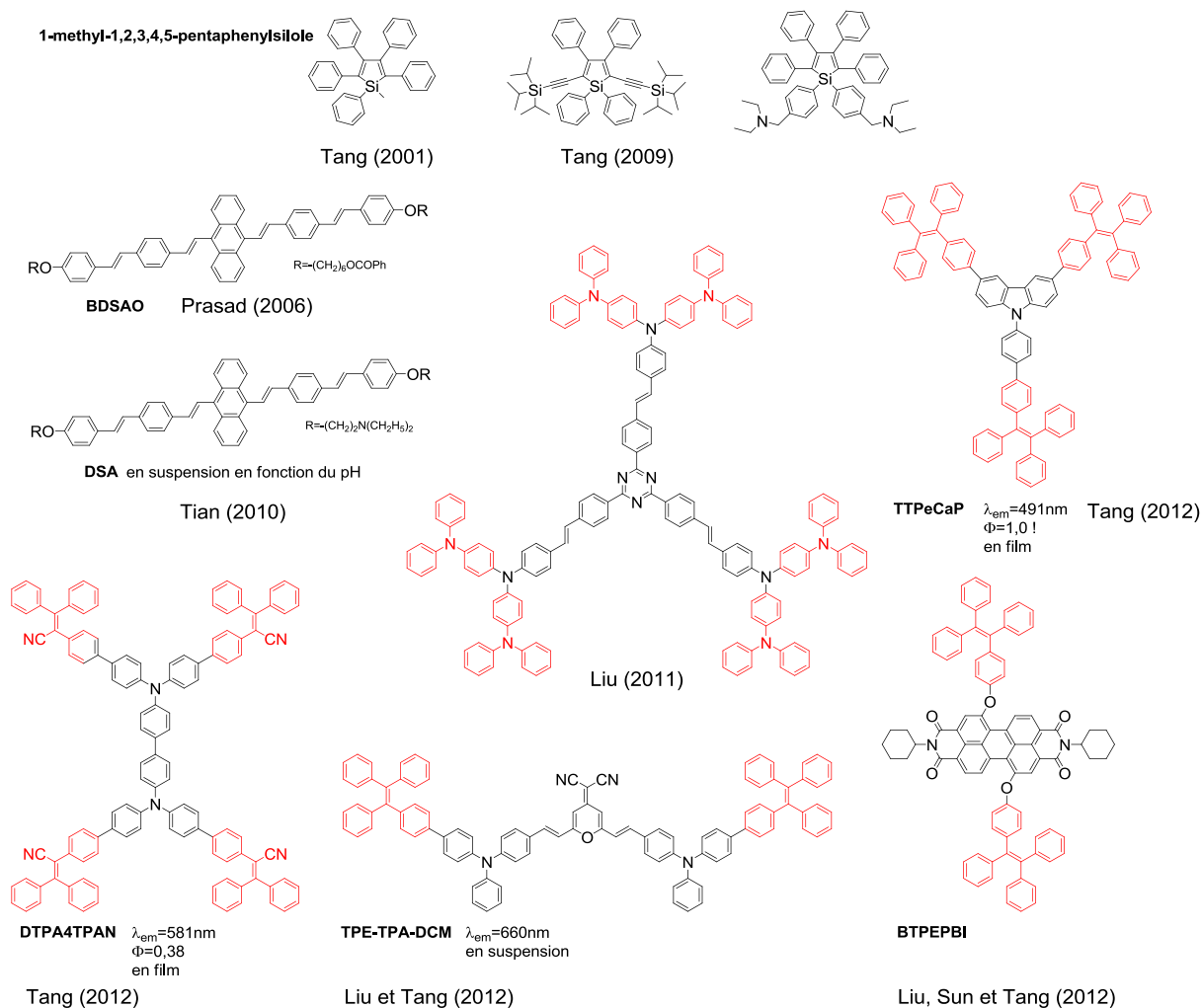


Figure 4 : Exemples de molécules présentant des propriétés d'AIE incluant des exemples de molécules sur lesquelles est greffé un motif dit « AIE-actif » (en rouge) apportant la propriété de fluorescence en solide.[10-14]

Dans le cas du 1-cyano-*trans*-1,2-bis-(4'-méthylbiphényl)-éthylène (**CN-MBE**, **Figure 5**), Park *et al.* [17] suggèrent plutôt que l'augmentation de fluorescence observée en nanoparticules serait due à un aplanissement de la molécule à l'état solide accompagné de la formation d'agrégats de structure particulière. Le **CN-MBE** est composé de deux groupes biphényles relié à une unité cyano-stilbène. En solution, la molécule isolée n'est pas plane due à la gêne stérique entre les unités biphényles et le groupement nitrile. Les structures cristallines en revanche montrent une conformation plane de la molécule (probablement dû aux interactions intermoléculaires entre les composés). L'aplanissement de la molécule augmente également la conjugaison effective. Ces auteurs insistent donc sur le rôle fondamental joué par les groupements nitriles à la fois rigides, encombrants et très polaires, qui semblent limiter les interactions intermoléculaires parallèles face-à-face à l'état agrégé en obligeant les molécules à glisser les unes par rapport aux autres. Ce glissement donne des agrégats de structures très particulières, nommés *agrégats J* en référence aux termes employés

pour l'agrégation de colorants en solution (*vide infra*). Ainsi de nombreuses molécules construites sur un cœur *trans*-dicyano éthylène ou cyano éthylène présentent-elles des propriétés de fluorescence en solide intéressante (**Figure 5**).[18]

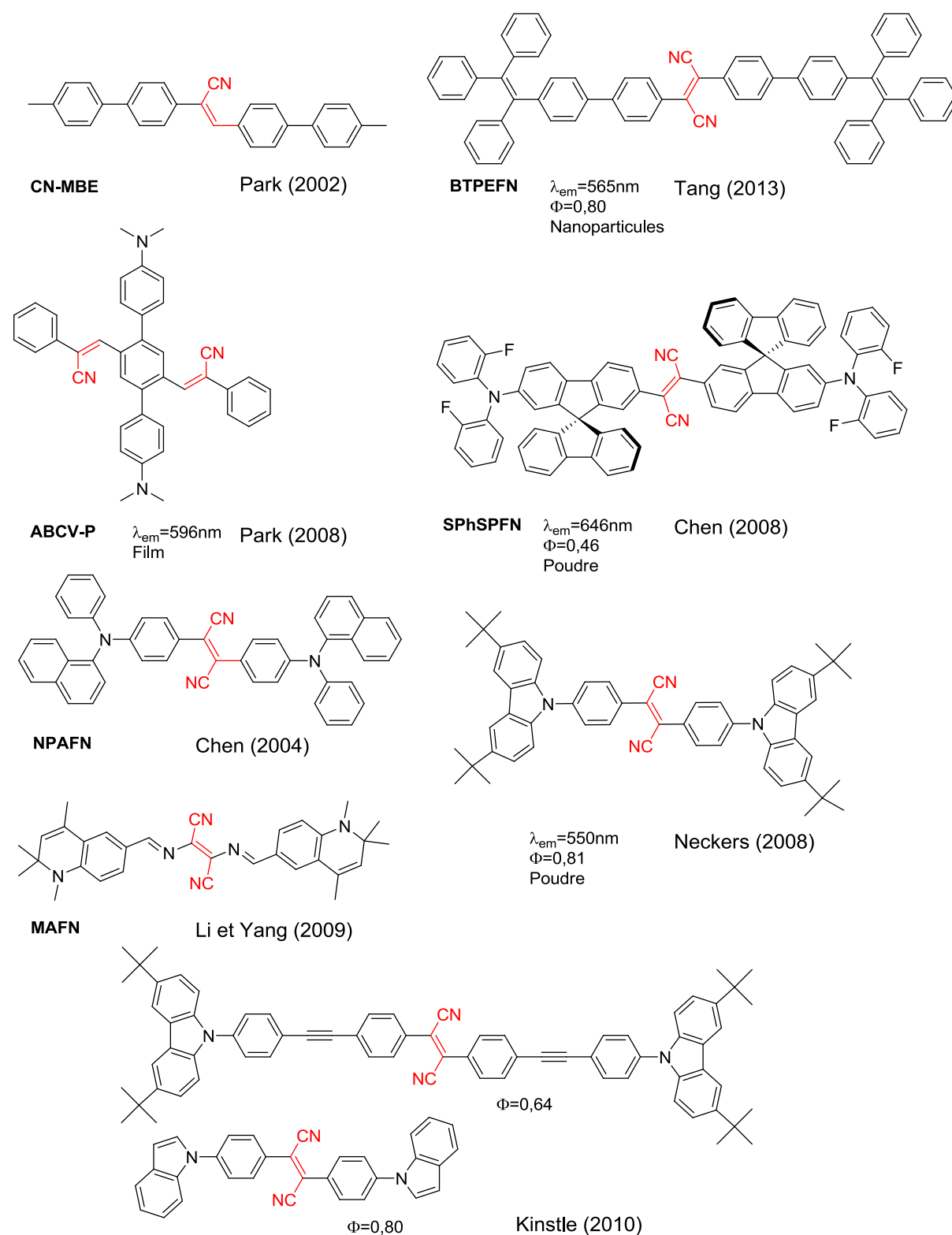


Figure 5 : Fluorophores comportant un motif *trans*-dicyano-stilbene ou cyano-éthylène et émettant à l'état solide.[17-18]

Récemment, un nouveau mécanisme dit “restricted twisted intramolecular charge transfer” a été proposé pour expliquer les propriétés d’AIE de dérivés de Bodipy,[19] et d’oligomères du (α -phénylènevinylène)-1,4-bis(R-cyano-4-diphénylaminostyryl)-2,5-diphénylbenzène.[20] Les propriétés d’AIE observées dans ces cas viendraient d’une élimination de l’état ICT au profit d’un état localement excité (LE) dans l’agrégat du fait de l’aplanissement et de la rigidification de la molécule. Nous ne développerons pas plus ce point ici.

1.2. Fluorophores dipolaires

L’utilisation d’architectures dipolaires dans lesquelles un groupement donneur d’électron est relié à un groupement accepteur d’électron via un pont π -conjugué, est un moyen efficace de déplacer les longueurs d’onde d’émission vers le rouge car la fluorescence de ces molécules se caractérise par un grand déplacement de Stokes par rapport à des analogues quadripolaires portant les mêmes groupes. L’autre caractéristique intéressante de ces molécules est leur moment dipolaire permanent et les fortes interactions dipôle-dipôle résultantes à l’état solide, qui peuvent être utilisées pour favoriser la formation d’agrégats émissifs. De nombreuses molécules dipolaires qui varient par la nature des groupes donneurs, accepteurs et le pont π -conjugué (**Figure 6**) ont ainsi été décrites en particulier pour la préparation de diodes électroluminescentes organiques (OLED),[4, 21] qui présentent des propriétés de fluorescence dans le rouge à l’état solide.[15, 22-26]

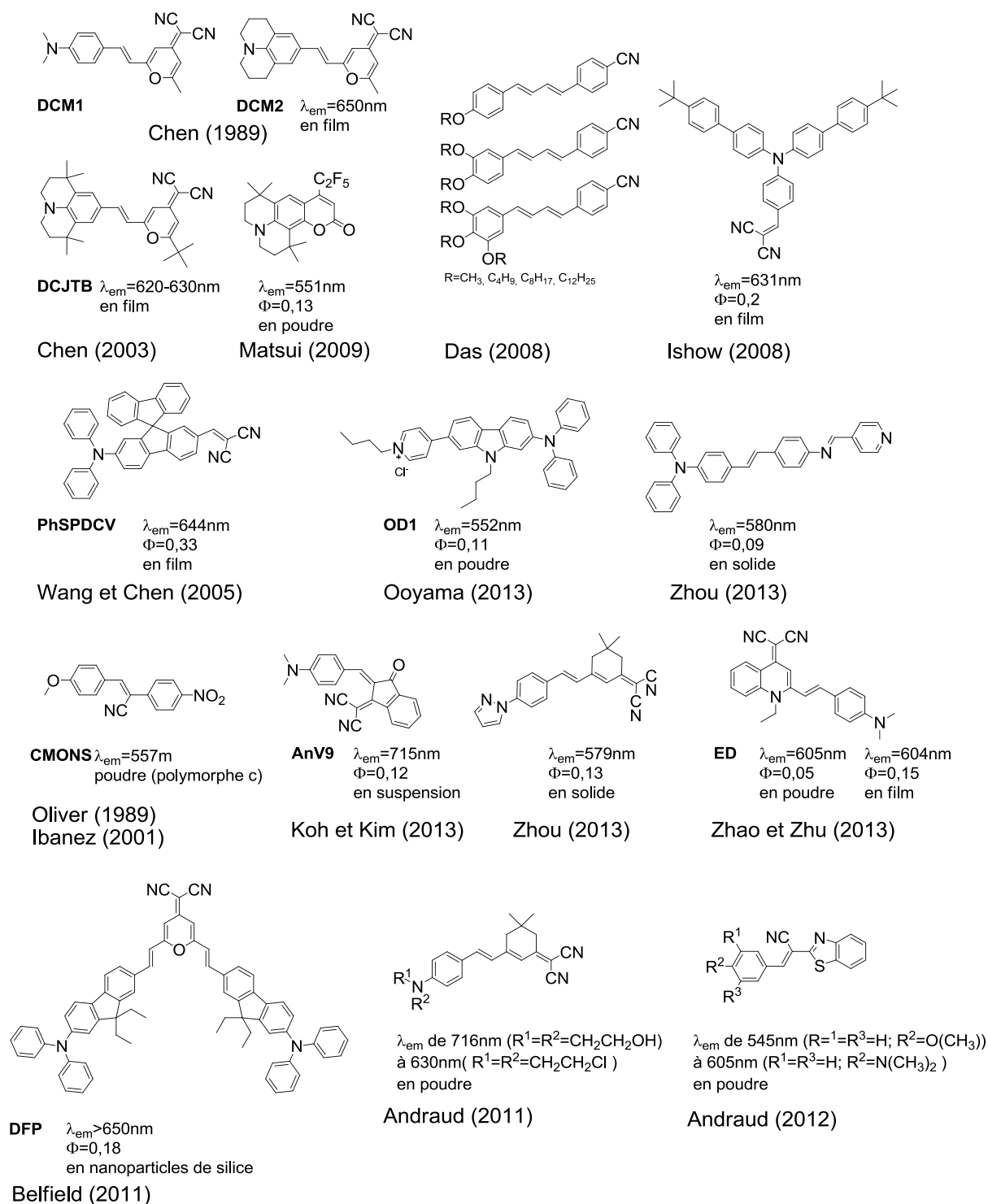


Figure 6 : Fluorophores dipolaires émettant à l'état solide.[21-26]

Les exemples de la **Figure 6** montrent bien qu'il est possible d'atteindre des longueurs d'onde d'émission élevées et de bons rendements quantiques d'émission, avec de petites molécules. La plupart de ces molécules sont peu ou pas fluorescentes en solution à cause de désexcitations non radiative via des mouvements de torsion notamment au niveau du groupement électro-attracteur et présentent des propriétés d'AIE.[15, 22, 23d, 23e, 23f] Les

études menées sur ces fluorophores dipolaires montrent que l'arrangement des molécules au sein du solide est primordial pour une bonne fluorescence et que la fluorescence peut être reliée à la présence d'agrégats *J* spécifiques.[23b, 23c, 23g, 24c, 25a] Ceci est très bien illustré par le cas particulier du 1-cyano-1-(4-nitrophényl)-2-(4-méthoxyphényl)éthène ou **CMONS (Figure 6)** pour lequel trois polymorphes (a, b et c) ont été identifiés et caractérisés, et qui présentent des propriétés de fluorescence différentes. Les polymorphes a et b sont très faiblement fluorescents avec des maxima d'émission à 539 et 596 nm, alors que le polymorphe c présente une fluorescence très intense à 557 nm. La structure cristalline du polymorphe c montre la présence de molécules disposées « en brique », caractéristique d'un agrégat *J* (*vide-infra*). Cet exemple illustre bien la complexité du phénomène et on comprend dès lors que de petites variations de structures peuvent induire de grands changements dans les propriétés de fluorescence en modifiant l'agencement moléculaire en solide. On peut remarquer également que de nombreuses molécules dipolaires fluorescentes en solide portent un ou plusieurs groupements nitrile, ce qui semble confirmer l'hypothèse de Park [17, 18d] (§ 1.1.) que ce groupe à la fois rigide, encombrant et très polaire peut favoriser un agencement favorable des molécules à l'état solide.

Ces molécules dipolaires sont également caractérisées par un fort transfert de charge de la partie donneur vers la partie accepteur de la molécule, qui peut être intéressant pour l'optique non linéaire, l'absorption à deux photons pour ce qui nous intéresse. Très peu d'exemples de fluorescence excitée à deux photons sur des composés organiques sont décrits [13a, 14a, 27] et un seul à notre connaissance sur une molécule dipolaire.[26] C'est le **DFP (Figure 6)** qui a été utilisé par Belfield pour synthétiser des nanoparticules de silice possédant un cœur organique solide fluorescent, qui peut être excité à 840 nm par ADP. Ces nanoparticules ont permis une imagerie 3D avec une résolution exceptionnelle au niveau cellulaire à 350 µm de profondeur dans une tumeur HeLa.

1.3. Agrégats *J* et agrégats *H*

Comme on a pu le voir, les interactions intermoléculaires et l'agencement des molécules au sein d'une structure condensée à l'état solide jouent un rôle fondamental dans les propriétés spectroscopiques. Il est donc important d'identifier ces arrangements moléculaires et de comprendre comment ils influencent la fluorescence. Malheureusement, il est très difficile de prédire la conformation des molécules au sein d'un cristal ou d'un agrégat. Les rares tentatives pour déterminer une relation entre la structure de la molécule et le type

d'agrégat l'ont été sur des structures bien précises comme par exemple le distyryl-benzène [28] ou le dicyano-stilbène.[18d] Il en ressort cependant que les groupements très encombrants tels que les *tert*-butyles, les diphenylamines, réduisent de façon très importante les interactions intermoléculaires, ce qui peut conduire à une fluorescence proche de la solution, généralement décalée vers le bleu. De plus, l'introduction de groupements comparativement de taille plus faible mais très polaires (nitriles, méthoxys) modifie le moment dipolaire total et entraîne souvent un arrangement qui se rapproche des agrégats *J*.

Ces termes d'agrégats *H* et d'agrégats *J* ont été introduits il y a plus de soixante-dix ans par G. Scheibe [29] et E. Jelley [30] pour décrire le comportement du chlorure de Pseudoisocyanine (**PIC**) dans l'eau. Dans ce solvant, au contraire de ce qui est observé dans l'éthanol, une nouvelle bande, très fine et très intense apparaît dans le spectre d'absorption, et décalée vers les plus faibles énergies ($\lambda_{\max}=571\text{nm}$ contre 525nm dans l'éthanol, **Figure 7**). Cette variation s'accompagne d'une intense fluorescence avec un faible déplacement de Stokes ($\lambda_{\text{em}}=575\text{nm}$). Ceci a été attribué à la formation d'agrégats spécifiques en milieu aqueux, nommés agrégats *J* (pour Jelley).

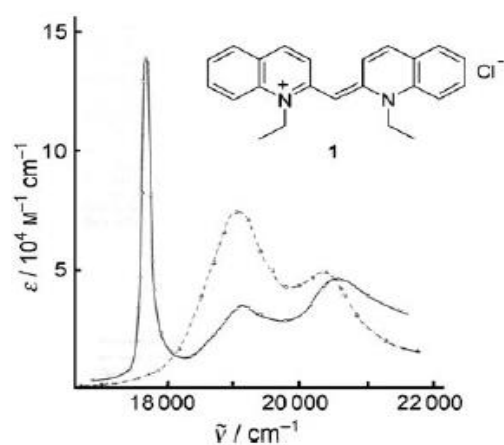


Figure 7 : Structure et spectre d'absorption d'agrégat de chlorure de **PIC** dans l'eau et comparaison avec le spectre d'absorption du monomère dans l'éthanol.[31]

Une absorption étroite, intense et décalée vers le rouge, généralement accompagnée d'une intense fluorescence fine et avec un faible déplacement de Stokes, est une des signatures des agrégats de type *J*. Par opposition, lorsque l'agrégation se traduit par une absorption décalée vers le bleu et une absence de fluorescence, on parle d'agrégats de type *H* (pour hypsochrome). La présence d'interactions, même faibles, entre plusieurs molécules dans l'agrégat fait que l'énergie d'excitation ne peut pas être localisée sur une seule molécule et induit une levée de dégénérescence. Cette réponse collective est appelée un exciton. Par la

suite ces observations ont été rationalisées par le modèle du couplage excitonique de Kasha, qui décrit l'interaction entre différents dipôles de transition présents à l'état excité en fonction de leur disposition géométriques. En considérant au minimum deux molécules (**Figure 8**), l'agrégat H correspond au cas où elles sont côte-à-côte et pour lequel l'angle de glissement Θ entre les deux dipôles de transition vaut $\Theta=90^\circ$. Pour l'absorption $S_0 \rightarrow S_1$, le niveau excité autorisé est le plus haut en énergie donc l'absorption est décalée vers les hautes énergies (hypsochrome). Après désexcitation vibrationnelle, la transition depuis le niveau le plus bas est interdite par symétrie, donc l'agrégat est faiblement émissif. Dans l'autre cas extrême (agrégat J), les dipôles sont en file indienne avec $\Theta=0^\circ$ et les niveaux excités sont intervertis : l'absorption se fait avec une énergie plus faible (bathochrome) et le niveau émissif est autorisé, d'où une fluorescence intense mais présentant de faibles déplacements de Stokes. Ce modèle prédit l'existence d'un angle dit «angle magique» d'une valeur de $54,7^\circ$ qui correspond à l'inversion des niveaux d'énergie. Un agrégat présentant des angles de glissement inférieurs à cette valeur est alors susceptible de présenter des propriétés correspondant aux agrégats J . Notons cependant que ce modèle est une approximation et suppose des distances fixes entre les points dipôle, ce qui n'est pas le cas en solide.

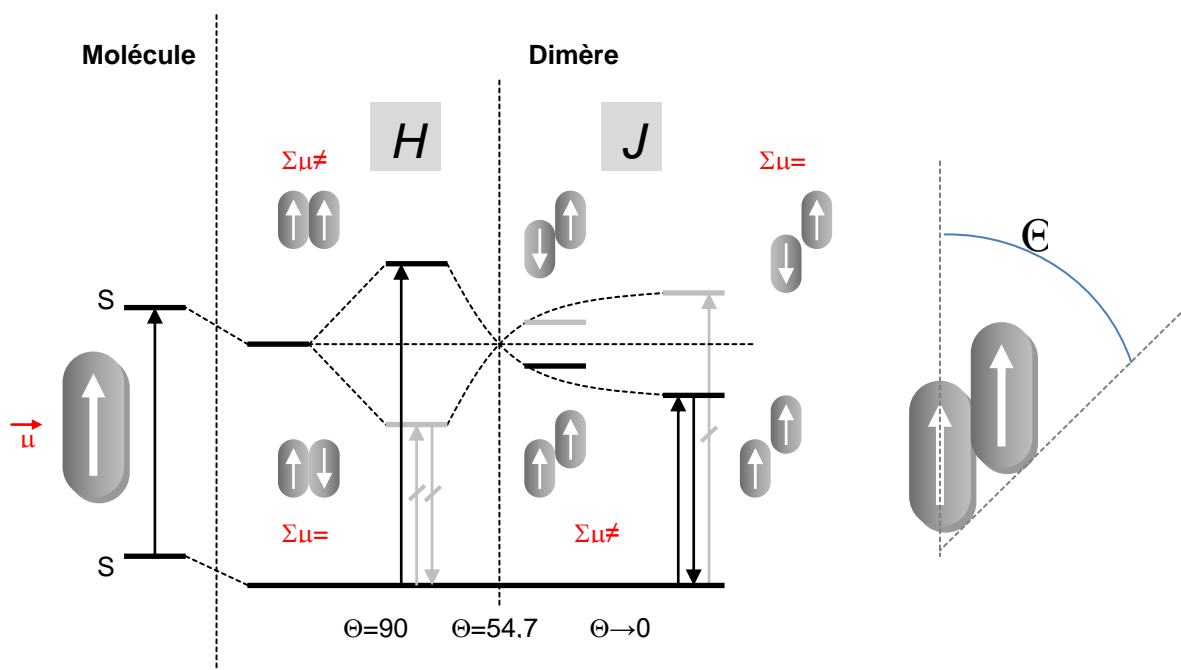


Figure 8 : Illustration du couplage excitonique avec les niveaux énergétiques en solution du dimère selon l'angle de glissement Θ . Les agrégats H et J représentent les deux cas extrêmes.

Ainsi dans une structure complexe solide, ce point d'inversion va dépendre sensiblement de la nature de la molécule, des séparations entre les molécules et dans le cas d'arrangement tridimensionnel des interactions à plus longue distance avec les molécules non

voisines et sera donc différent de cette valeur « magique ».[28] D'autres paramètres géométriques sont également importants comme les distances et les angles de roulement, qui dépendent des structures générales des molécules. Les études exhaustives sont peu nombreuses et sur des familles de composés bien spécifiques comme les dérivés du **DSB**,[28] c'est pourquoi établir des relations structures moléculaires/arrangement est difficile. En revanche, au niveau des mailles cristallines des arrangements caractéristiques peuvent être identifiés. Par exemple, des molécules très proches, tête-bêche ou orientées anti-parallèlement, mais avec un empilement compact sont typiques d'agrégat *H*, alors que dans le cas d'agrégats *J* avec de petits angles de glissement et de grandes distances de glissement décalant les molécules les unes par rapport aux autres vont créer des arrangements dits en mur de brique, en marche d'escalier, voire en chevron (**Figure 9**).[31]

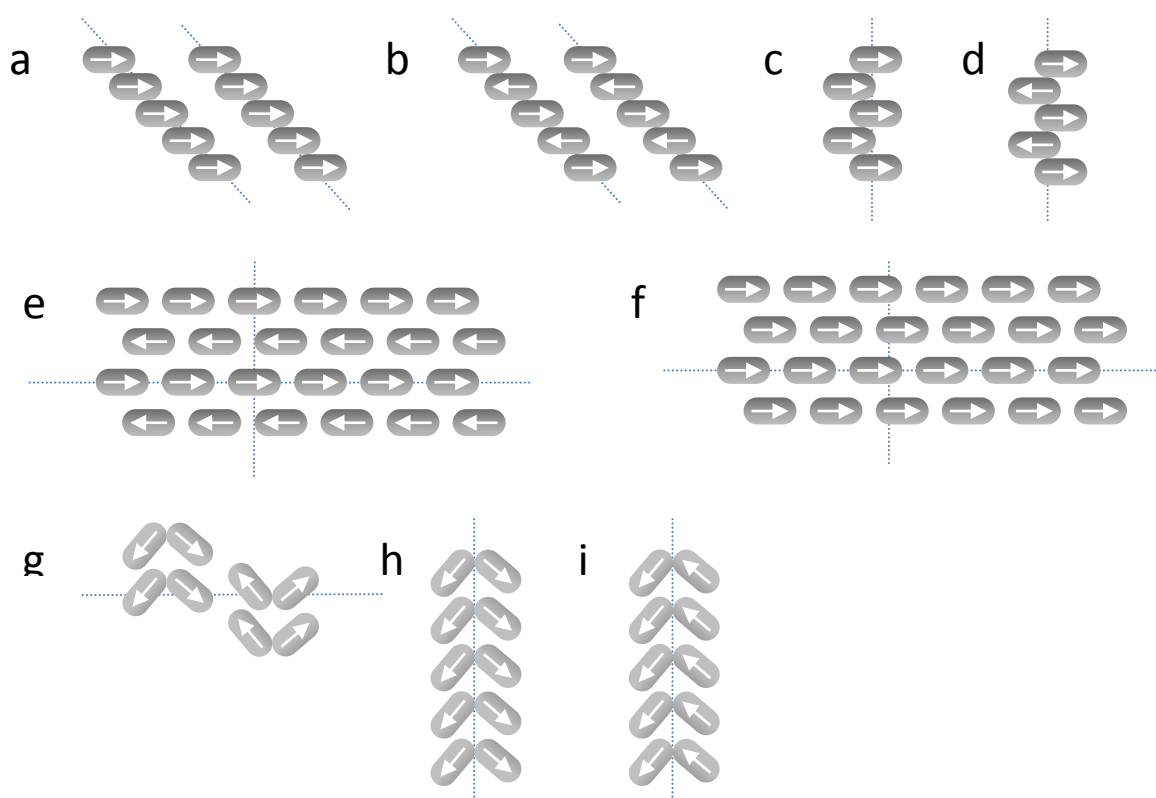


Figure 9 : Exemples d'agrégats de type *J* ; a) et b) en marche d'escalier, c) et d) en échelle, e) et f) en mur de brique, g), h) et i) en chevron.

1.4. Travaux préliminaires

Au Laboratoire de Chimie nous nous sommes intéressés tout particulièrement aux petites molécules dipolaires, en partie pour les raisons énoncées précédemment. Au cours de sa thèse, Julien Massin a synthétisé et étudié une série de molécules dipolaires construites sur le motif électro-accepteur dicyanoisophorone (DCIP) et ne variant que par les substituants portés par l'atome d'azote donneur (**Figure 10**).[25a, 28] Ces composés, bien que bâtis sur le même fluorophore, présentent des propriétés de fluorescence en solide très différentes, certains ne fluoresçant pas, d'autre présentant une émission allant de 715 nm et jusqu'à 790 nm selon les groupements de l'azote. En étudiant les structures cristallographiques, nous avons pu relier les propriétés de fluorescence à la présence d'agrégats *J* (émisifs) ou *H* (non émissifs) dans la structure cristalline, confirmant les études précédentes. Malheureusement pour l'application, la solubilité de ces composés dans les solvants utilisés pour le procédé de séchage par spray est très faible, et le point de fusion des composés les plus émissifs trop bas.

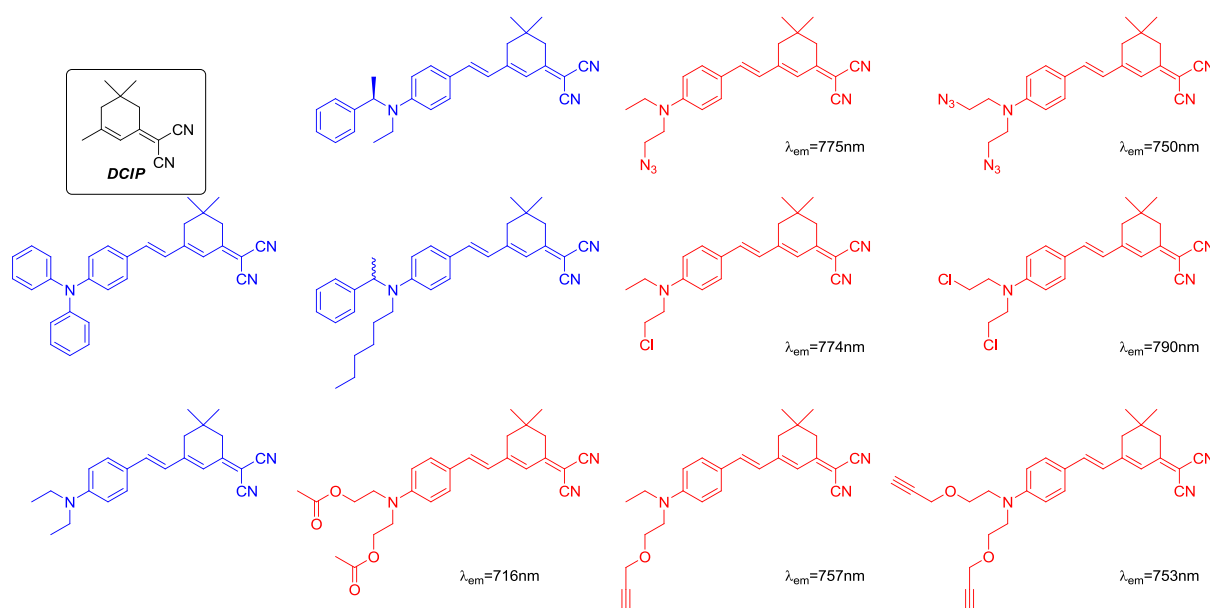


Figure 10 : Variation de structure de composés dipolaires comportant le motif dicyanoisophorone (DCIP) montrant en rouge les composés émissifs et en bleu les composés non émissifs.[25a, 32]

Une deuxième série de composés a été étudiée afin d'essayer de pallier ces problèmes. Les composés de la **Figure 11**, qui sont construits sur une structure dipolaire commune, mais en utilisant le groupement électro-attracteur 2-(3-cyano-4,5,5-triméthylfuran-2(5*H*)-ylidène)malononitrile (TCF) au lieu du DCIP, ont été étudiés. En particulier, la nature et la

longueur des chaînes portées par l'atome d'azote donneur ont été variées et allongées de façon à augmenter la solubilité. Si la solubilité augmente logiquement lorsque l'on passe du composé **Me2-TCF** (portant deux groupes méthyles) aux composés comportant des chaînes alkyles plus longues (un groupe butyle ou hexyle), ceci se traduit par une forte diminution du point de fusion. A noter également que l'introduction d'hétéroatome, si elle peut augmenter la fluorescence, se traduit également par une variation de la solubilité et du point fusion, difficile à prévoir. Ces exemples illustrent la difficulté à remplir les différents critères (émission intense, point de fusion élevé et solubilité forte) que nous nous sommes fixés. Les premiers essais de synthèse de nanoparticules n'ont malheureusement pas été très concluants, probablement à cause de la fluorescence modeste de ces composés.[32]

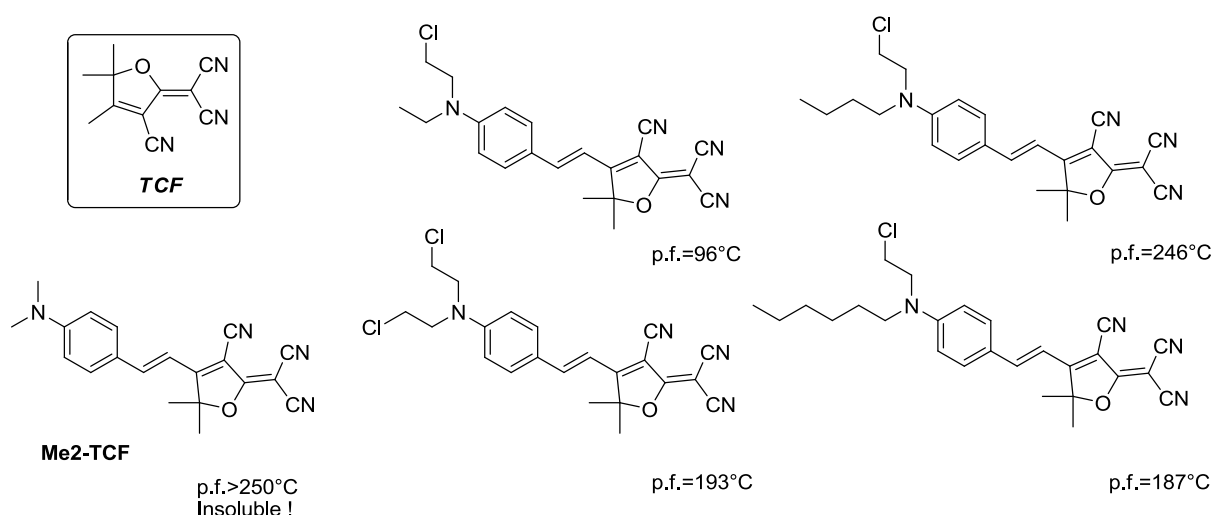


Figure 11 : Composés dipolaires construits sur le motif **TCF**. La variation des longueurs de chaîne permet d'augmenter la solubilité, mais change considérablement le point de fusion.[32]

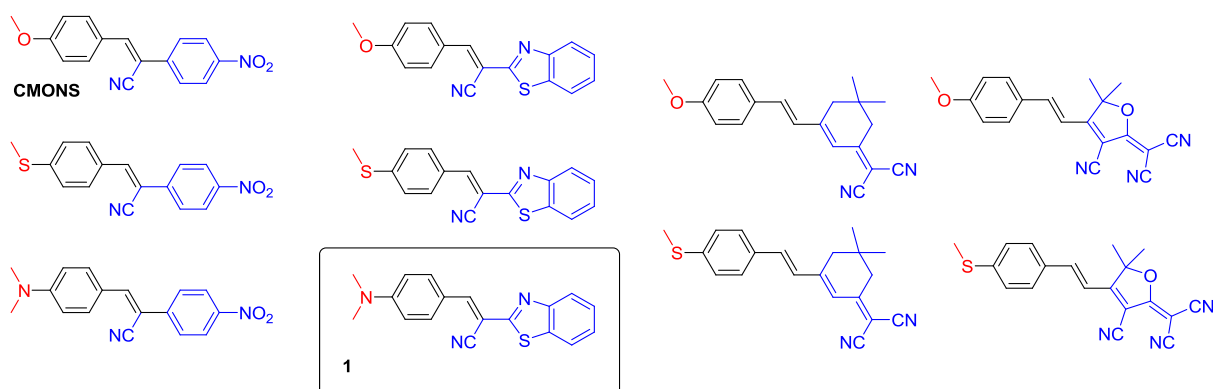


Figure 12 : Variation des groupes électro-donneur (rouge) et électro-accepteur (bleu) sur des composés dipolaires donnant accès à des fluorophores émettant à l'état solide.[25b, 32]

Parallèlement à ces travaux, Julien Massin a commencé à développer une ingénierie moléculaire autour de petites structures dipolaires afin d'identifier des groupes remarquables pour la fluorescence en solide. Ainsi en partant des structures intéressantes des composés précédents (basés sur les groupes DCIP et TCF), ainsi que sur la structure du **CMONS**, de nombreuses molécules fluorescentes en solide ont été obtenues par variation du groupement électro-donneur ou modification du groupement électro-accepteur (**Figure 12**).[32] Les études des structures cristallographiques menées ont toutes confirmé la présence d'agrégats *J* pour les composés émissifs. Au vu de ces études, les composés portant un groupement benzothiazole semblent particulièrement intéressants.[25b] La molécule **1** portant deux groupes méthyles a une température de fusion de 229°C et une émission à l'état solide dans l'orange-rouge avec un maximum à 605 nm (**Figure 13**). Cependant ce composé présente une faible solubilité (indispensable pour l'élaboration de nanoparticules cœur-coquilles par *spray drying*).

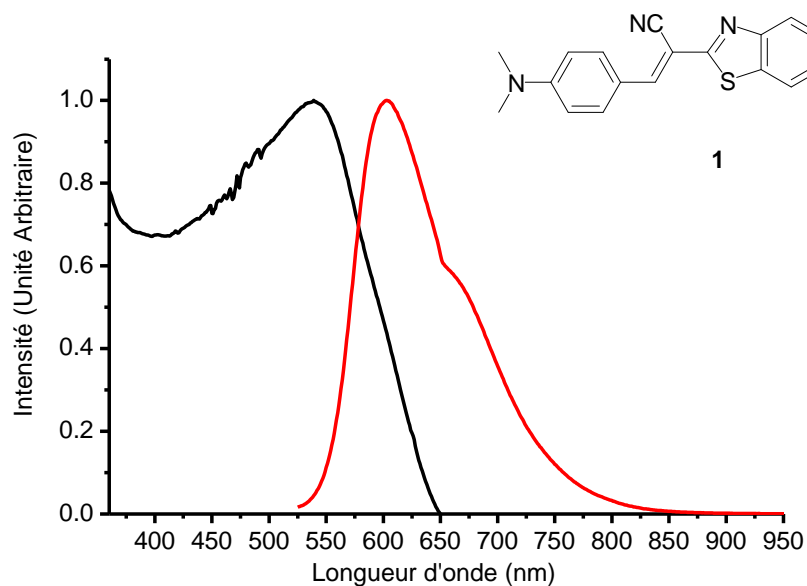


Figure 13 : Spectre d'excitation et d'émission à l'état solide du composé **1**. [25b, 32]

2. Etude d'une première série de composés

2.1. Présentation

Dans un premier temps, nous allons poursuivre l'ingénierie précédente en partant du composé **1** et modulant les groupements donneurs, afin d'améliorer la solubilité des composés tout en essayant de conserver des points de fusion élevés et surtout une émission intense. Des variations du groupement accepteur seront également testées. Il est difficile d'obtenir des molécules présentant tous les paramètres nécessaires pour l'élaboration de nanoparticules cœur-coquille. De plus, certains paramètres semblent contradictoires : les molécules présentant des points de fusion élevés sont celles formant le plus d'interactions entre elles et donc celles qui cristallisent le mieux. Cependant, de telles molécules présentent en général une solubilité très faible. Ils existent différents types d'interactions qui influent sur le point de fusion, dont les trois principales sont :

- Les liaisons hydrogènes
- Les interactions dipôle-dipôle (interaction de Keesom)
- Les forces de London (composantes des forces de Van der Waals) : interactions électrostatiques attractives entre deux dipôles induits, forces de dispersion.

L'avantage des molécules dipolaires de type D- π -A est qu'elles sont connues pour avoir des températures de fusion élevées grâce aux forces dipôle-dipôle causées par l'attraction de molécules polaires l'une avec l'autre et augmentant donc la force de liaison (Van der Waals, hydrogène,...) dans un composé. Or, pour qu'un composé atteigne son point de fusion, il est nécessaire de casser ces liaisons. C'est pourquoi, dans le cas d'une molécule dipolaire, il faudra amener plus d'énergie, impliquant une augmentation de la température de fusion.

La synthèse des nanoparticules cœur-coquilles nécessite l'utilisation de nombreux grammes de composé. On a donc choisi des petits dipôles, nécessitant peu d'étapes de synthèse. De plus, dans le cadre de notre étude, une ingénierie moléculaire a été effectuée afin d'essayer d'établir des règles d'ingénierie. C'est pourquoi, une molécule nécessitant trop d'étapes de synthèse n'a donc pas pu être envisagée. Ainsi l'autre grand intérêt de ces composés réside en leur structure relativement simple et leur synthèse rapide permettant d'obtenir des grosses quantités de produits en peu d'étape à partir de produits commerciaux.

La première série de molécules étudiées est représentée sur la **Figure 14**, où les molécules sont rangées par famille de groupements électro-accepteurs. Ainsi en conservant le motif 1,3-benzothiazol-2-ylacétonitrile et l'atome d'azote donneur de la molécule **1**, les deux groupes méthyles ont été remplacés par des phényles (**2**), des cyclohexyles pontants (**3**) ou des chaînes 2-hydroxyéthyle (**5**) ou 2-chloroéthyle (**6**) en adoptant la même démarche que celle vue précédemment avec les dérivés de la DCIP et en vu de modifier le point de fusion et la solubilité. **4** est un analogue à deux branches de la molécule **2**, ce qui modifie la conjugaison et va donc influencer sur les propriétés optiques. De même, la conjugaison est allongée en ajoutant un pont éthylène dans l'espoir de déplacer la longueur d'onde d'émission dans le rouge. Enfin des donneurs oxygénés plus faibles ont également été introduit pour se rapprocher de la structure du **CMONS**.

Dans la même optique, les molécules **12** à **16** ont été conçues pour garder le groupe électro-attracteur du **CMONS** et varier le groupe électro-donneur (**12**, **14**) ou augmenter la solubilité (**15**, **16**) ou vérifier l'influence d'un changement de géométrie sur les propriétés optiques (**13**). Finalement un troisième groupe électro-attracteur ayant en commun avec les deux précédent une fonction nitrile, mais un groupe pyridine a également été choisi (molécules **17-21**). Trois autres molécules ont aussi été étudiées en parallèle (**22-24**) construites sur un groupe TCF (**22**), DCIP (**23**) ou indanedione (**24**). Ce dernier motif a été choisi suite à la parution en 2013 (c'est-à-dire bien après le début de ces travaux) de la référence [23e] où ce groupe indanedione est utilisé et donne de bons résultats, notamment en terme de rendement quantique de fluorescence. L'analogue *N,N*-diméthyle de **24** est décrit comme ayant un rendement quantique de fluorescence de 9 % pour une émission au-delà de 670 nm.

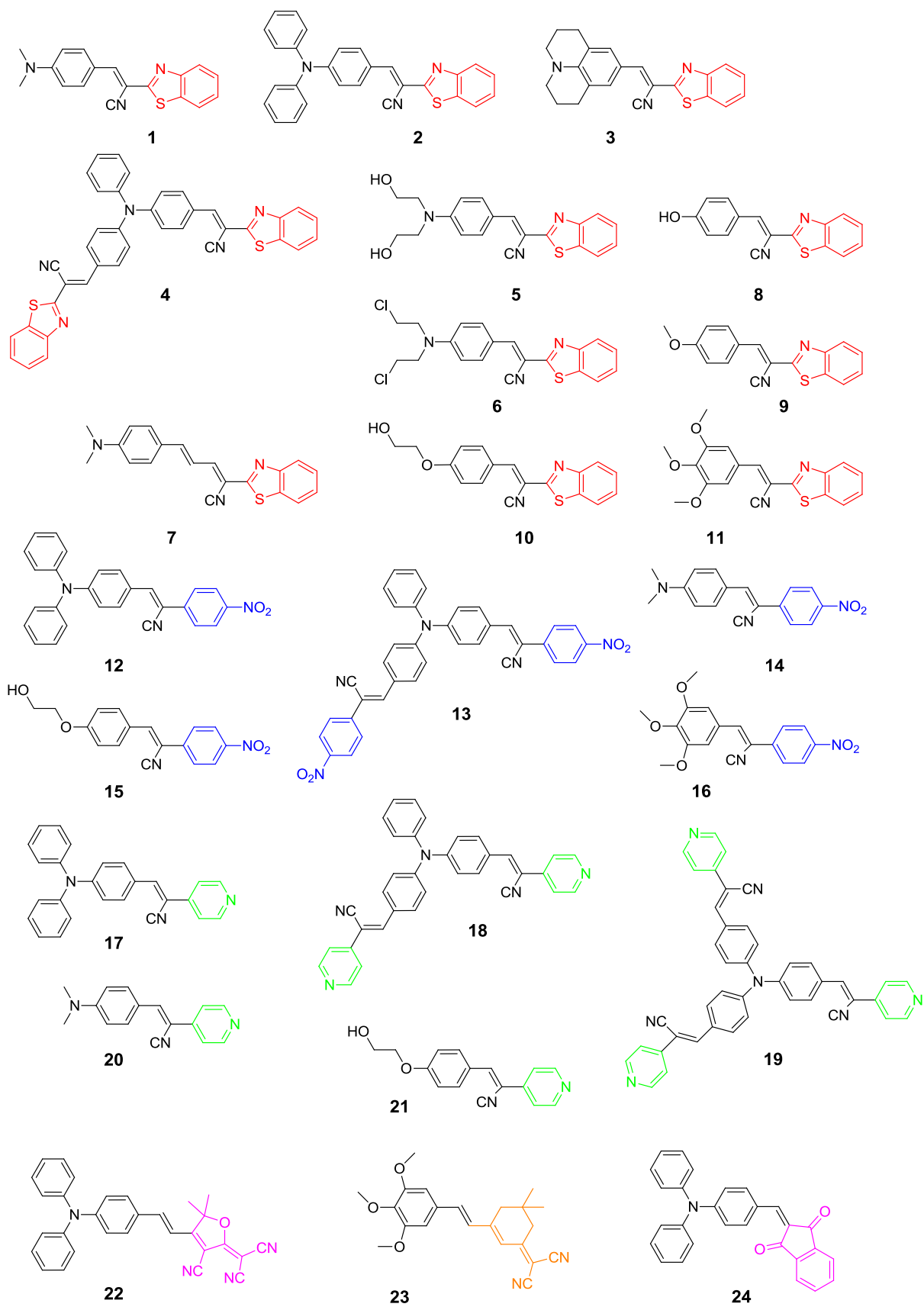


Figure 14 : Première série de chromophores synthétisés. Les molécules sont rangées par famille selon la nature du groupe électro-accepteur.

Le nombre et la diversité des fluorophores synthétisés dans cette première série devraient suffire à l'étude et à la compréhension de leurs propriétés physiques. De plus, seuls les chromophores les plus intéressants pour notre étude seront développés par la suite. Ainsi, pourra-t-on tenter d'établir de premières règles d'ingénierie pour les molécules fluorescentes à l'état solide. On peut noter que nous sommes restés sur des groupes alkyles de faibles longueurs (méthyle, ou éthyle fonctionnalisé en position 2) de façon à ne pas trop baisser le point de fusion.

2.2. Synthèse des molécules

Ce paragraphe tend à expliquer la stratégie qui a été employée pour effectuer la synthèse des molécules de la **Figure 14**.

2.2.1. Rétrosynthèse

La stratégie générale pour la synthèse de ce type de dipôle repose sur la formation d'une liaison C=C. D'après le schéma de rétrosynthèse (**Figure 15**), les molécules push-pull envisagées sont obtenues par condensation de Knoevenagel entre un benzaldéhyde fonctionnalisé et un composé électro-attracteur possédant un méthylène activé, que ce soit un composé porteur d'un nitrile en position vinylique (**1-21**), l'indanedione (**24**) ou le TCF ou le DCIP. La réaction de Knoevenagel se fait dans un solvant polaire (acétonitrile ou éthanol) en présence d'une quantité catalytique de pipéridine. Cette réaction présente en général de bons rendements de synthèse et nous avons constaté que seule la liaison oléfinique de configuration *E* était formée. Cette réaction est donc stéréo sélective.

Il s'agit alors de synthétiser les différents synthons correspondants. Les groupements attracteurs sont pour la plupart commerciaux, donc seules les synthèses du **TCF** et de la **DCIP** seront décrites. De même, seules les synthèses des benzaldéhydes fonctionnalisés non commercialisés feront l'objet d'une description ci-après.

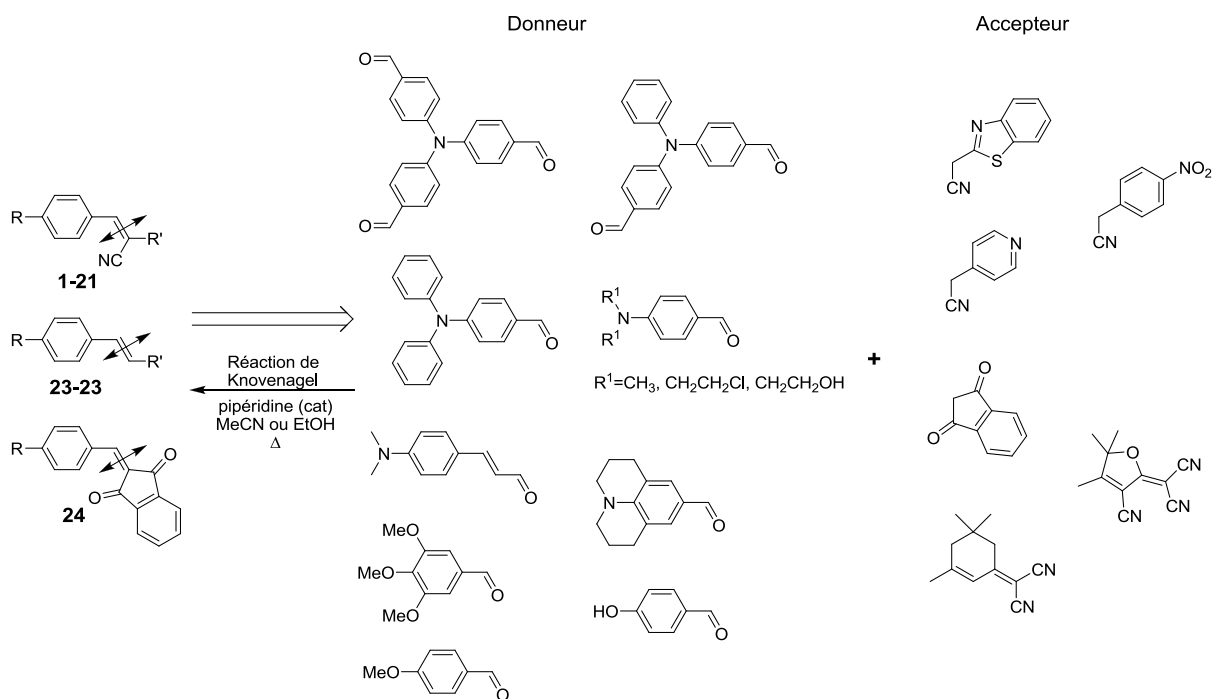


Figure 15 : Schéma rétrosynthétique de la synthèse des chromophores.

2.2.2. Synthèse des différents groupements

Dans un premier temps, les benzaldéhydes fonctionnalisés ont été synthétisés avec d'excellents rendements par réaction de Vilsmeier-Hack à partir des anilines correspondantes comme le montrent la **Figure 16** et la **Figure 17**. Cette réaction est régiosélective et seule la position 4 en para de l'aniline réagit. Lorsque le produit de départ est la triphénylamine, il est possible en contrôlant la stœchiométrie et la température d'obtenir avec de très bons rendements le composé de mono- et de bi- substitution. Seule la troisième substitution est délicate car elle nécessite d'utiliser un très large excès de POCl_3 et ne se fait qu'avec un rendement modeste (38%).

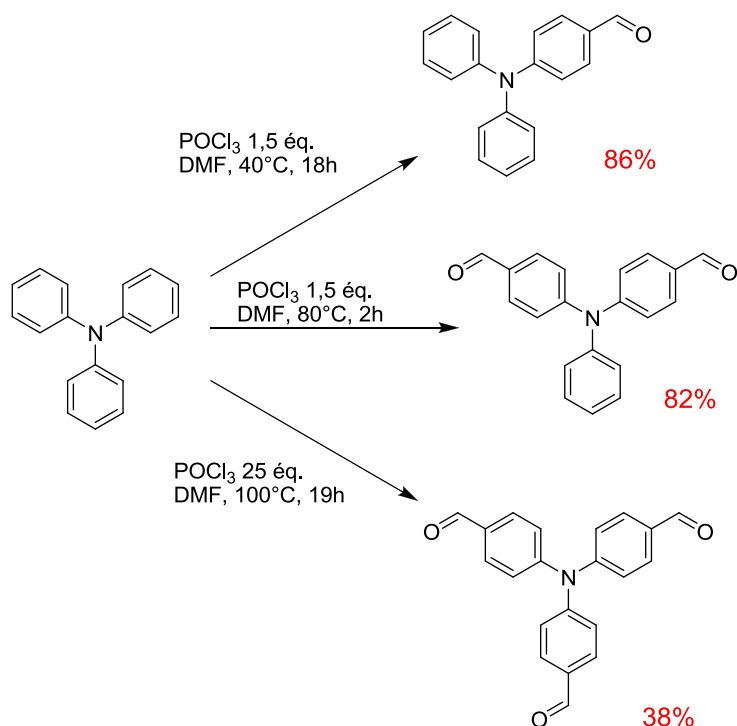


Figure 16 : Réaction de Vilsmeier-Haack à partir de la triphénylamine.

Trois autres synthons sont obtenus à partir de la même réaction de Vilsmeier-Haack. Il s'agit du 4-(bis(2-chloroéthyl)amino)benzaldéhyde, du 2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-benzo[*ij*]quinolizine-9-carboxaldéhyde à partir de la julolidine et du 4-(bis(2-hydroxyéthyl)amino)benzaldéhyde obtenu après saponification des groupements acétates par la soude dans le méthanol (**Figure 17**). Pour ces trois composés, les rendements de réaction sont supérieurs à 90%.

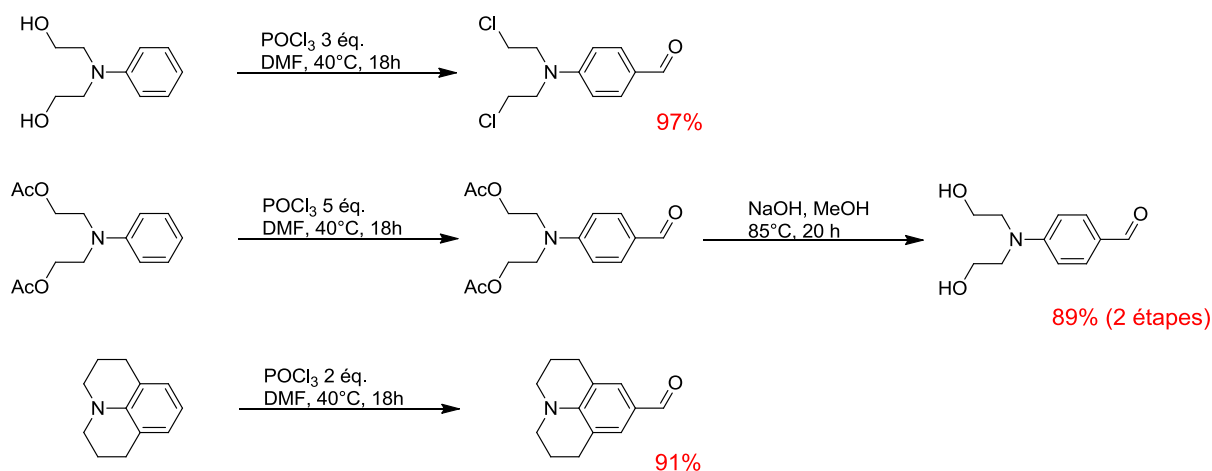


Figure 17 : Synthèse des benzaldéhydes fonctionnalisés par réaction de Vilsmeier-Haack.

Seuls deux synthons porteurs de groupements accepteurs ne sont pas commerciaux ; le **TCF** et la **DCIP**. Ils ont donc été synthétisés, les schémas de synthèse de ces deux composés, sont décrits **Figure 18**. La réaction pour obtenir le **TCF** résulte de la condensation de deux équivalents de malononitrile sur la 3-hydroxy-3-méthyl-2-butanone en présence de lithium. La molécule **DCIP** est obtenue par condensation entre l'isophorone et le malononitrile dans l'éthanol en présence de pipéridine. Les rendements de synthèse pour ces réactions sont corrects, respectivement de l'ordre de 70 % et 90 % respectivement.

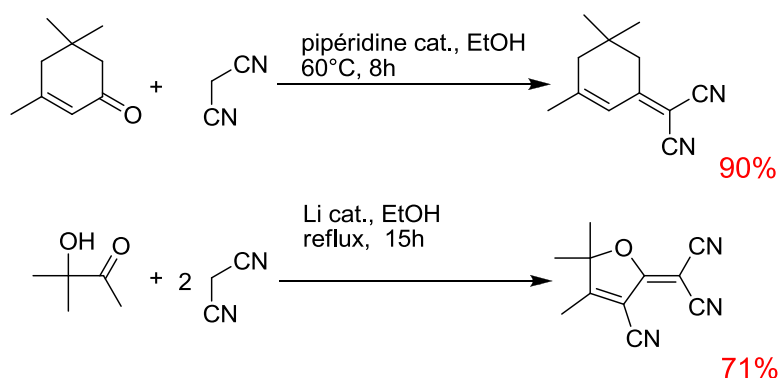


Figure 18 : Synthèse du tricyanofurane (**TCF**) et de la dicyanoisophorone (**DCIP**).

Une fois les synthons obtenus, commerciaux ou par synthèse, la réaction de Knoevenagel a permis d'obtenir les molécules souhaitées. Les différentes analyses spectroscopiques de chaque composé vont tenter de permettre d'établir des relations entre structures et propriétés de fluorescence à l'état solide.

2.3. Etude des propriétés spectroscopiques des fluorophores en solution

2.3.1. Absorption

Les spectres d'absorption linéaire des chromophores de la première série ont été enregistrés dans le dichlorométhane (un solvant de polarité intermédiaire) à une concentration de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-6} mol/L. L'ensemble des données obtenues, ainsi que d'autres propriétés optiques de ces composés en solution dans le dichlorométhane, sont résumées dans le **Tableau 1**. Pour une meilleure clarté seuls les spectres de certains composés représentatifs (**2**, **7**, **16**, **20** et **22**) sont donnés sur la **Figure 19**.

Molécules	λ_{\max} (nm)	ϵ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})	Φ_F (%)
1	445	40 900	515	3042	<1
2	450	31 200	575	4831	<1
3	475	22 800	540	2534	<1
4	475	48 400	565	3354	1,5
5	440	29 300	525	3675	<1
6	425	28 600	520	4298	<1
7	495	43 000	610	3809	<1
8	380	18 400	480	5482	<1
9	375	20 800	480	5833	<1
10	375	21 300	470	5391	<1
11	380	29 500	485	5697	<1
12	440	28 700	700	8437	<1
13	475	46 300	680	6347	<1
14	450	30 300	705	7980	<1
15	370	16 800	525	7979	<1
16	375	17 100	590	9718	<1
17	410	13 500	575	6999	<1
18	450	26 100	550	4044	1,4
19	440	68 000	540	4215	1,1
20	415	20 300	485	3771	<1
21	345	17 700	415	4890	<1
22	565	42 000	710	3614	<1
23	420	27 300	600	7143	<1
24	470	37 800	640	5652	2

Tableau 1 : Propriétés spectroscopiques en solution dans le dichlorométhane.

Les spectres d'absorption sont caractéristiques de molécules dipolaires à transfert de charge avec une large bande dans le visible. Les maxima d'absorption vont de 375 nm pour le composé **16** et se décalent vers le rouge lorsque l'on augmente la force du groupement électro-donneur ou électro-accepteur jusqu'à 565 nm pour le composé **22** porteur de groupements *N,N*-diphénylamino et TCF.

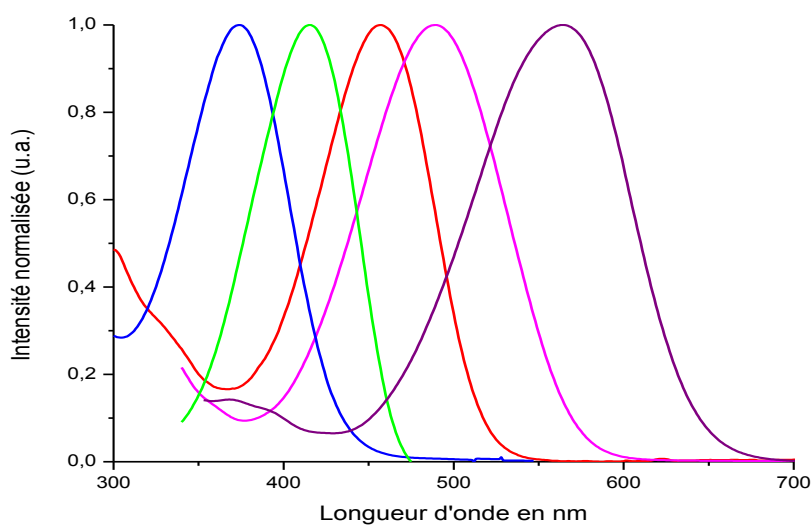


Figure 19 : Spectres d'absorption normalisés dans le dichlorométhane des composés **2** (rouge), **7** (magenta), **16** (bleu), **20** (vert), **22** (violet).

Les coefficients d'extinctions molaires sont du même ordre de grandeur pour l'ensemble des composés avec des valeurs situées entre 15 000 et 45 000 $M^{-1}.cm^{-1}$, excepté pour la molécule **19**, qui est un octupôle (molécule tri-substituée), pour laquelle cette valeur est supérieure à 68 000 $M^{-1}.cm^{-1}$. De manière générale, on constate que la valeur du coefficient d'extinction molaire augmente lors du passage d'une molécule dipolaire à une molécule di- substituée puis octupolaire, pour un même groupement accepteur, ce qui est en accord avec la littérature.[33]

2.3.2. Emission

De la même manière les spectres d'émission des composés en solution ont été enregistrés à des concentrations similaires, de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-6} mol/L. A l'exception des composés **4**, **18**, **19** et **24**, ces chromophores sont peu émissifs et la fluorescence à peine visible. Les émissions couvrent cependant une large gamme spectrale, allant de 415 nm pour le composé **21** à 710 nm pour **22** comme le montre la **Figure 20**.

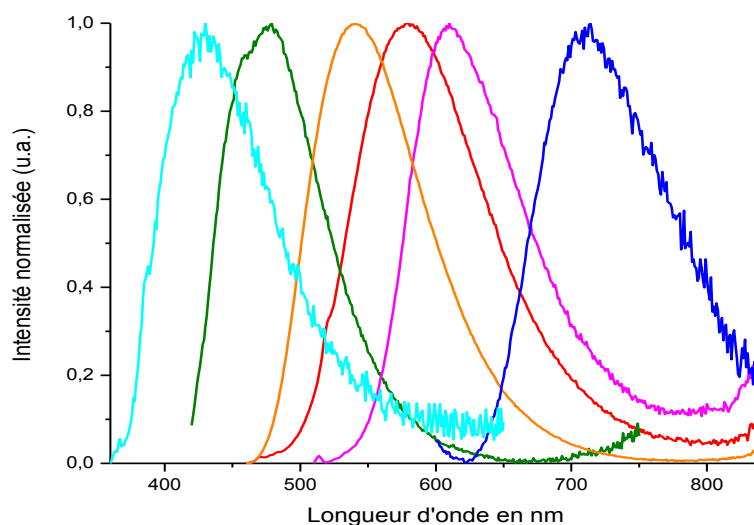


Figure 20 : Spectres d'émission dans le DCM des composés **2** (rouge), **7** (magenta), **14** (bleu), **19** (orange), **20** (vert) et **21** (cyan).

Logiquement, pour un groupe accepteur donné, les longueurs d'ondes d'émission sont plus faibles lorsque le donneur est un groupement alcoxy que lorsque le groupement est un groupement amino. Par exemple, le composé **9** (méthoxy) possède un maximum d'émission à 480 nm, alors que le composé **1** (diméthylamine) possède un maximum à 515 nm. Ceci est cohérent avec la littérature, puisque les groupements alkoxy sont moins donneurs d'électrons que les groupements azotés.[34-35] De même, pour un même groupement donneur (diphénylamine, ou diméthylamine par exemple), une classification de la force des groupements accepteur est possible (TCF=nitrophényl > indanedione > benzothiazole = pyridine). En effet, une large bande d'émission dans le rouge est observée allant de 575 nm pour le composé benzothiazole **2** à 700 nm pour le composé **12** comportant un groupement nitrophényle.

Même si la fluorescence est très faible, les rendements quantiques en solution ont néanmoins été mesurés, en prenant comme référence la Coumarine 153 (rendement quantique 43% dans le méthanol). Ils sont donnés **Tableau 1**. Seules les molécules di-substituées **4** et **18**) ainsi que l'octupôle **19** et le composé **24** possèdent des rendements quantiques supérieurs à 1%. Ces résultats sont attendus et en accord avec les observations décrites dans la littérature. Les molécules construites sur un motif cyano-stilbène (comme les molécules **1-21**) présentant en effet une désexcitation non radiative très efficace via des mouvements de torsion au niveau de la double liaison C=C sont généralement peu ou pas fluorescentes en solution. En

revanche, ces résultats sont plus surprenants pour **22** et **23** car les analogues de ces molécules portant des groupements donneurs *N,N*-dialkyl sont fluorescentes.[25a]

2.3.3. Déplacement de Stokes, solvatochromisme

Par ailleurs, un large déplacement de Stokes ($\Delta\nu$) allant de 2500 à 9700 cm^{-1} est observé respectivement pour les composés **3** et **16**, caractéristique des transitions induites par des molécules captodatives à transfert de charge. A noter que la valeur du déplacement de Stokes est supérieure pour les molécules possédant un groupement accepteur nitrophényle en comparaison de toutes les autres molécules synthétisées (composé **1** à **11** et **17** à **24**). Ce type de molécule suggère que les composés des dérivés du nitrophényle posséderaient un état excité plus fortement relaxé impliquant une plus grande différence du moment dipolaire entre l'état fondamental et l'état excité que les autres composés. Cette observation est en accord avec le fait que le groupement nitrophényle est un meilleur accepteur que les groupements benzothiazole ou pyridine, [35] comme constaté précédemment.

Les spectres d'absorption et d'émission ont également été mesurés dans différents solvants, polaires et apolaires. Les maxima d'absorption sont quasiment tous identiques. Toutefois, un fort solvatochromisme en émission est observé pour toutes les molécules comme illustré sur les **Figure 21**, **Figure 22** et **Figure 23** pour les molécules **2**, **12** et **20**. L'augmentation de la polarité des solvants entraîne logiquement pour les composés un déplacement vers le rouge. A groupement donneur constant, les molécules portant un groupement nitrophényle présentent un solvatochromisme plus important ($\Delta\nu$ plus grand) (**2**<**17**<**12**, de même **1**<**20**<**14**).

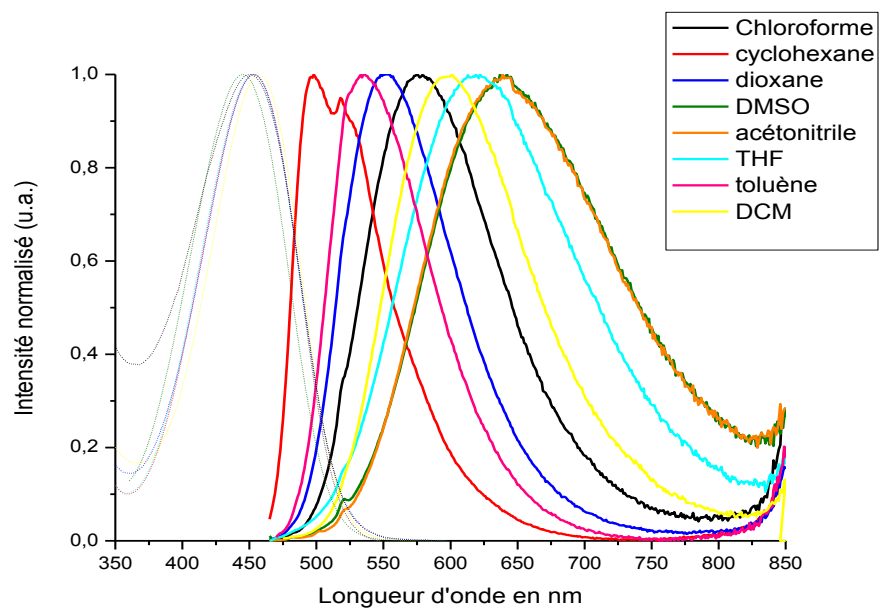


Figure 21 : Spectres d'absorption et d'émission de composé **2** dans différents solvants polaires et apolaires.

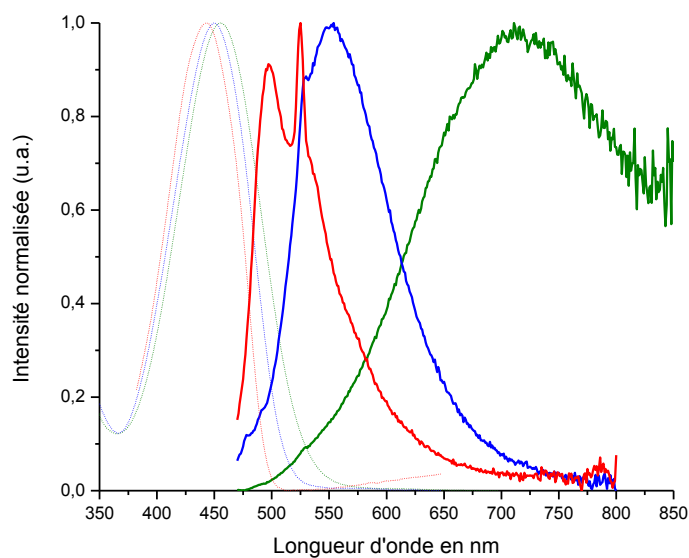


Figure 22 : Spectres d'absorption et d'émission de composé **12** dans différents solvants polaires et apolaires ; cyclohexane (rouge), toluène (bleu), DCM (vert).

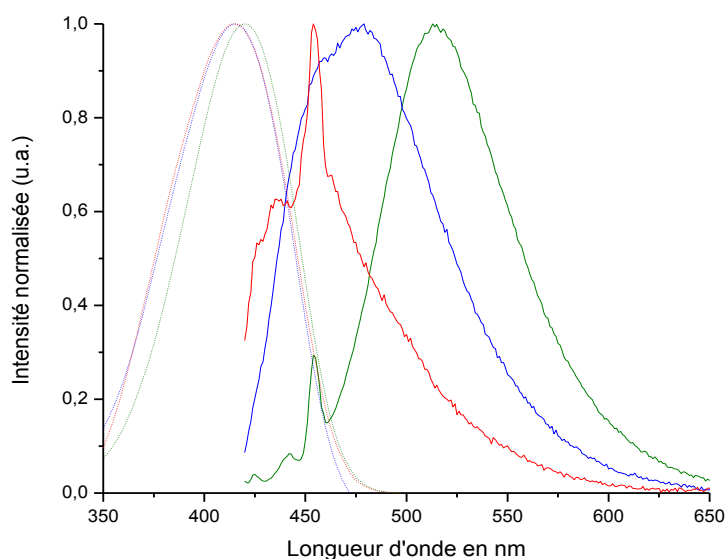


Figure 23 : Spectres d'absorption et d'émission de composé **20** dans différents solvants polaires et apolaires ; cyclohexane (rouge), toluène (bleu), DCM (vert).

Le solvatochromisme au sein de ces composés est également illustré par les variations du déplacement de Stokes en fonction de la polarité du solvant; les résultats observés (**Tableau 2**) sont en accord avec la force des groupements donneur ou accepteur. Au sein des molécules substituées par le groupement diméthylamine (**1**, **14** et **20**), la valeur de $\Delta\nu$ dans le cyclohexane présente une valeur proche de 2000 cm^{-1} (2670 , 1979 et 1874 cm^{-1} respectivement pour les composés **1**, **14** et **20**). Cette valeur augmente avec la polarité (3042 , 7980 et 3771 cm^{-1} dans le DCM). L'augmentation $\Delta\nu$ est en accord avec la force de l'accepteur. Le même phénomène est observé pour les composés substitués par le groupement diphenylamine (**2**, **12** et **17**).

composés	$\Delta\nu\text{ (cm}^{-1}\text{) cyclohexane}$	$\Delta\nu\text{ (cm}^{-1}\text{) Toluène}$	$\Delta\nu\text{ (cm}^{-1}\text{) DCM}$
2	2222	3354	4831
12	3119	4709	8437
17	2885	4782	6999
1	2670	2864	3042
14	1979	4382	7980
20	1874	2591	3771

Tableau 2: Déplacement de Stokes dans différents solvants des composés **1**, **2**, **12**, **14**, **17** et **20**.

2.4. Etude des propriétés spectroscopiques à l'état solide

2.4.1. Mesure en suspension : émission induite par agrégation (AIE)

L'étude des propriétés de fluorescence à l'état solide a commencé par vérifier que ces composés présentaient des propriétés d'émission induite par agrégation (AIE). Pour se faire, une technique de nanoprecipitation de suspension en milieu aqueux adaptée de la littérature a été employée.[22b, 23e] Ainsi, des mélanges eau/acétone de concentration identique en fluorophore (10 ou 50 μ M), mais avec des fractions volumiques (f_w) en eau différentes, sont préparés. Pour chaque valeur de f_w , les spectres d'excitation et d'émission sont enregistrés comme illustrés **Figure 24**, **Figure 25** et aussi **Figure 26** où l'intensité de fluorescence en fonction de f_w est représentée. Si pour de faibles pourcentages d'eau, la fluorescence mesurée est faible et semblable à celle observée en solution, à partir d'une certaine quantité d'eau (généralement $f_w > 65\%$ ou 70%), elle augmente de façon très importante pour atteindre un maximum aux alentours de $f_w = 85\% - 90\%$, puis, dans la majorité des cas, décroître au-delà de $f_w = 90\% - 95\%$. Les valeurs de f_w pour lesquelles une augmentation puis une diminution de la fluorescence sont observées dépendent de chaque composé. Cette augmentation considérable (19 et 14 fois plus importante respectivement pour les composés **24** et **12**) de fluorescence s'accompagne dans la majorité des cas d'un fort déplacement vers le rouge de la longueur d'onde du maximum d'émission, tandis que la longueur d'onde pour l'optimum d'excitation ne varie que très peu, mais que le spectre d'excitation s'élargit. Ces résultats sont classiques du phénomène d'AIE. Tant que le composé est soluble dans le milieu (à faible f_w), la fluorescence est faible. Lorsque la quantité d'eau augmente, le composé précipite sous forme de particules de taille nanométrique qui restent en suspension.[22b] Ceci explique l'élargissement des spectres d'excitation et la hausse de la fluorescence qui est due au solide. La diminution observée à très fort pourcentage d'eau pourrait être due à des particules agrégées beaucoup plus grosses qui peuvent sédimenter au fond de la cuve de fluorescence.

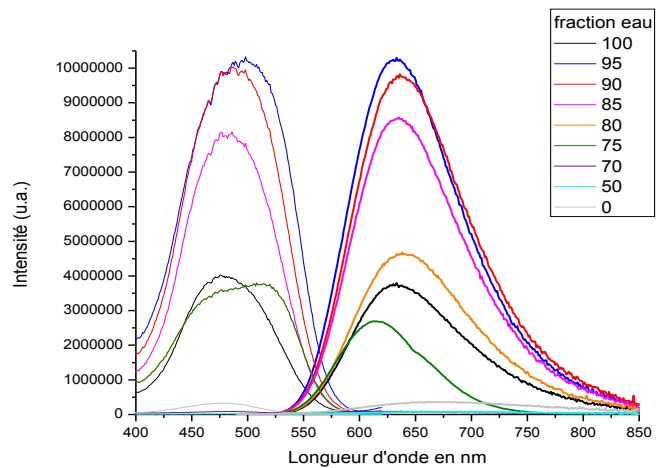


Figure 24 : Spectres d'excitation et d'émission de la molécule **24** à différents rapports eau/acétone.

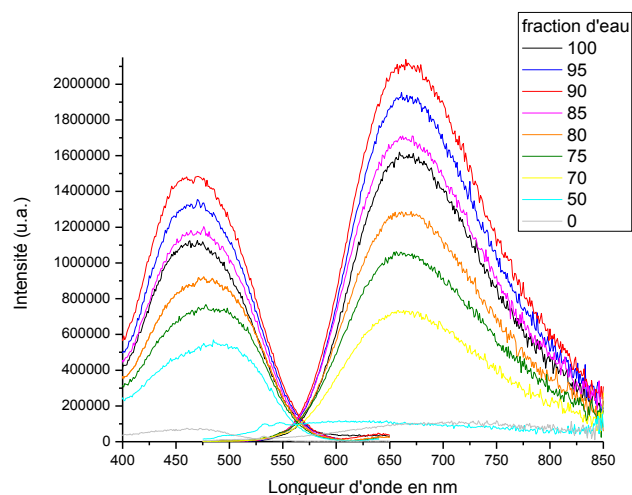


Figure 25 : Spectres d'excitation et d'émission de la molécule **12** à différents rapports eau/acétone.

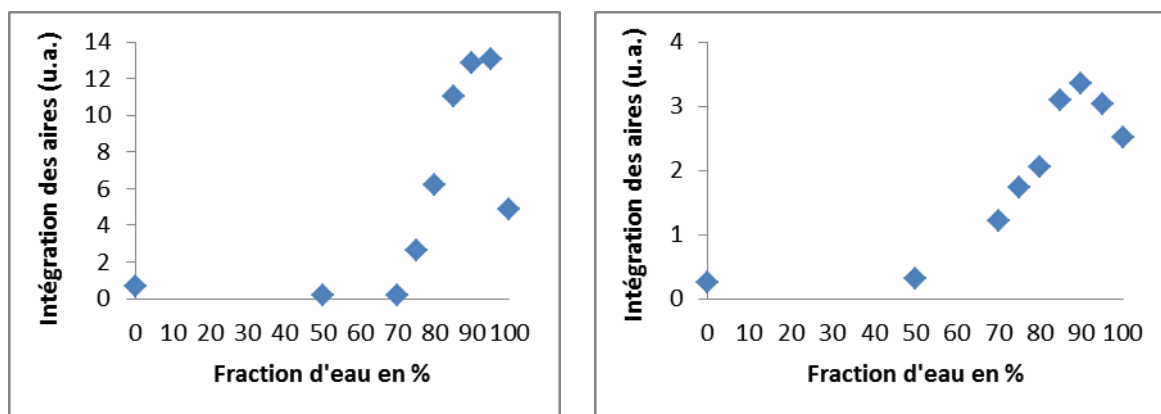


Figure 26 : Détermination du rapport eau/solvant où la fluorescence est la plus intense composé **24** (gauche) et composé **12** (droite).

Néanmoins, bien que non quantifiée, la fluorescence reste faible, alors qu'en observant sous lampe UV (excitation à 365 nm) les composés sous forme de poudre cristalline ou de pastille compactée de poudre cristalline (**Figure 27**), on constate, à l'œil nu, une intense fluorescence pour certains composés (composés **1**, **2**, **11**, **15**, **16**, **17**, **23** et **24**). Une étude spectroscopique sur poudre (cristalline) est donc réalisée.

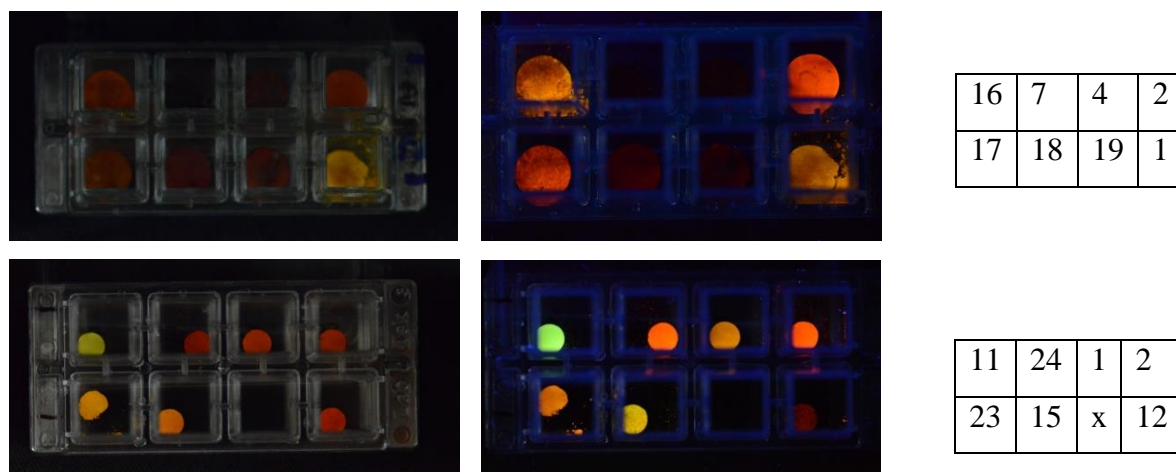


Figure 27 : A gauche, photographie de pastilles compactes de composés. A droite, les mêmes pastilles photographiées sous la lampe UV (365 nm).

2.4.2. Mesure en solide (poudre cristalline)

Les spectres d'excitation et d'émission ont été mesurés pour tous les composés à l'état cristallin, soit en utilisant un porte échantillon solide et en configuration « Front Face » de l'instrument (spectres d'émission), soit à l'aide d'une sphère intégrante (émission et excitation). Les résultats sont résumés dans le **Tableau 3** et quelques exemples représentatifs sont donnés sur la **Figure 28**. Comme on peut le constater la diversité des molécules synthétisées couvre une large gamme spectrale en émission, avec des maxima variant de 545 nm à 830 nm, respectivement pour les composés **11** et **22** (**Figure 28**).

Molécules	λ_{exc} (nm)p	λ_{em} (nm)p	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	Φ_F (%)p
1	540	605	1969	11
2	590	640	1324	18
3	475	580	3811	<1
4	565	700	3105	5
5	525	670	4123	<1
6	500	645	4496	4
7	610	795	3815	<1
8	450	540	3704	<1
9	450	545	3873	3
10	450	570	4831	3
11	455	545	3629	11
12	575	675	2576	4
13	480	715	6847	<1
14	550	710	3998	1
15	490	560	2551	18
16	530	605	2339	8
17	565	640	2074	15
18	445	665	2506	3
19	560	645	2353	2
20	485	625	4619	<1
21	440	565	5028	<1
22	520	830	7183	<1
23	550	610	2125	2
24	510	620	3479	12
25	460	620	5610	18
25*	460	630	5866	15*

Tableau 3 : Données spectroscopiques des molécules poudre (p) ; **25*** données de la littérature 15% « self-aggregate in suspension » [23e].

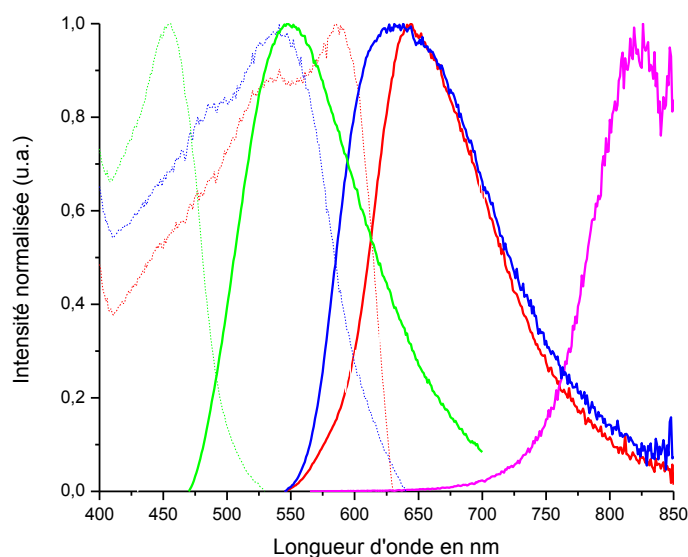


Figure 28 : Spectres normalisés d'excitation et d'émission en poudre des composés **1** (bleu), **2** (rouge), **11** (vert) et **22** (magenta).

2.4.3. Mesure du rendement quantique avec une sphère d'intégration

2.4.3.1. Nécessité d'utiliser une sphère d'intégration

Le principal problème que nous avons rencontré lors de cette étude concerne la quantification de la fluorescence à l'état solide, c'est-à-dire pouvoir estimer le rendement quantique de fluorescence. Si les techniques pour mesurer le rendement quantique en solution sont bien connues, notamment des mesures relatives en utilisant des références, il n'en est pas de même pour le solide. Dans la littérature, des données de rendements quantiques sur solide apparaissent cependant régulièrement, qui se sont multipliées depuis quelques années. Quasiment toutes les mesures sont faites à l'aide d'une sphère d'intégration qui permet des mesures quantitatives de l'émission. Cependant l'utilisation de cette technique étant nouvelle au laboratoire, nous avons dû établir un protocole de mesure. Nous avons également validé notre protocole en mesurant les rendements quantiques de fluorescence de mêmes produits sur différents équipements et dans d'autre laboratoire. Une molécule, **25** (**Figure 29**), très similaire aux nôtres, émettant dans la gamme spectrale souhaitée et dont les rendement (15 %) était donné dans la littérature a aussi été synthétisée et étudiée (620 nm).[23e] Ainsi, il sera possible de se situer par rapport aux autres groupes qui étudient la fluorescence à l'état solide et savoir si nos composés synthétisés sont du même ordre de

grandeur ou fluorescent plus intensément. Les mesures des rendements quantiques sur poudre microcristalline seront donc effectués pour chaque composé à l'aide de la sphère d'intégration Horiba Jobin-Yvon F-3018 (**Figure 30**).

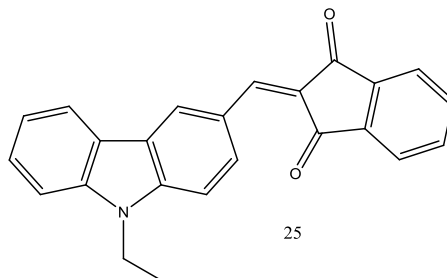


Figure 29 : Composé de référence pour les mesures de rendements quantiques.[23e]

En 1997, J. C. de Mello *et al.* [36] ont développé une méthode pour la mesure de rendement quantique sur film en utilisant une sphère d'intégration. Ce dispositif fut repris quelques années plus tard pour mesurer des rendements quantiques absolus en solution de nombreux fluorophores connus, montrant la faisabilité de cette technique. Nous avons décidé de reprendre les mêmes protocoles en utilisant une sphère d'intégration pour mesurer les rendements quantiques, mais en prenant des composés en poudre. Ce protocole procure le gros avantage de s'affranchir de références, en utilisant des portes échantillons adéquats (**Figure 30**).

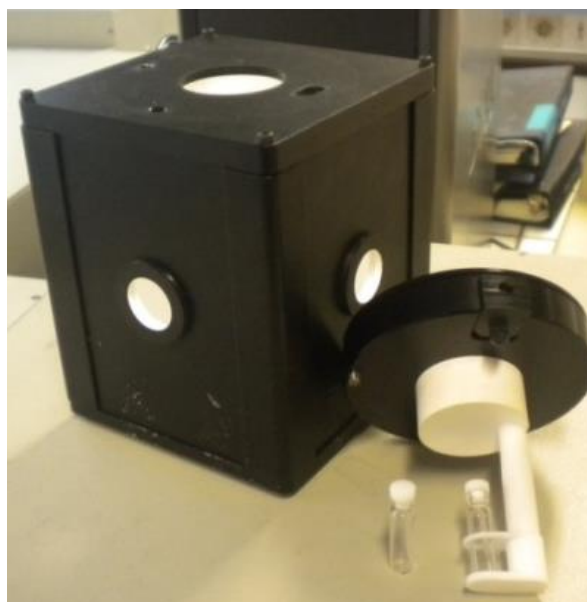


Figure 30 : Photo de la sphère d'intégration Horiba Jobin-Yvon F-3018 et du porte échantillon utilisé pour les mesures spectroscopiques sur solide.

2.4.3.2. Principe de mesure

Une sphère d'intégration est une sphère creuse possédant un revêtement de paroi réfléchissant pour que les réflexions multiples assurent un éclairage uniforme de la sphère. Ainsi, lorsqu'une source lumineuse éclaire la sphère intégrante, la lumière est redistribuée de manière isotrope sur la surface intérieure de la sphère indépendamment de la dépendance angulaire de l'émission. Elle permet donc de collecter tous les photons émis par l'échantillon, ainsi que ceux absorbés (par mesure des excitatrices).

Pour obtenir expérimentalement le rendement quantique il est nécessaire de mesurer trois émissions et trois excitatrices: directe, indirecte et sans l'échantillon (**Figure 31** et **Figure 32**). L'émission par absorption directe est mesurée lorsque l'échantillon est directement en face du faisceau d'excitation, elle permet de mesurer tous les photons émis par le composé. Cette émission, notée E_c est représentée **Figure 31**. Néanmoins, une partie des photons émis, résultant de la fluorescence de l'échantillon, est réfléchi par la sphère d'intégration et ré-excite l'échantillon. C'est pourquoi la mesure d'émission par absorption indirecte, notée E_b , est nécessaire afin de corriger la mesure de l'émission directe. Finalement, la mesure de l'émission sans échantillon, notée E_a , permet d'atténuer le bruit de fond et donc de corriger également l'émission par absorption directe.

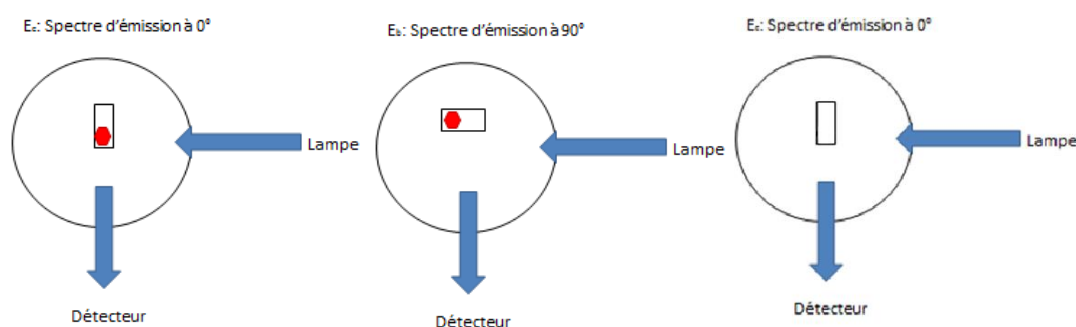


Figure 31 : Schéma des différentes positions de l'échantillon dans la sphère d'intégration pour le calcul des émissions, de gauche à droite, E_c , E_b , E_a .

Trois mesures de l'excitatrice (**Figure 32**) sont également nécessaires, afin de mesurer tous les photons absorbés par l'échantillon de façon directe et indirecte. Une mesure sans l'échantillon (L_a) suivi d'une mesure de l'excitatrice en plaçant l'échantillon dans le faisceau (L_c) permet de mesurer tous les photons absorbés directement par le composé. On mesure de même, l'absorption indirecte en plaçant l'échantillon hors faisceau (L_b).

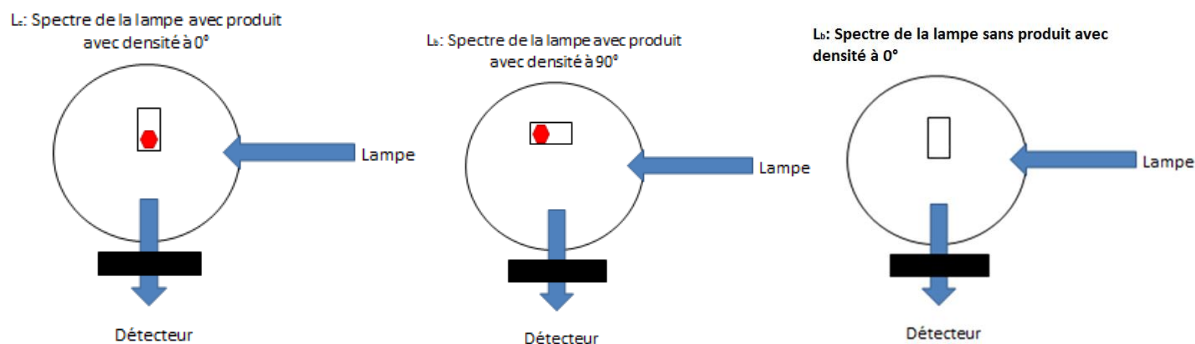


Figure 32 : Schéma des différentes positions de l'échantillon dans la sphère d'intégration pour le calcul des excitatrices, de gauche à droite, L_c , L_b , L_a .

Le rendement quantique de fluorescence Φ_F est défini comme le nombre de photons émis sur le nombre de photons absorbés par un fluorophore. Il peut ainsi s'exprimer selon l'équation (1) :

$$\Phi_F = \frac{(E_c - E_a - (1-A) \times E_b)}{(L_a \times A) / \text{densité du filtre}} \quad \text{équation (1)}$$

Où
$$A = \frac{(L_b - L_c)}{L_b}$$

- E_c : Emission par absorption directe (à 0°)
- E_a : Emission sans échantillon, sphère vide (à 0°)
- E_b : Emission par absorption indirecte (à 90°)
- L_c : Excitatrice directe (à 0°)
- L_a : Excitatrice sphère vide (à 0°)
- L_b : Excitatrice indirecte (à 90°)

Il faut noter qu'il est nécessaire d'utiliser un filtre de densité lors des mesures des excitatrices en sortie de la sphère intégrante, afin de ne pas saturer le détecteur lors des différentes mesures des excitatrices L_a et L_c .

Les études citées précédemment suggèrent que, lorsque le rendement quantique de fluorescence est faible (<50%), l'émission par excitation indirecte peut être négligée ($E_b \ll E_a$ et $L_b \approx 0$). Dans ce cas, seules 4 mesures sont nécessaires (L_a , L_c , E_a et E_c) et l'équation (1) se simplifie en :

$$\Phi_F = \frac{(E_c - E_a)}{(L_a - L_c) / \text{densité du filtre}} \quad \text{équation (2)}$$

Nous l'avons également constaté pour tous nos composés. Même pour les rendements les plus élevés mesurés, tenir compte de l'émission dite « indirecte » et appliquer l'équation

(1), ou négliger cette émission et utiliser l'équation (2) ne modifie pas significativement la valeur de Φ_p mesurée (<0,5 sur la valeur de Φ exprimée en %). Les rendements quantiques de luminescence aussi bien en suspension que sur poudre ont été mesurés en utilisant cette méthode, en négligeant l'émission indirecte (4 mesures donc) et utilisant l'équation (2).

2.4.3.3. Validation des mesures de rendement quantique à l'état solide

Différentes molécules ont été mesurées sur d'autres équipements afin de valider nos mesures (**Figure 33**): le **CMONS**, le (*E*)-2-(5, 5'-diméthyl-3-(4-(méthylthio)styril)cyclohex-2-enylidène)malononitrile (**MeS-DCIP**), le (*E*)-2-(3-cyano-5, 5'-diméthyl-4-(4-(méthylthio)styril)furan-2(5*H*)-ylidène)malononitrile (**MeS-TCF**), les composés **2** et **19**. Le rendement quantique du **CMONS** a été mesuré à partir d'un système similaire au notre, à l'Institut Néel, tandis que les rendements de fluorescence des molécules **2**, **MeS-TCF**, **MeS-DCIP** et **19** ont été mesurés, à Clermont-ferrand, dans l'équipe de Rachid Mahiou, à partir d'un équipement différent.

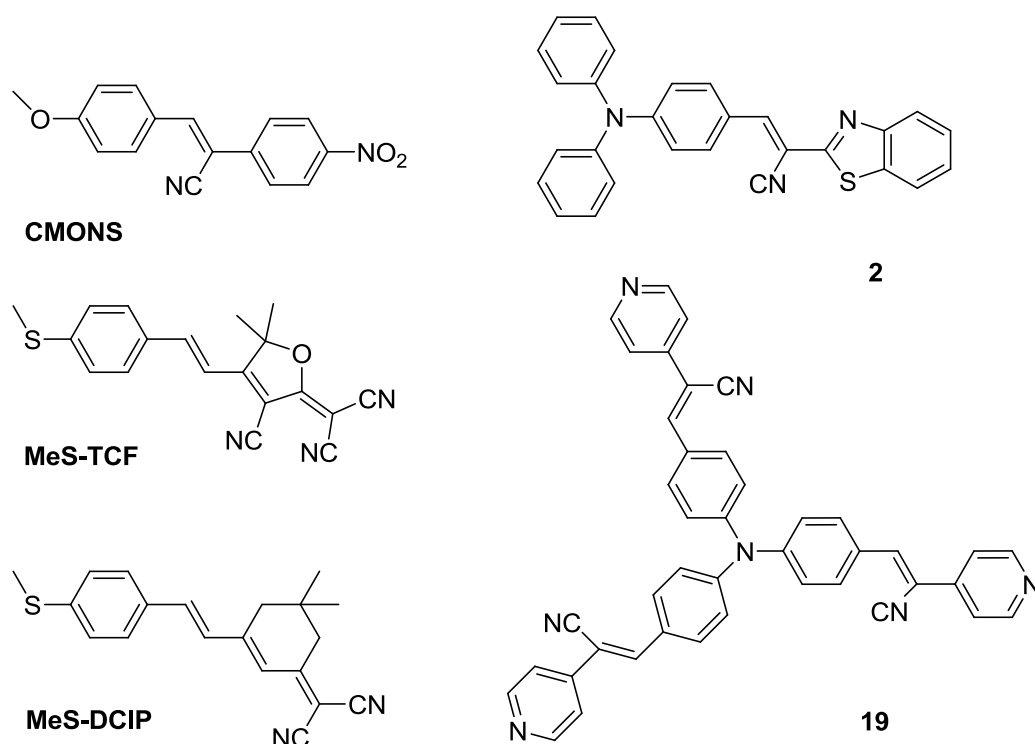


Figure 33 : Représentation des molécules, dont le rendement quantique a été mesuré par plusieurs dispositifs.

Le dispositif utilisé à Clermont-ferrand est commercialisé par Hamamatsu (*référence C9920-02G*). Cet appareil est équipé d'une source d'excitation monochromatisée Xénon (150W, 250-950 nm, avec une résolution de bande spectrale < 5nm), d'une sphère

d'intégration et d'un analyseur multicanaux photonique permettant des mesures sur la plage 200-950 nm avec une résolution < 2nm. En introduisant un échantillon de poudre monocristalline dans la sphère d'intégration, on obtient la mesure du rendement quantique. Le **Tableau 4** ci-dessous présente les résultats obtenus à l'ENS Lyon et ceux obtenus à l'Institut Néel et à Clermont-Ferrand.

Molécules	Φ_F (%) poudre Lyon	Φ_F (%)poudre autre système
CMONS	51	48 (Grenoble)
MeS-DCIP	3	4 (Clermont - F ^d)
MeS-TCF	5	7 (Clermont - F ^d)
2	18	20 (Clermont - F ^d)
19	2	3 (Clermont - F ^d)

Tableau 4 : Comparaison des rendements quantiques réalisés à Lyon, Grenoble (Institut Néel) et à Clermont-Ferrand (ENSCCF).

Nous constatons que les valeurs de rendements quantiques mesurés à partir des autres systèmes sont tout à fait comparables à celles mesurées au laboratoire. Cette observation permet donc de valider et de justifier nos mesures qui seront détaillées par la suite.

2.4.3.4. Résultats

Les rendements quantiques ont été mesurés pour chaque composé en poudre, et sont répertoriés dans le **Tableau 3**.

A l'état solide, les rendements quantiques sont compris entre 3 et 20 % (les composés **2**, **15**, **17** et **25** sont ceux présentant les rendements les plus élevés). D'une façon générale, il est possible d'obtenir des chromophores émettant à l'état solide dans le proche infrarouge ($\lambda_{em} > 700$ nm) avec les composés **4**, **7**, **13**, **14**, **22**. Parmi ces composés, seul le **4** présente un rendement quantique significatif (5%). Cependant, les composés **2**, **11**, **15**, **16**, **17**, **24** fluorescent à l'état solide avec des rendements quantiques supérieurs à 5 %. Parmi ces composés **2**, **17** et **24** fluorescent dans le rouge autour de 640 nm avec des rendements quantiques respectifs de 18 % (composés **2** et **17**) et de 12 % (composé **24**).

2.4.4. Discussion

Dans le cadre de notre étude, il nous a semblé judicieux d'effectuer des rapprochements par groupement accepteur, donneur ainsi que la longueur de conjugaison afin

de déterminer des règles d'ingénierie, comme cela a pu être fait en solution pour la position des bandes.

2.4.4.1. Etude de la force du donneur

On a choisi de comparer les molécules possédant un même groupement accepteur (composé benzothiazole : **1** à **11** ; nitrophényle : **12** à **16** et pyridine **17** à **21**), voir **Figure 34** et **Figure 35**. En examinant les maxima d'émission des composés, à l'état solide, on constate que lorsque les groupements donneurs sont des groupements alcoxy, la fluorescence se situe dans le jaune vers 550 nm (composés **8**, **9**, **10**, **11**, **15** et **21**), alors que lorsqu'il s'agit d'un groupement amine (composé **1**, **2**, **5**, **6**, **7**, **12**, **14**, **17** et **20**) la fluorescence se situe dans le rouge vers 640 nm. Les résultats sont cohérents avec ceux obtenus en solution (**Tableau 1**). Ceci est en accord avec les résultats des coefficients de Hammett [34-35] puisque les groupements alcoxy sont moins donneurs d'électrons que les groupements amines. De plus, on peut également constater, que les composés possédant un groupement diméthylamine (composé **1**, **14** et **20**), sont généralement décalés vers le bleu, à l'état solide, par rapport à ceux possédant un groupement diphenylamine ($1 < 2$ et $20 < 17$). La nature de la substitution sur le N-donneur semble donc jouer un rôle important sur les propriétés spectroscopiques sur poudre cristalline.

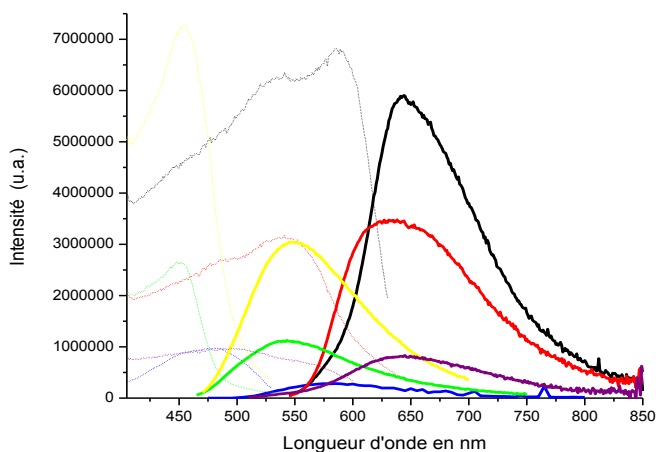


Figure 34 : Spectres d'excitation et d'émission sur poudre des chromophores **1** (rouge), **2** (noir), **3** (bleu), **6** (violet), **9** (vert), **11** (jaune).

On remarque également que les émissions des composés diphenylamine (**Figure 36**) se situent entre 620 nm et 830 nm, respectivement pour les composés **24** et **22**. Toutes ces molécules émettent donc dans le rouge (**2**, **12**, **17** et **24**), et le proche infrarouge (composé **22**).

De plus, les composés **2** et **17** possèdent une intense fluorescence dans le rouge (rendement quantique à l'état solide respectivement de 18 % et de 15 %) en comparaison des autres composés qui sont tous inférieurs à 11 %. Ce composé sera donc étudié plus en détail par la suite, afin de comprendre, par une étude cristallographique, pourquoi ce composé présente une fluorescence aussi intense.

A noter que le composé **15** a été synthétisé afin d'essayer d'améliorer les propriétés du **CMONS** (modification de la substitution sur le O-donneur : groupement hydroxyéthyle à la place d'un groupement méthoxy), molécule très étudiée à l'Institut Néel. Cependant, le rendement quantique à l'état solide de ce composé est plus faible (18%, émission à 560 nm) que pour le **CMONS** (52 %, émission à 560 nm également). Cela montre une nouvelle fois l'influence de la nature de la substitution d'un groupement, ici, sur le O-donneur.

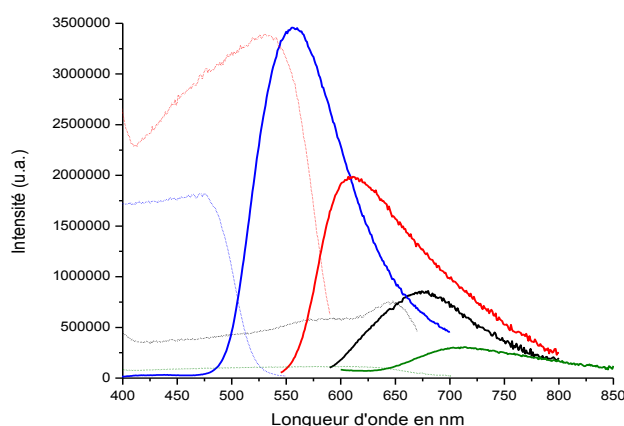


Figure 35 : Spectres d'excitation et d'émission des dérivés du nitrophényle sur poudre : **12** (noir), **14** (vert), **15** (bleu), **16** (rouge).

2.4.4.2. Etude de la force de l'attracteur

A groupement donneur constant, les molécules portant un groupement nitrophényle (**Figure 35**) présentent une émission déplacée vers le rouge à l'état solide (diphénylamine : **24** < **2** = **17** < **12** < **22**, triméthoxyphényle : **11** < **16** = **23**, diméthylamine : **1** < **20** < **14**). Ceci est en accord avec les observations faites en solution (cf. **Tableau 1**). Ainsi, les composés **14** et **22** (groupement nitrophényle) émettent, à l'état solide, dans le proche infrarouge (émission de 710 nm et 830 nm respectivement). Les deux autres composés **12** et **16**, présentent, quant à eux, des émissions, dans l'orange et le rouge, respectivement de 675 nm et 605 nm.

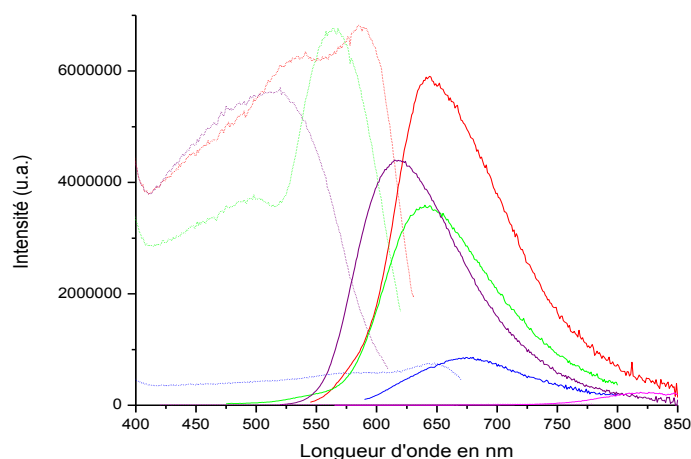


Figure 36 : Spectres d'excitation et d'émission des dérivés diphénylamine sur poudre : **2** (rouge), **12** (bleu), **17** (vert), **22** (magenta) et **24** (violet).

A noter que la molécule **12** est celle ayant, de toute la première série de composés synthétisés (à l'exception du composé **4** qui est un quadripôle, famille des dérivés du benzothiazole) le plus important rendement quantique (4 %), à une longueur d'onde de 700 nm (déplacement vers le rouge). On a donc réussi à obtenir des chromophores émettant dans le rouge avec des rendements quantiques non négligeables.

2.4.4.3. Etude de l'espaceur

L'augmentation de la conjugaison de l'espaceur de la molécule **7** par rapport à la molécule **1** a donc permis de décaler le spectre d'émission à l'état solide de 605 à 795 nm, soit un déplacement de 190 nm dans le rouge. Cette règle est déjà décrite en solution.[38] Néanmoins, il est important de souligner qu'elle se transmet également à l'état solide. Ainsi, pour déplacer les longueurs d'ondes dans le proche infrarouge, à l'état solide, il est possible d'augmenter la conjugaison de l'espaceur d'une molécule. Toutefois, dans le cas présent, le rendement quantique de fluorescence diminue fortement, passant de 11% pour le composé **1** à moins de 1% pour le composé **7**. Aucune règle n'étant établie pour obtenir des fluorophores émettant intensément dans le proche infrarouge, on peut envisager des chromophores émettant fortement avec d'autres groupements donneurs et accepteurs et des transmetteurs allongés.

D'une façon générale, en termes de position de l'émission, les règles d'ingénierie (force de l'accepteur, donneur, longueur de conjugaison) semblent également être respectées à l'état solide.

2.4.4.4. Comparaison des propriétés en solution et à l'état solide

Des différences notables sont constatées, d'une part, entre les spectres d'excitation des différents composés à l'état solide (largeur de la bande d'excitation plus ou moins fine **Figure 37**). D'autre part, les $\Delta\nu$, entre la solution et l'état solide, varient en fonction des rendements quantiques des composés à l'état solide (**Tableau 5**).

Molécules	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹) p	Φ_F (%) p	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹) s	Φ_F (%) s
1	1969	11	3042	<1
2	1324	18	4831	<1
3	3811	<1	2534	<1
4	3105	5	3354	1,5
5	4123	<1	3675	<1
7	3815	<1	3809	<1
9	3873	3	5833	<1
10	4831	3	5391	<1
11	3629	11	5697	<1
12	2576	4	8437	<1
13	6847	<1	6347	<1
14	3998	1	7980	<1
15	2551	18	7979	<1
16	2339	8	9718	<1
17	2074	15	6999	<1
18	2506	3	4044	1,4
19	2353	2	4215	1,1
20	4619	<1	3771	<1
21	5028	<1	4890	<1
22	7183	<1	3614	<1
23	2125	2	7143	<1
24	3479	12	5652	2

Tableau 5: Comparaison des déplacements de Stokes et des mesures du rendement quantique en solution (s) et à l'état solide (p).

Afin d'illustrer ces observations, il a été choisi deux exemples significatifs, les composés **3** et **11** (**Figure 37**). Le composé **3** présente l'un des déplacements vers le rouge, de la solution (dans le DCM, émission à 540 nm) à l'état solide, les plus faibles (émission à 580 nm), aussi bien en excitation qu'en émission (excitation à 475 nm aussi bien en solution qu'à l'état solide). De plus, comme on peut le constater, d'après le **Tableau 5**, le déplacement de Stokes est plus important à l'état solide qu'en solution, avec respectivement 2534 cm^{-1} et 3811 cm^{-1} . A la différence, le composé **11**, présente un déplacement plus important vers le rouge de la solution à l'état solide aussi bien en excitation (excitation à 380 nm en solution et à 455 nm à l'état solide) qu'en émission (émission à 485 nm en solution et à 545 nm à l'état solide). Par ailleurs, le déplacement de Stokes diminue lors du passage de la solution à l'état solide, passant de 5697 cm^{-1} (DCM) à 3629 cm^{-1} (poudre). Ces observations sont constatées pour tous les composés à l'exception des composés **6**, **8** et **14**.

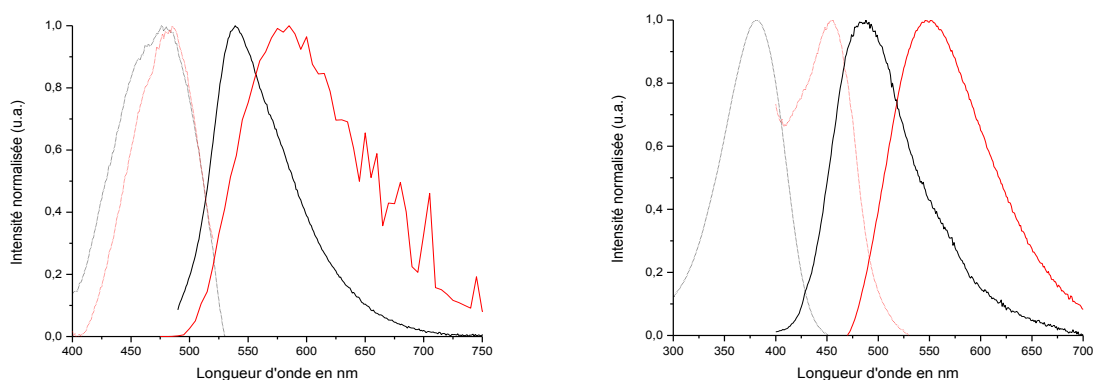


Figure 37 : Spectres d'excitation et d'émission en solution (noir) et en poudre (rouge) des composés **3** (gauche) et **11** (droite).

Afin de comprendre quelles interactions à l'état solide influencent les propriétés de fluorescence, une étude cristallographique sur certains de ces composés a été réalisée.

2.5. Etude cristallographique

2.5.1. Cristallisation

Une partie des composés a été cristallisée par des méthodes de diffusion en phase liquide ou en phase vapeur. Les solvants utilisés pour la formation des cristaux sont repris dans le **Tableau 6**, ainsi que le mode de diffusion utilisé.

Composés	Solvant/Non-solvant ^D
1	DCM/heptane ^V
2	DCM/cyclohexane ^L
3	DCM/cyclohexane ^L
12	DCM/cyclohexane ^L
14	DCM/cyclohexane ^L
24	DCM/Isopropyl ether ^L

Tableau 6 : Conditions de cristallisation des différentes molécules avec le solvant / le non-solvant et le mode de diffusion D (avec V pour vapeur et L pour liquide).

Toutes les structures n'ont pu être obtenues, cependant les six composés qui ont pu être cristallisés permettront d'étudier les différentes interactions dans la maille cristalline et ainsi pouvoir en tirer des règles pour la synthèse de nouveaux composés fluorescents à l'état solide.

2.5.2. Etude de la structure de la molécule

Les données cristallographiques et les paramètres structuraux de base sont donnés dans l'annexe. Les longueurs de liaisons et des angles de torsion du système π -conjugué (**Figure 38**) importants sont repris dans le **Tableau 7**.

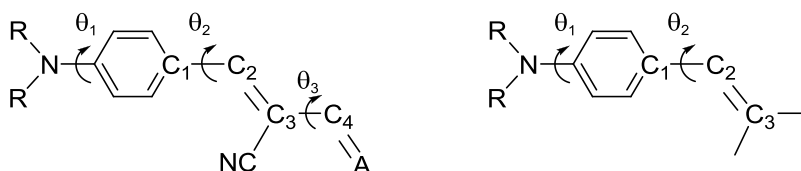


Figure 38 : Représentation moléculaire des atomes ainsi que les angles de torsions. Ensemble des atomes impliqués dans la conjugaison pour les composés **1**, **2**, **3**, **12**, **14** (gauche) et **24** (droite).

Composés	C ₁ – C ₂ (Å)	C ₂ – C ₃ (Å)	C ₃ – C ₄ (Å)	Θ ₁ (°)	Θ ₂ (°)	Θ ₃ (°)
1	1,442	1,356	1,460	179,5	176,1	178,3
2	1,461	1,353	1,475	153,5	166,1	178,1
3	1,439	1,352	1,461	173,1	176,4	171,2
12	1,457	1,350	1,485	152,7	179,8	171,2
14	1,446	1,371	1,482	176,1	175,2	176,8
24	1,441	1,354	---	146,4	179,8	---

Tableau 7 : Longueurs de liaisons sélectionnées et angles de torsion pour tous les composés.

Ces mesures révèlent que le système est parfaitement conjugué et plan, avec une alternance de simples et de doubles liaisons, avec les 11 atomes (composés **1**, **2**, **3**, **12** et **14**) et 8 atomes (composé **24**) formant le système conjugué captodatif situé dans le même plan. Ainsi l'angle dièdre θ_2 que forment le cycle benzénique et la double liaison $C_2 = C_3$ est situé entre $0,19^\circ$ et $4,8^\circ$ pour les **1**, **3**, **12**, **14** et **24**, et à peine $13,1^\circ$ pour le composé **2**, le plus distordu. L'angle dièdre θ_3 , formé entre les liaisons $C_2 = C_3$ et le cycle de l'accepteur, est situé entre $1,9^\circ$ (composés **3** et **12**) et $8,8^\circ$ (composés **1** et **2**) indiquant une bonne conjugaison entre le cycle benzénique et l'accepteur.

Finalement, l'angle dièdre θ_1 que forment les groupements substituants l'atome N-donneur et le cycle benzénique sont mesurés. Les angles, pour les composés **2**, **12** et **24** varient de $26,5^\circ$ à $33,6^\circ$, donc hors du plan formé par le système conjugué. Cependant, on constate que, pour les composés **1**, **3** et **14**, l'angle dièdre est plus faible, se situant de $0,5^\circ$ à $6,9^\circ$. Cela est probablement dû, pour le composé **3**, à la structure julolidine, plus contrainte que les groupements phényles portés par le N-donneur des autres composés. Dans le cas des composés **1** et **14**, on constate que l'angle dièdre est nettement plus petit que ceux avec les groupements phényles. Ceci est probablement dû à la taille des groupements portés par l'azote (méthyle < phényle).

En conclusion, le fait que les données cristallographiques montrent que les molécules restent conjuguées à l'état solide, permet d'expliquer les différentes variations des bandes d'émission en fonction des groupements accepteurs. Cependant, l'étude de l'agencement des molécules à l'état solide est nécessaire de façon à comprendre les variations de rendement quantiques d'un système à l'autre.

2.5.3. Etudes des arrangements cristallins

Les molécules **1**, **2**, **3** et **24** cristallisent suivant un système triclinique dans le groupe d'espace $P-1$, en contenant deux molécules par maille pour les composés **1**, **3** et **24** et quatre molécules par maille pour le composé **2**. Le composé **12** cristallise suivant un système monoclinique dans le groupe d'espace $P2_1/c$, avec quatre molécules par maille, et le composé **14** cristallise dans le groupe d'espace monoclinique Pn avec deux molécules par maille. Les unités élémentaires sont constituées d'une molécule à part pour le composé **2** pour lequel deux molécules sont cristallographiquement indépendantes.

2.5.3.1. Composé 2

Pour ce composé, la maille élémentaire est constituée de deux molécules indépendantes (**Figure 39**). Ces deux molécules sont distantes de 3,7 Å environ et sont orientées dans la même direction avec un angle de glissement entre les deux dipôles de 45°, ce qui est l'archétype d'un agrégat *J*. La répétition de ce motif dans la direction *a* forme un feuillet parallèle au plan *ab* dans lequel toutes les molécules sont orientées dans le même sens. L'inversion de ce feuillet puis des translations du tout selon *c* forme la maille (**Figure 40**). Ceci corrobore les résultats de spectroscopie, puisque ce composé présente une intense fluorescence dans le rouge, à 640 nm, avec un rendement quantique de 18% à l'état solide et un spectre d'excitation présentant une bande fine à 590 nm.

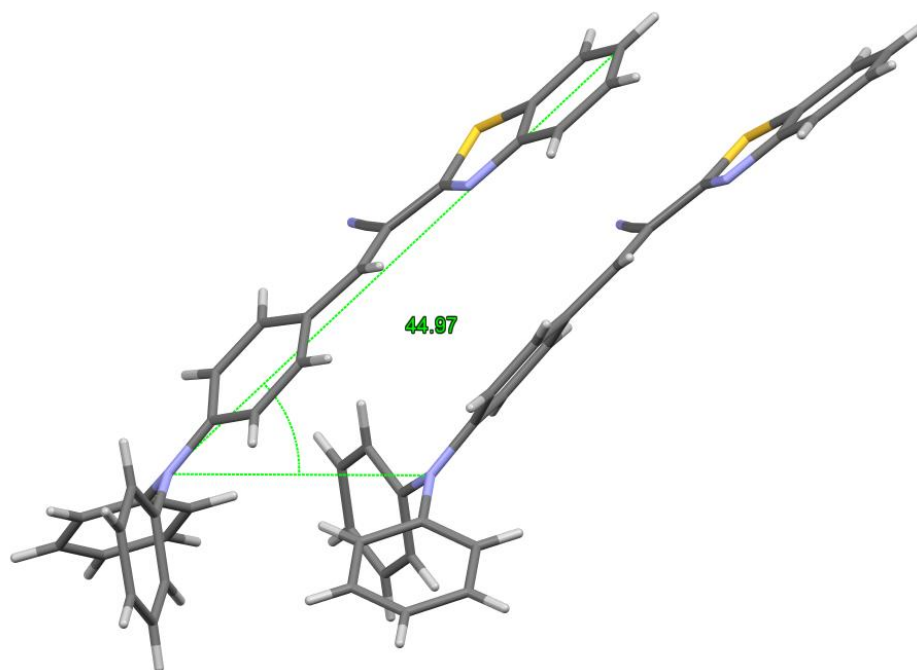


Figure 39 : Unité élémentaire (deux molécules) vue selon l'axe cristallographique *c*.

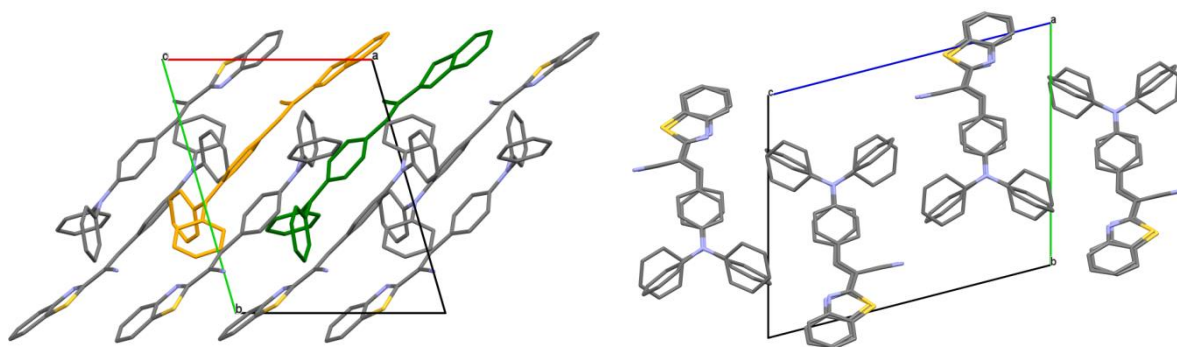


Figure 40 : Arrangement cristallin du composé **2** ; vue selon l'axe cristallographique *c* (gauche) montrant l'agrégat J en escalier (les deux molécules de l'unité élémentaire sont en orange et en vert), vue selon l'axe cristallographique *a* (droite) montrant les différents feuillets.

2.5.3.2. Composé 3

A l'inverse, dans le cas du composé **3**, deux molécules se positionnent tête-bêche très proche l'une de l'autre (3.31 Å) pour former un dimère (**Figure 41**) typique d'un agrégat H. Les deux molécules ne sont pas parfaitement superposées mais légèrement décalées l'une par rapport à l'autre. Un dimère est également tête-bêche avec ses voisins et ainsi de grandes piles se forment selon l'axe cristallographique *b*. La aussi ceci est en accord avec les mesures de fluorescence puisque ce composé n'est que très faiblement émissif avec une fluorescence décalée dans le bleu en comparaison des autres molécules avec un groupement N-donneur. De plus, le spectre d'excitation à l'état solide est large ce qui correspond selon notre analyse à un agrégat de type H (**Figure 42**).

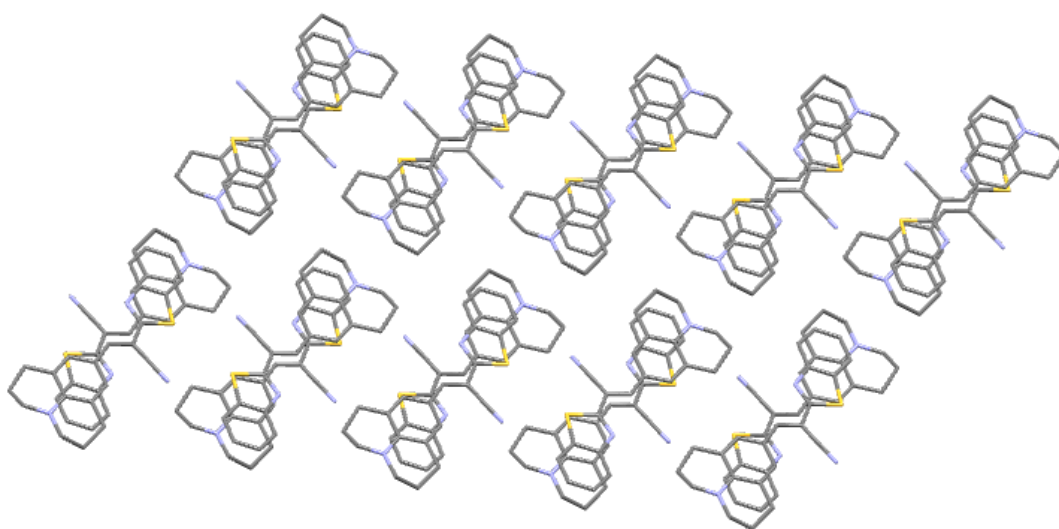


Figure 41 : Arrangement cristallin du composé **3**, vue selon l'axe cristallographique *b*.

Dans le cas des composés **2** et **3**, une nette différence est observée aussi bien dans les données spectroscopiques que dans les données des structures cristallines, alors que les deux molécules apparaissent comme très proches, seul le groupement donneur est modifié (*N,N*-diphényle pour le composé **2** et julolidine pour le composé **3**). Les études spectroscopiques (**Figure 42**) pour le composé **3** ont montré une faible fluorescence à l'état solide (rendement quantique à l'état solide <1%) et un décalage dans le bleu, alors que dans le cas du composé **2**, la fluorescence est très intense à l'état solide (rendement quantique 18 % à 640 nm) dans le rouge. Les études cristallographiques, ont montré que le groupement benzothiazole jouait un rôle très important dans les deux cas. Une petite modification (passage du groupement diphénylamine au groupement julolidine) induit donc, dans ce cas, des structures et des interactions totalement différentes, conduisant respectivement à la formation d'agrégats *J* et *H* et donc à des mesures de rendements quantiques très différentes (18 et <1 % respectivement).

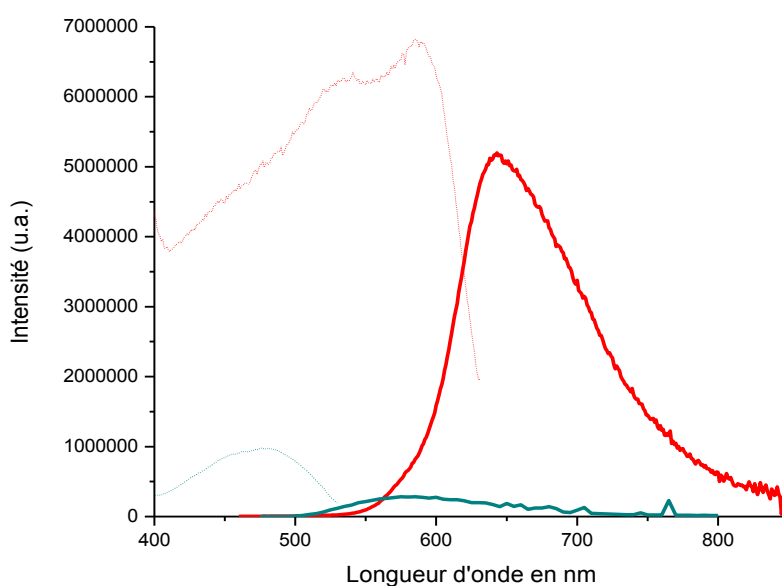


Figure 42 : Comparaison des spectres de fluorescence à l'état solide du composé **2** (rouge) et **3** (bleu).

2.5.3.3. Composé 1

L'arrangement cristallin de **1** est complexe et il est difficile de faire ressortir un motif particulier. L'observation détaillée met cependant en évidence plusieurs liaisons hydrogène faibles entre les azotes du groupement accepteur d'une molécule (azote du nitrile et azote du cycle benzothiazole) et les hydrogène du cycle benzothiazole de son plus proche voisin

(2,642 Å et 3,136 Å) qui est orienté anti-parallèle. Une interaction entre l'atome de soufre du groupe benzothiazole et l'atome de soufre d'une troisième molécule anti-parallèle ($d_{S-S}=3,560$ Å) est également observée (**Figure 43**). Ces interactions créent ainsi des rubans, dont l'empilement selon l'axe cristallographique b s'agence en escalier typique d'un agrégat J .^[31] Or d'après les analyses spectroscopiques, le composé **1** possède une intense fluorescence (rendement quantique 11 %) à 605 nm à l'état solide. De plus, le spectre d'excitation à l'état solide présente une bande fine, associé à un agrégat de type J . L'analyse structurale semble donc là encore correspondre aux résultats des études spectroscopiques.

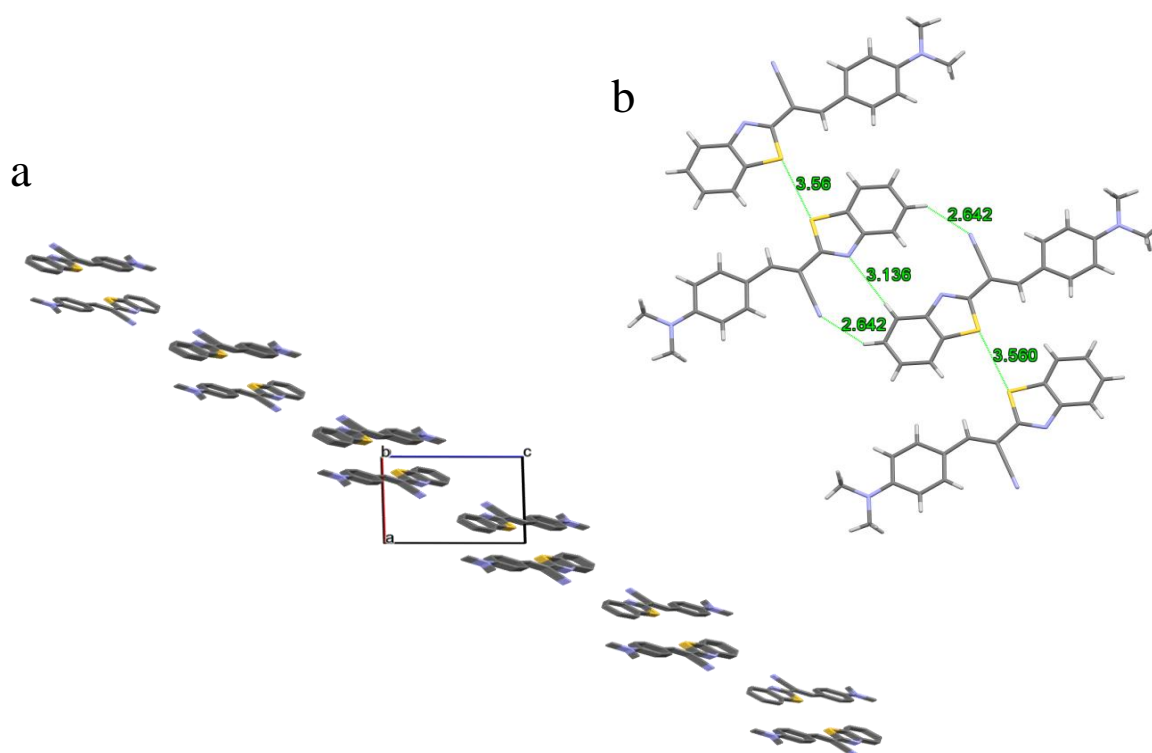


Figure 43 : a) Arrangement cristallin du composé **1**, selon l'axe cristallographique b . b) Vue des interactions privilégiées.

2.5.3.4. Composés 12, 24 et 14

L'analyse des structures cristallographiques confirme la présence d'agrégats J dans la maille cristalline pour les composés fluorescents en poudre **12** et **24**, pour lesquels un arrangement en chevron (**12**, **Figure 44**) ou en marche d'escalier (**24**, **Figure 45**) sont observés. Ces composés sont tous les deux fluorescents (respectivement 4% et 12% pour des longueurs d'onde d'émission de 675 et 620 nm) et les spectres d'excitation présentent également une bande relativement fine.

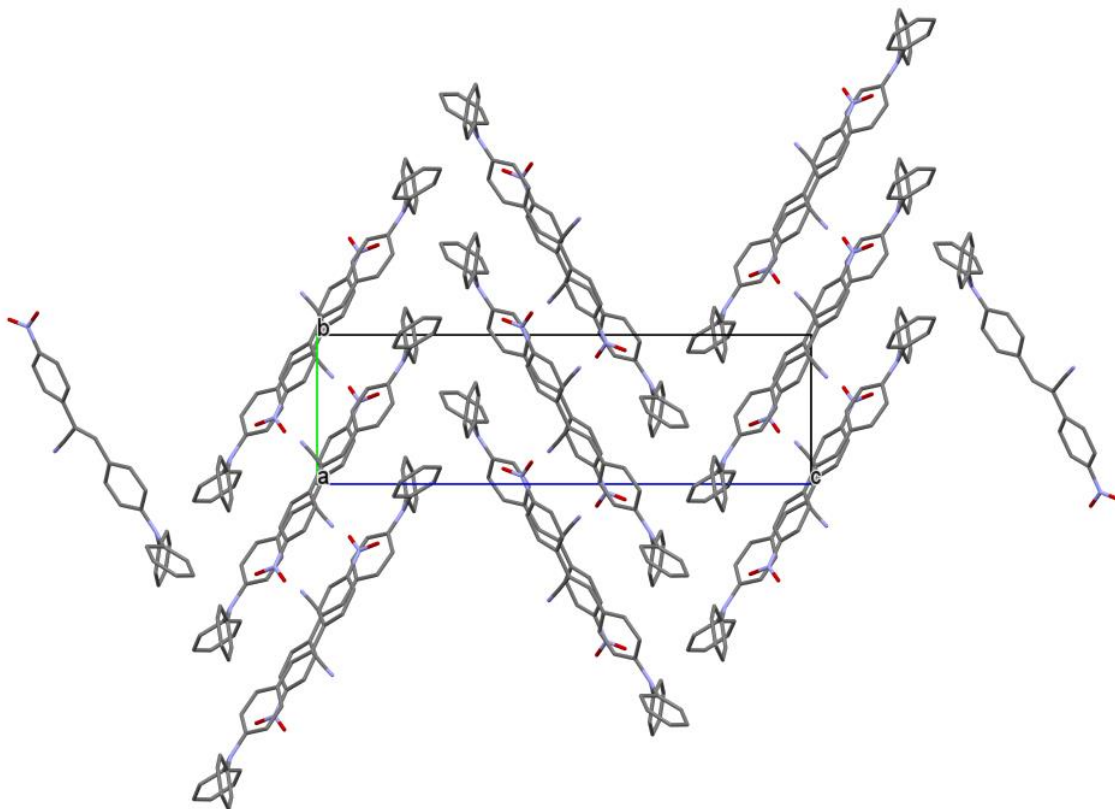


Figure 44 : Arrangement cristallin de la maille du composé **12**, vue selon l'axe cristallographique *a*.

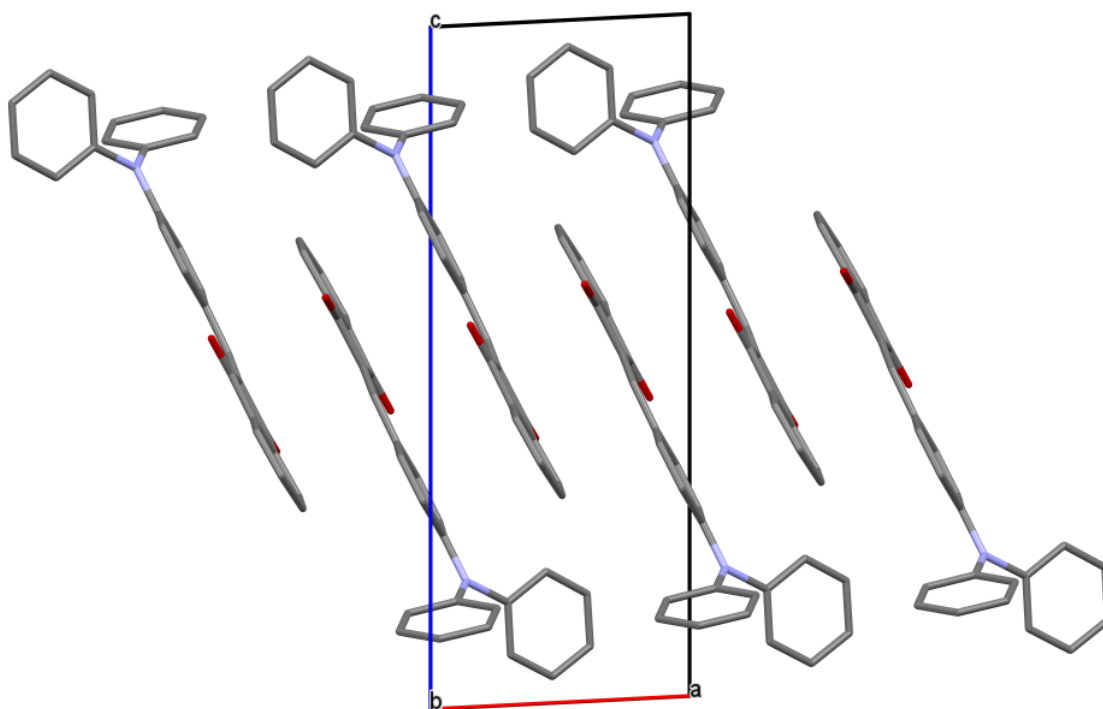


Figure 45 : Arrangement cristallin du composé **24**, vue selon l'axe cristallographique *b* montrant l'arrangement en échelle.

Le composé **14**, en revanche, cristallise en formant des plans, dont toutes les molécules sont orientées dans la même direction. L'angle de glissement d'une molécule à l'autre est quasiment 90° , c'est-à-dire typique d'un agrégat *H*, l'azote du nitrile formant une liaison hydrogène avec l'atome d'hydrogène du système π -conjugué de son plus proche voisin ($d_{N-H}=2,433 \text{ \AA}$). Les plans se superposent anti-parallèlement selon la direction *c* créant une structure lamellaire. Pour ce composé, les études spectroscopiques ont montré une très faible fluorescence à l'état solide (rendement quantique inférieur à 1%). De plus, le spectre d'excitation est large, typique d'un agrégat de type *H*. Les études spectroscopiques et l'analyse structurale sont donc la encore concordantes.

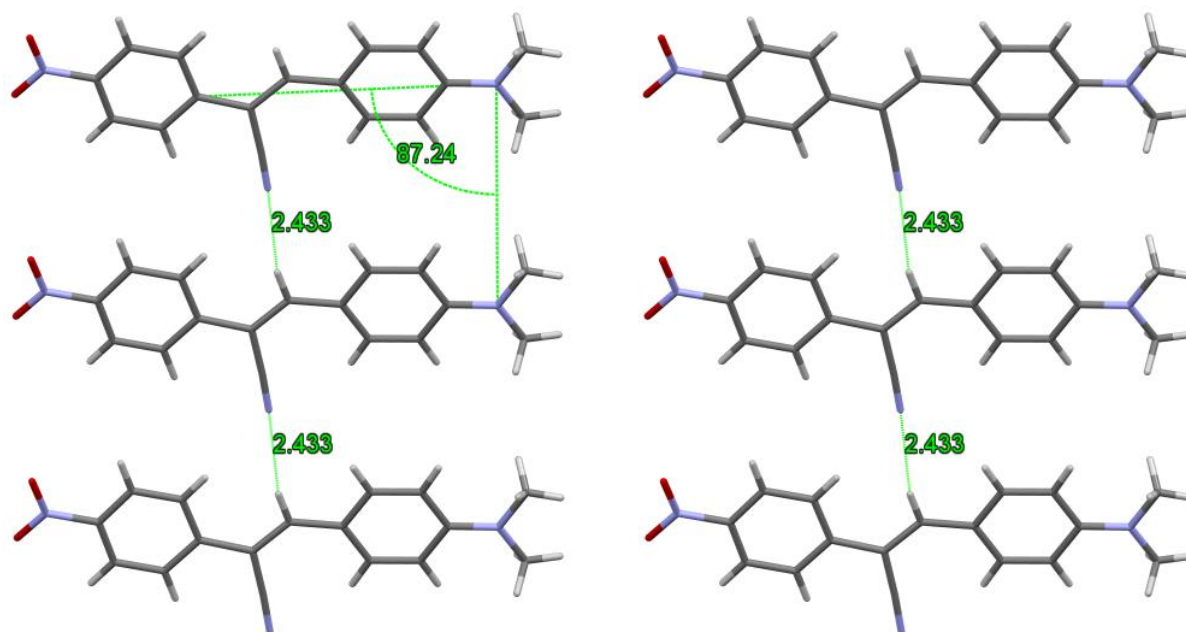


Figure 46 : Arrangement cristallin du composé **14** vu selon l'axe cristallographique *c*.

En conclusion, on confirme dans les cas présents que, lorsque l'on trouve un agrégat de type *H*, la fluorescence est faible à l'état solide (**Tableau 8**). Cependant, lorsqu'il s'agit d'agrégat de type *J* la fluorescence est intense mais avec une variation de 4 à 18 %. On peut noter également, que pour les composés étudiés, la structure de type cyanostilbène n'influence pas réellement la fluorescence à l'état solide. Pour chaque molécule les interactions sont toutes différentes, il est donc actuellement impossible de corréler la fluorescence à l'état solide avec les études cristallographiques pour en tirer des conclusions générales. Il est néanmoins possible de comprendre et d'interpréter les résultats spectroscopiques avec les études cristallographiques pour des cas particuliers, comme pour les composés **2** et **3**.

Molécules	Φ_F (%)	agrégats
1	11	<i>J</i>
2	18	<i>J</i>
3	<1	<i>H</i>
12	4	<i>J</i>
14	<1	<i>H</i>
24	12	<i>J</i>

Tableau 8 : Récapitulatif molécule, rendement quantique à l'état solide et type d'agrégats formés.

3. Premières conclusions

Cette première série a permis d'obtenir plusieurs molécules fluorescentes à l'état solide avec des rendements de fluorescence variant de 3 à 18 % et, pour certaines, orientées vers le proche infrarouge (**Tableau 9**).

Molécules	λ_{exc} (nm) ^p	λ_{em} (nm) ^p	Φ_F (%) ^p	T _{fus} (°C)	Solubilité (M)
1	540	605	11	229	1×10^{-3}
2	450	640	18	173	$1,5 \times 10^{-1}$
4	565	700	5	--	1×10^{-3}
6	500	645	4	172	5×10^{-2}
9	450	545	3	140	3×10^{-2}
11	455	545	11	128	2×10^{-1}
10	450	570	3	141	$1,3 \times 10^{-1}$
12	575	675	4	146	1×10^{-2}
15	490	560	18	164	$2,5 \times 10^{-2}$
16	530	605	8	161	1×10^{-2}
17	420	640	15	117	4×10^{-2}
24	510	620	12	214	1×10^{-2}

Tableau 9 : Propriétés de fluorescence à l'état solide, des chromophores les plus intéressants, avec les températures de fusion (°C) et leur solubilité (mol/L) dans le THF.

Comme il est constaté les molécules qui fluorescent à plus de 3 % (selon notre méthode) n'ont pas toujours un point de fusion ou une solubilité assez élevés pour pouvoir convenir à notre projet. Parmi les vingt-quatre composés synthétisés, seules les molécules **1**, **2**, **16** et **24** avec une émission de fluorescence supérieure à 600 nm des températures de fusion supérieures à 160°C et des solubilités importantes dans le THF seront sélectionnées pour la suite de notre projet (**Figure 47**).

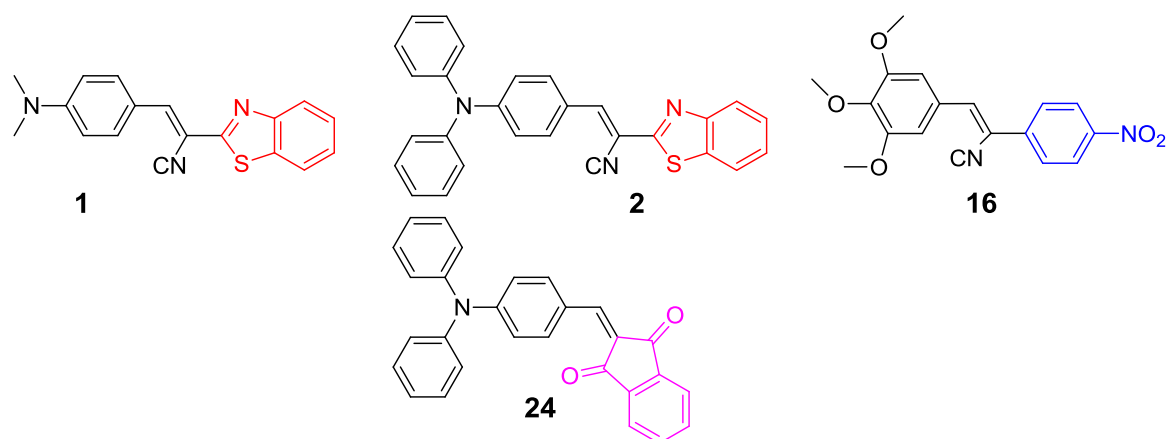


Figure 47 : Composés de la première famille retenus pour la suite du projet.

4. Etude d'une seconde famille de fluorophore

4.1. Présentation

La seconde partie de mon travail, en termes d'ingénierie moléculaire, a été consacrée à l'étude de différentes molécules comportant un groupement carbazole. Ce groupement, bien que moins efficace comme donneur d'électrons que le groupement diphenylamine, a déjà été utilisé pour des applications d'optique non linéaire,[40] notamment en électro-optique, en électrophotographie,[41] ou dans des dispositifs électroluminescents comme les OLED, où ce sont ses propriétés de photoconduction qui sont recherchées.[42]

En ce qui concerne la fluorescence à l'état solide, plusieurs études récentes ont montré l'intérêt de ce groupe pour obtenir de bons fluorophores. [15e, 18c, 18f, 23e, 43] notamment en tant que groupement donneur d'électrons dans de petites structures dipolaires.[18c, 23e, 43b] Ont particulièrement attiré notre attention les travaux de Koh et Kim [23e], dans lesquels le carbazole est relié à un groupe très fortement accepteur d'électron comme l'indanédione permettant d'atteindre des rendements quantique de fluorescence de près de 20 % pour des longueurs d'onde d'émission de 740 nm. De plus, les températures de fusion (quand elles sont

indiquées) apparaissent comme très élevée [44] pour ce genre de petites molécules dipolaires où le carbazole est incorporé en groupement donneur d'électron, ce qui est primordial pour notre projet.

Ainsi, nous avons conçu les molécules dérivées du carbazole décrites dans la **Figure 48**, et qui comportent différents groupements électro-accepteurs forts. En plus des groupements utilisés précédemment dans la première série (1,3-benzothiazol-2-ylacétonitrile, 4-nitrophényl-2-ylacétonitrile, 4-pyridyl-2-ylacétonitrile, TCF), d'autres groupements électro-attracteurs plus originaux ont été choisis (monocyanofurane ou **MCF** pour les composés **28**, **36** et **39**, et des dérivés du **MCF** pour les composés **29**, **31**, **32**, **37**, **41**, **42**). Surtout, le carbazole possède deux positions qui peuvent facilement être fonctionnalisées : l'atome d'azote et la (les positions) 3 (et 6) sur l'un (ou les deux) cycles. Dans le premier cas, l'azote est directement connecté à un troisième cycle aromatique duquel part le système π -conjugué allant vers l'électro-attracteur (composés **38-42**). Le carbazole est ainsi proche d'un groupement triphénylamine, mais dans lequel les deux cycles hors du système conjugué, étant relié entre eux, sont contraints dans le même plan. A la différence, dans le cas d'une triphénylamine, comme l'ont confirmé les structures cristallographiques précédentes, les deux cycles ne peuvent être dans un même plan à cause de l'encombrement stérique et adoptent une configuration dite « en hélice ». Dans le cas d'une fonctionnalisation de la position 3, l'azote est substitué par un groupe éthyle, moins encombrant qu'un phényle et tous les cycles du carbazole participent à la conjugaison, ce qui l'allonge et devrait décaler l'émission vers le rouge. Notons que les positions équivalentes 3 et 6 peuvent être fonctionnalisées pour donner des composés dipolaires unidirectionnels (une branche) ou de symétrie C_{2v} (deux branches). La fonctionnalisation sur l'azote apporte une autre possibilité d'ingénierie, notamment pour augmenter la solubilité si celle-ci n'est pas suffisante avec un groupe éthyle.

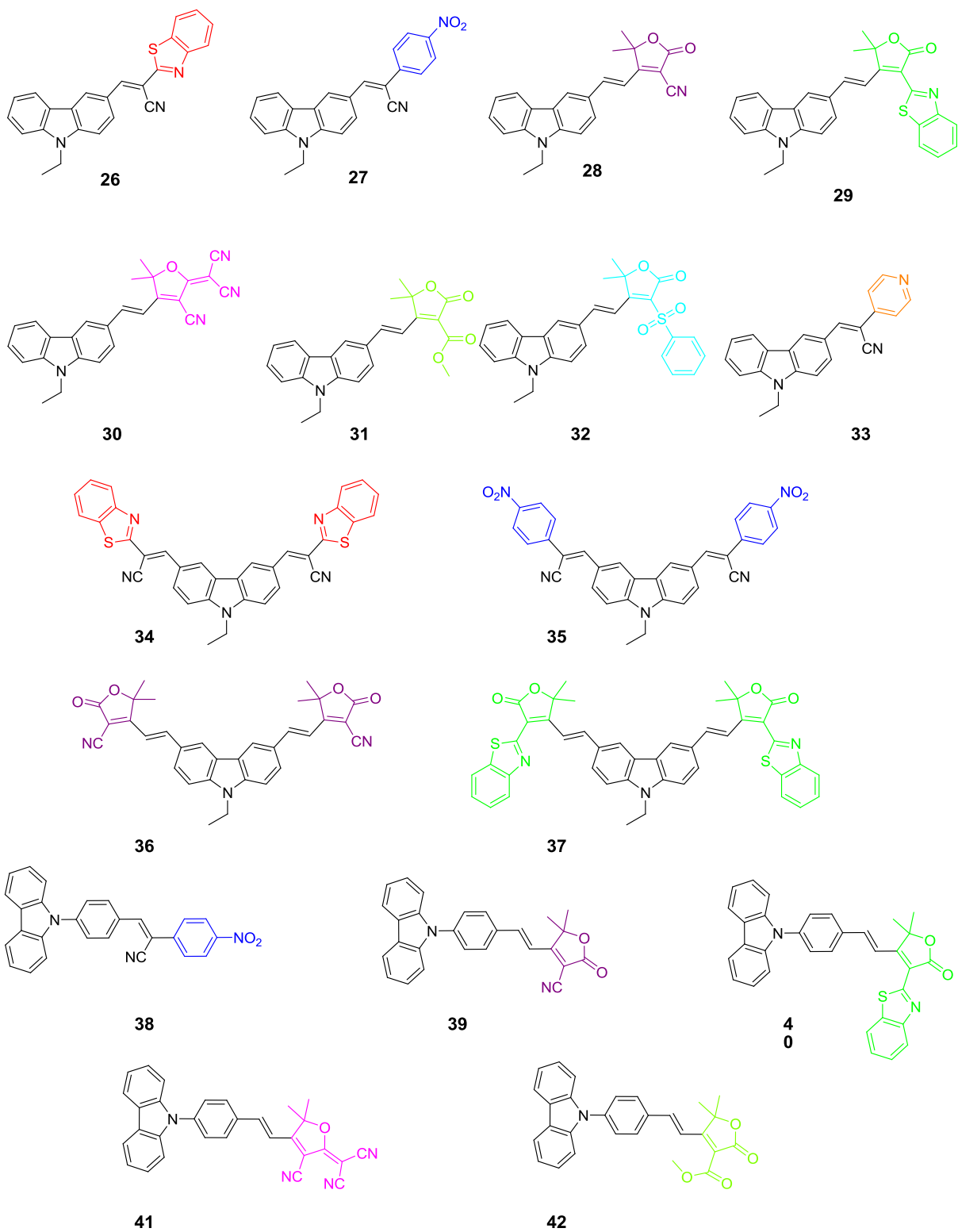


Figure 48 : Deuxième série de fluorophores étudiés, construits sur un groupe électro-donneur carbazole.

4.2. Synthèse des molécules

4.2.1. Synthèse générale

Tous les composés de la **Figure 48** ont été obtenus de la même manière que pour les composés de la première série, par formation de la double liaison par une condensation de Knoevenagel entre un composé possédant un méthylène activé et l'aldéhyde adéquat (**N-Carb**, **D** ou **M**, **Figure 49**). Il s'agit donc, comme précédemment, de synthétiser les deux synthons correspondants. Les groupements donneurs ont été synthétisés par une réaction de Vilsmeier Hack. De plus, pour les groupements attracteurs, un véritable travail a été réalisé sur la synthèse de dérivés du monocyanofurane (**MCF** et dérivés, **Figure 49**). La synthèse détaillée de ces synthons est décrite dans les paragraphes suivants.

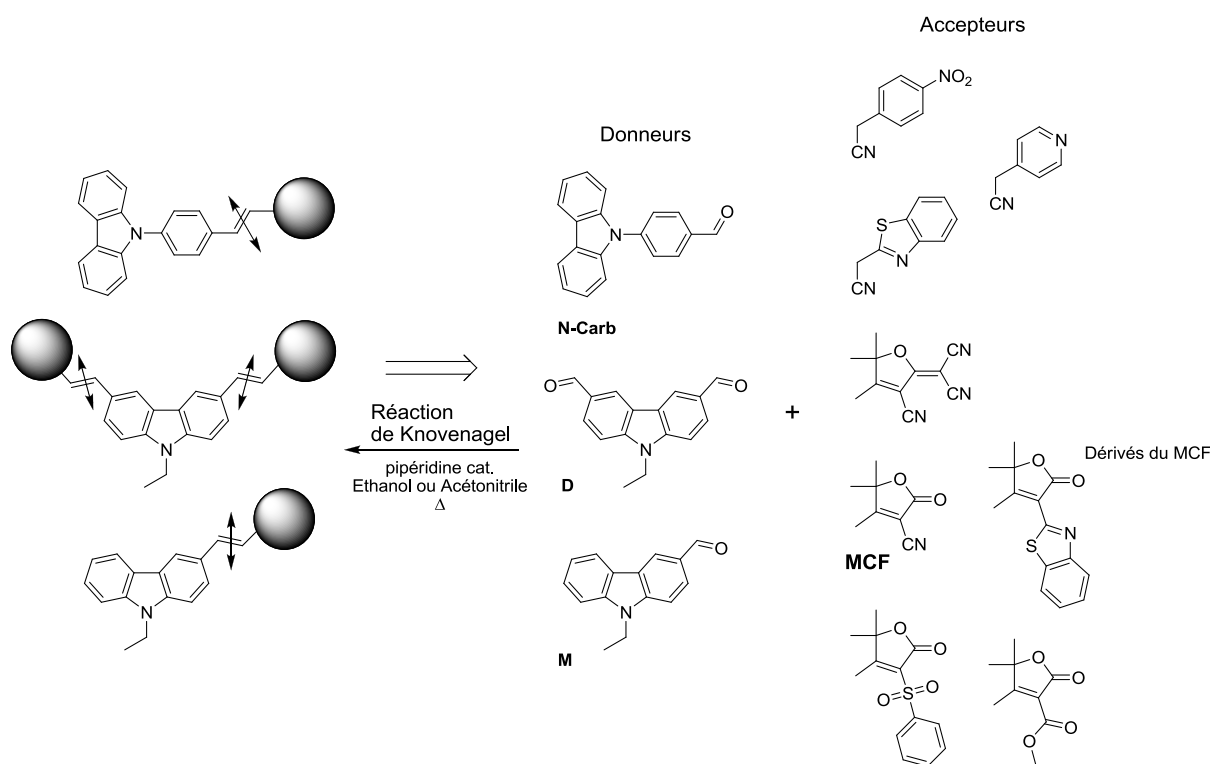


Figure 49 : Schéma rétro-synthétique des fluorophores dérivés du carbazole.

4.2.2. Synthèse des groupements donneurs

La synthèse du 9-éthyl-9*H*-carbazole-3,6-dicarbaldéhyde (**D**) directement à partir du 9-éthyl-9-carbazole par une double formylation de Vilsmeier Hack est décrite [45], mais un mélange de produits mono- (**M**), bi- (**D**) et tri-substitué (**T**) est obtenu (**Figure 50**). De même, en partant du 9-éthyl-9-carbazole-3-carbaldéhyde qui est commercial, un mélange des trois produits est obtenu. A noter qu'il est nécessaire de purifier les lots commerciaux pour éviter qu'un précipité se forme et complique les purifications. Il semble qu'au contraire de ce que nous avons observé sur la triphénylamine, la troisième substitution à partir de **D** est très facile. La séparation des produits **D** et **T** par chromatographie étant délicate, nous avons donc cherché à optimiser les conditions pour n'obtenir que les produits **M** et **D**. Les conditions sont résumées dans le **Tableau 10**. Le meilleur rendement (25 % après purification) est ainsi obtenu par une réaction en deux étapes en partant du 9-éthyl-9-carbazole et en isolant le 9éthyl-carbazole-3, 6-dicarbaldéhyde **M**.

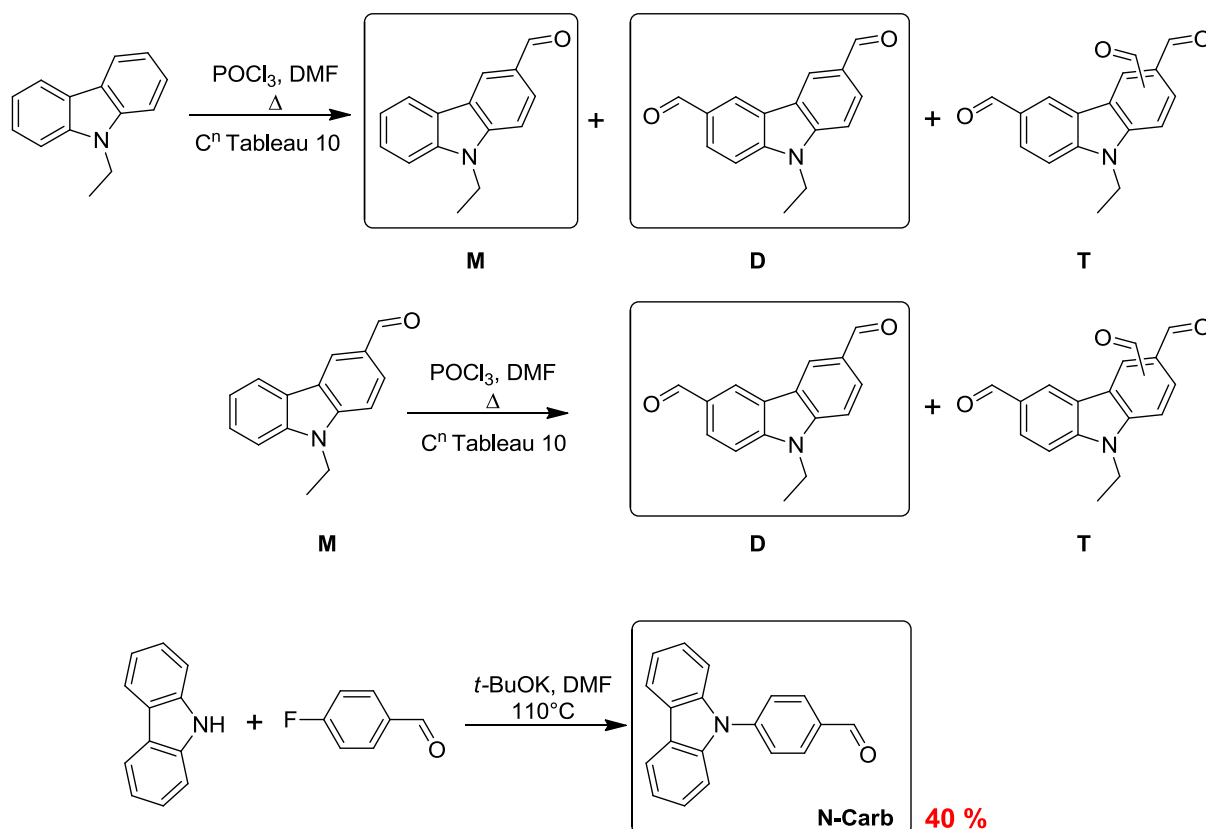


Figure 50 : Synthèse des aldéhydes dérivés du carbazole.

Conditions à partir	POCl ₃	Conditions réactionnelles	Commentaires	Rendement di-subst.
9-éthyl-9-carbazole	6,3 eq	90°C / 3 j	M + D + T	7%
9-éthyl-9-carbazole	6,3 eq	95°C / 2 j	M + D + T	5%
9-éthyl-9-carbazole	6,3 eq	80°C / 3 j	M + D + T	14%
9-éthyl-9-carbazole	10 eq	50°C / 3 j	M + D	7%
9-éthyl-9-carbazole	20 eq	65°C / 2 j	Rien	--
9-éthyl-9-carbazole-3-carbaldéhyde ¹	3,8 eq	85°C / 3 j	Dépôt solide, insoluble	--
9-éthyl-9-carbazole-3-carbaldéhyde ¹	3,8 eq	90°C / 2 j	Dépôt solide, insoluble	--
9-éthyl-9-carbazole-3-carbaldéhyde ²	8,4 eq	90°C / 2 j	M + D	25%

Tableau 10 : Conditions expérimentales pour l'obtention du 9-éthyl-9-carbazole-3,6-dicarbaldéhyde. ¹ Produit commercial, ² produit purifié.

Le composé 4-(9*H*-carbazol-9-yl)benzaldéhyde (**N-Carb**) quant à lui a été synthétisé par une réaction de substitution nucléophile aromatique de l'atome de Fluor du 4-fluorobenzaldéhyde par le carbazole, tous deux commerciaux. Cette réaction conduit à des rendements médiocres de l'ordre de 40 % et la purification par chromatographie sur colonne de silice est fastidieuse. Ce composé n'est pas stable et se dégrade à moyen terme. C'est pourquoi, une fois synthétisé et purifié, il est utilisé directement pour la réaction suivante, à savoir, la réaction de condensation de Knoevenagel avec le groupement électro-accepteur correspondant.

4.2.3. Synthèse des groupements attracteurs

Seule la synthèse des nouveaux groupes électro-attracteurs dérivés du monocyanofurane (**MCF**) à partir de la 3-hydroxy-3-méthyl-butan-2-one sera détaillée ici (**Figure 51**). Le **MCF** est tout d'abord obtenu par réaction d'un équivalent de cyanoacétate d'éthyle sur la 3-hydroxy-3-méthyl-butan-2-one en présence de méthanolate de sodium dans le méthanol avec un excellent rendement (82 %). Le groupe nitrile du **MCF** est ensuite converti en benzothiazole par réaction du 2-amino-thiophénol en milieu acide. Les analogues de **MCF** porteurs d'une fonction ester ou benzosulfonyl sont quant à eux obtenus directement

à partir de la 3-hydroxy-3-méthyl-butan-2-one par réaction avec le malonate de diméthyle ou avec l'esther méthylique de l'acide 2-(phénylesulfonyl)acétique avec des rendements moyens.

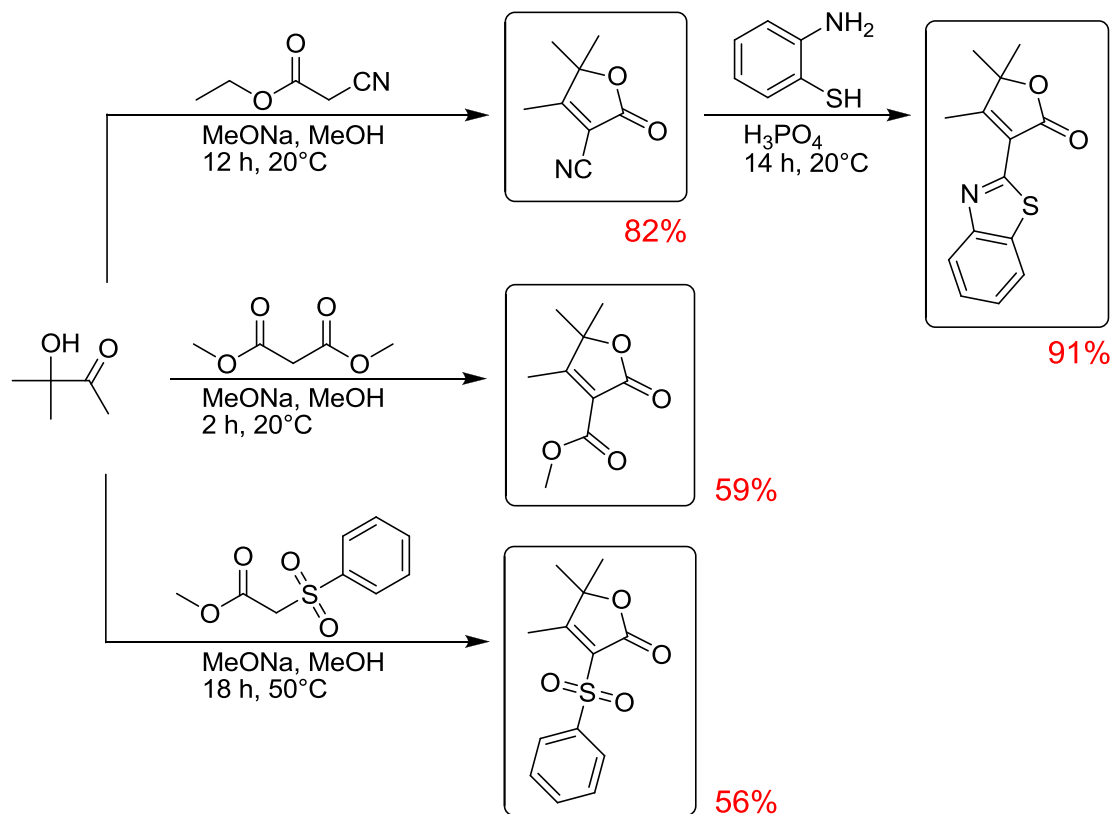


Figure 51 : Synthèse de nouveaux groupes électro-attracteurs.

Tous les composés de la **Figure 48** sont ensuite obtenus à partir de ces différents intermédiaires par condensation de Knoevenagel. Les propriétés optiques de ces nouveaux fluorophores ont ensuite été étudiées pour comparer ces résultats aux études de la première série des composés.

4.3. Etude des propriétés spectroscopiques des fluorophores

4.3.1. Etude de la fluorescence en solution

L'ensemble des propriétés optiques en solution de ces composés est résumé dans le **Tableau 11**.

Molécules	λ_{\max} (nm)	ϵ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})	Φ_F (%)
26	420	20 300	505	4007	<1
27	425	21 300	620	7400	<1
28	460	22 300	545	3390	<1
29	450	14 750	575	4831	<1
30	510	24 000	735	6002	<1
31	420	22 600	530	4942	<1
32	420	26 100	545	5461	<1
33	450	23 600	520	2991	<1
34	435	42 400	495	2683	<1
35	430	47 800	590	6307	<1
36	460	50 300	540	3221	<1
37	470	41 700	565	3577	<1
38	405	23 150	655	9424	<1
39	420	20 250	620	7624	<1
40	420	22 700	590	6860	<1
41	460	29 700	685	7140	<1
42	400	23 200	575	7609	<1

Tableau 11 : Propriétés spectroscopiques en solution dans le dichlorométhane.

4.3.1.1. Absorption

Les spectres d'absorption linéaire des chromophores de la deuxième série ont été enregistrés (**Figure 52**, **Figure 53** et **Figure 54**) dans le dichlorométhane à une concentration de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-6} mol/L. Les maxima d'absorption pour cette série de chromophores varient de 400 à 510 nm, respectivement pour le composé **42** et le composé **30**, se déplaçant vers le rouge lorsque la force du groupe électro-accepteur augmente et couvrant ainsi une

large gamme spectrale. Ces bandes restent caractéristiques des molécules à transfert de charge.

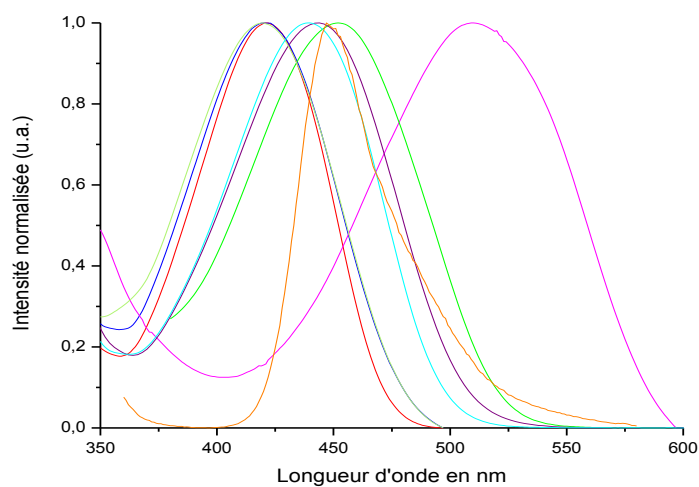


Figure 52 : Spectres d'absorption dans le dichlorométhane des composés mono substitué : **26** (rouge), **27** (bleu), **28** (violet), **29** (vert), **30** (magenta), **31** (vert), **32** (cyan) et **33** (orange).

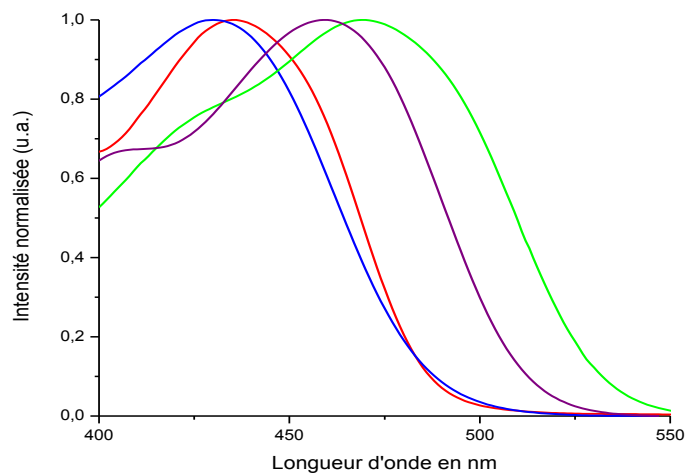


Figure 53 : Spectres d'absorption dans le dichlorométhane des composés di substitué : **34** (rouge), **35** (bleu), **36** (violet), **37** (vert).

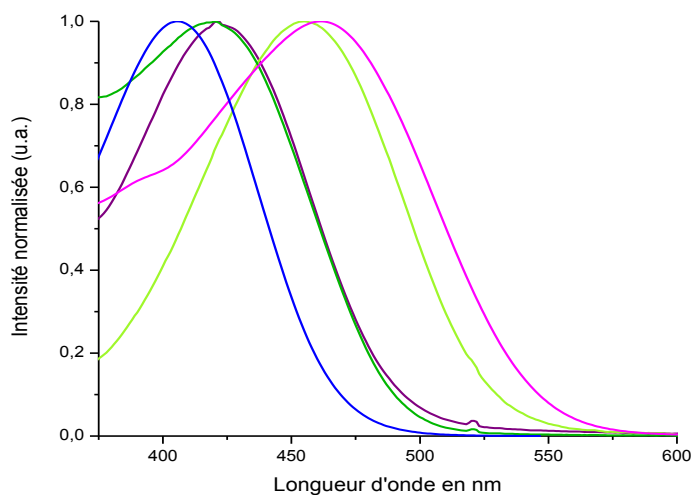


Figure 54 : Spectres d'absorption dans le dichlorométhane des composés mono substitué : **38** (bleu), **39** (violet), **40** (vert), **41** (magenta), **42** (vert).

4.3.1.2. Emission de fluorescence en solution

Les spectres d'émission sont obtenus dans le DCM, à des concentrations similaires, de l'ordre de de 10^{-5} à 10^{-6} mol/L (**Figure 55**, **Figure 56** et **Figure 57**).

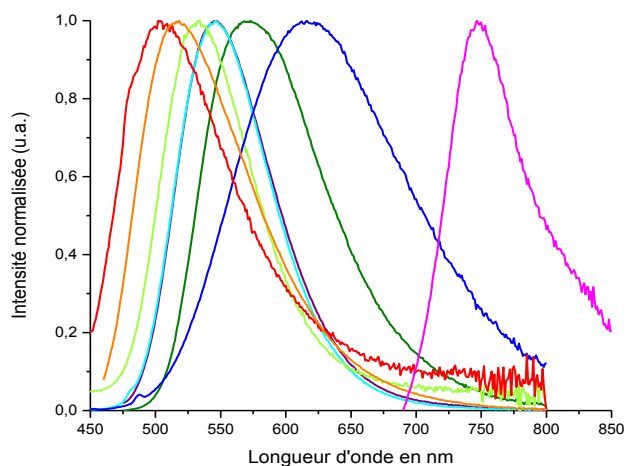


Figure 55 : Spectres d'émission dans le DCM des composés mono substitué : **26** (rouge), **27** (bleu), **28** (violet), **29** (vert foncé), **30** (magenta), **31** (vert), **32** (cyan), **33** (orange).

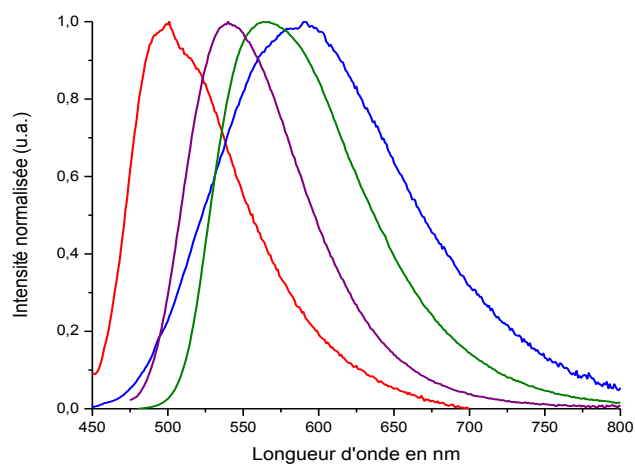


Figure 56 : Spectres d'émission dans le DCM des composés di substitué : **34** (rouge), **35** (bleu), **36** (violet), **37** (vert).

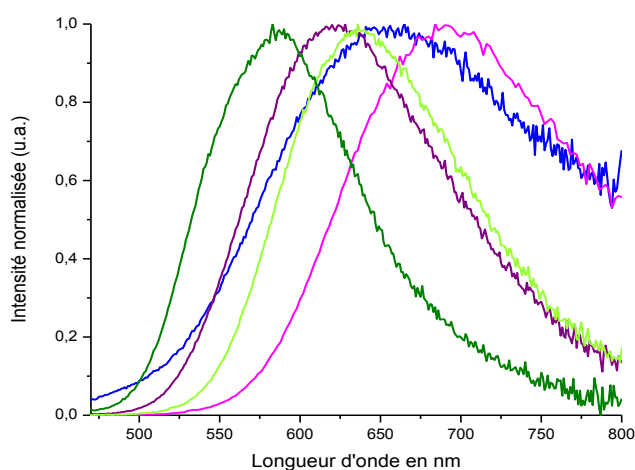


Figure 57 : Spectres d'émission dans le DCM des composés mono substitué : **38** (bleu), **39** (violet), **40** (vert foncé), **41** (magenta), **42** (vert).

La gamme spectrale pour les composés carbazole se situe entre 505 nm et 735 nm respectivement pour les composés **26** et **30** (Tableau 12). A groupement accepteur constant, on observe que les spectres d'émission, en solution, sont décalés vers le bleu lorsque l'on passe d'un composé mono substitué au composé di substitué, en accord avec les observations faites lors de la première série de composés. On remarque également que les groupements TCF (**30** et **41**) et nitrophényle (**27**, **35** et **38**) sont, comme précédemment, les meilleurs groupements accepteurs d'électrons. En effet, la position de la bande de fluorescence de ces cinq composés est déplacée vers le rouge en comparaison de tous les autres composés synthétisés.

Les rendements quantiques en solution ont été mesurés, en prenant comme référence la coumarine 153 (rendement de 43% dans le méthanol). Ils ont été calculés dans le DCM. Globalement nous constatons, comme pour les molécules synthétisées dans la première série, que les rendements quantiques en solution sont tous inférieurs à 1%. Ces composés fluorescent donc peu en solution, que ce soit des composés mono ou di substitués.

4.3.2. Etudes des propriétés spectroscopiques à l'état solide

4.3.2.1. Comparaison spectres d'excitation et d'émission en solution et sur poudre

Les maxima d'excitation et d'émission de fluorescence en solution et en poudre ont été comparés et résumés dans le **Tableau 12** :

Molécules	poudre		solution	
	λ_{exc} (nm)	λ_{em} (nm)	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)
26	495	620	420	505
27	530	605	425	620
28	515	585	460	545
29	550	625	450	575
30	685	770	510	735
31	525	585	420	530
32	540	600	420	545
33	470	575	450	520
34	510	610	435	495
35	510	630	430	590
36	570	630	460	540
37	570	625	470	565
38	490	610	405	655
39	530	625	420	620
40	550	610	420	590
41	665	735	460	685
42	435	535	400	575

Tableau 12 : Propriétés spectroscopiques en solution et en poudre.

Globalement, les maxima des pics d'émission en solide sont, pour la plupart, décalés vers le rouge en comparaison des spectres en solution dans le DCM, à l'exception des composés **27** et **28** où un déplacement vers le bleu est observé. Ces déplacements vont de 5 à 115 nm respectivement pour le composé **39** et pour les composés **26/34**. Ces constatations sont cohérentes à celles obtenues lors de l'analyse de la première série de composés.

4.3.2.2. Rendement quantique à l'état solide

Les rendements quantiques en poudre, ont été mesurés et sont répertoriés dans le **Tableau 13**.

Molécules	λ_{exc} (nm)p	λ_{em} (nm)p	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	Φ_F (%)p
26	495	620	4073	11
27	530	605	2339	28
28	515	585	2323	49
29	550	625	2182	8
30	685	770	1611	4
31	525	585	1954	34
32	540	600	1852	46
33	470	575	3885	10
34	510	610	3214	7
35	510	610	3735	4
36	570	630	1671	6
37	570	630	1544	6
38	490	610	4015	11
39	530	625	2868	24
40	550	610	1788	12
41	665	735	1432	2
42	435	535	4296	24
25 (ce travail)	460	620	5610	18
25*[23e]	460	630	5866	--

Tableau 13 : Données spectroscopiques des molécules à l'état solide (p : poudre) : **25** (résultats de notre travail) et **25***(résultats littérature).

En comparant les rendements quantiques à l'état solide, on constate que les valeurs sont nettement supérieures à celles mesurées lors de la première série de chromophores. En effet, les rendements obtenus précédemment étaient de l'ordre de 18 % pour les composés les plus fluorescents vers 640 nm (composés **1** et **17**). Les résultats pour cette série de chromophores, sont beaucoup plus élevés, de l'ordre de 45 à 49% pour les composés **28** et **32**.

De plus, la référence (composé **25**) synthétisée dans le but de pouvoir comparer nos molécules à celles des autres groupes qui étudient la fluorescence, à l'état solide, comprend également un groupement donneur éthyle carbazole mono substitué. A groupement donneur constant, on observe que quatre molécules (**27**, **28**, **31** et **32**) possèdent un rendement quantique de fluorescence plus important que ce composé (rendement compris entre 28 et 49% à 605 et 585 nm respectivement). Le choix de ces accepteurs semble donc être judicieux, afin d'obtenir des émetteurs à l'état solide.

4.3.3. Discussion

4.3.3.1. Etude des groupements accepteurs

A groupement donneur constant (**Figure 58**), on constate qu'à l'exception des chromophores **30** et **41**, qui émettent dans le proche infrarouge (émission à 770 et 735 nm respectivement), la majorité des émissions, à l'état solide, pour les chromophores de cette série se situe vers 600 nm (émission dans l'orange). De plus, on constate également, pour les composés **28**, **29**, **31** et **32**, que la substitution du groupement nitrile de l'accepteur **MCF** induit des modifications notables du rendement quantique : **28** (nitrile, $\Phi_F = 49\%$), **29** (benzothiazole, $\Phi_F = 8\%$), **31** (ester, $\Phi_F = 34\%$) et **32** (benzènesulfonyl, $\Phi_F = 46\%$).

L'étude des structures cristallines de ces molécules nous permettra probablement de comprendre ces phénomènes de fluorescence exaltée par modification d'une seule partie du groupement attracteur.

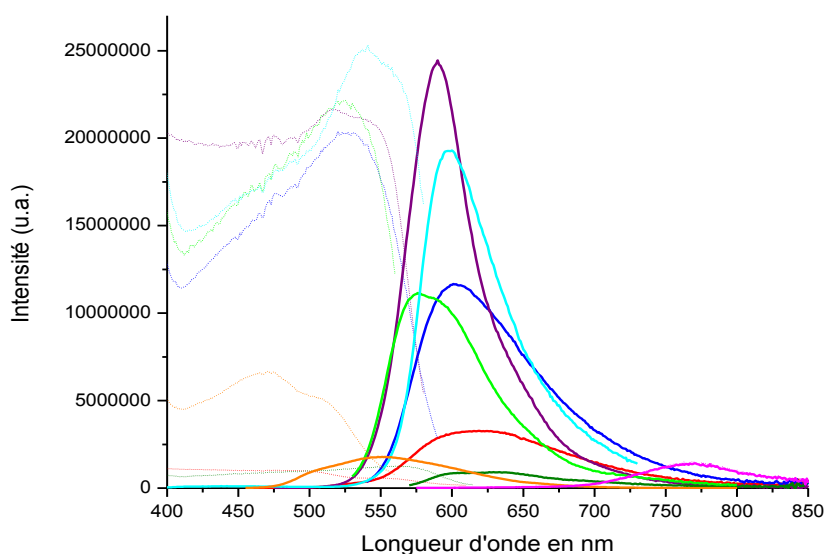


Figure 58 : Spectre d'émission des dérivés du carbazole mono substitué sur poudre **26** (rouge), **27** (bleu), **28** (violet), **29** (vert foncé), **30** (magenta), **31** (vert), **32** (cyan), **33** (orange).

4.3.3.2. Etude des groupements donneurs

Une analyse comparative de la substitution du groupement à transfert de charge en position C₃ (composés **27** et **28**) et sur l'azote (composés **38** et **39**) du carbazole (**Figure 59** et **Figure 60**), a permis, pour un groupement accepteur donné (groupement nitrophényle et MCF), de déterminer si la position du système conjugué avait une incidence sur la fluorescence à l'état solide.

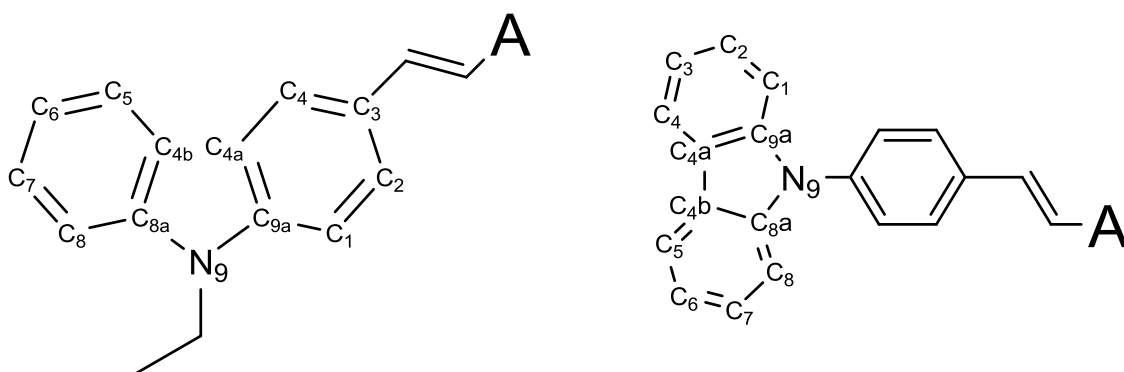


Figure 59 : Substitution des composés en position C₃ (composés **27** et **28**) et sur l'azote N₉ (composés **38** et **39**) du carbazole.

Les maxima d'émission pour ces quatre composés se situent dans la même gamme spectrale vers 600 nm. Cependant, on constate que les rendements quantiques de fluorescence

sont plus faibles lorsque la substitution du groupement carbazole est sur l'azote. En effet, à groupement accepteur fixe, les composés **27** et **38** ont des rendements respectivement de 28 et de 11 % (groupement nitrophényle) et les composés **28** et **39** respectivement de 49 et de 24 % (groupement MCF). Cette comparaison met en évidence que le choix de la position de la conjugaison est primordial.

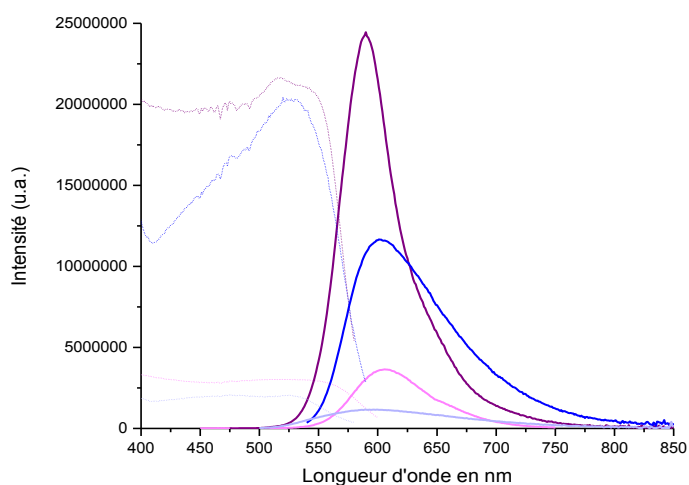


Figure 60 : Spectres d'excitation et d'émission des dérivés du carbazole mono substitué sur poudre : composé **27** (bleu), **38** (bleu clair), **28** (violet), **39** (violet clair).

Une comparaison, à groupement donneur constant (nitrophényle et TCF), est également possible avec le groupement phényle carbazole et le groupement diphénylamine. Les structures sont assez peu différentes, cependant de nombreuses différences sont constatées. Les spectres d'émission sont décalés vers le rouge, pour les composés diphénylamine en comparaison des composés phényles carbazoles (675 et 610 nm respectivement pour les composés **12** et **38**, 830 et 735 nm respectivement pour les composés **22** et **41**). Ces résultats sont cohérents, puisque le groupement diphénylamine est un meilleur donneur d'électrons que le groupement phényle carbazole. Néanmoins, on constate que les rendements quantiques sont plus faibles pour les groupements diphénylamine (4 et 11 % respectivement pour les composés **12** et **38**, < 1 et 2 % respectivement pour les composés **22** et **41**). Cela peut s'expliquer par leurs importants décalages dans le rouge.

En conclusion, cette famille de composés (dérivés éthyle carbazole mono substitués) semble être un choix judicieux pour obtenir des rendements de fluorescence à l'état solide conséquents, dans des gammes de longueur d'onde d'émission allant de 575 à 770 nm, respectivement pour les composés **33** et **30**. A noter que pour le composé **30**, une émission

très déplacée dans le proche infrarouge est constatée (émission 770 nm) avec un rendement quantique qui, même s'il est relativement faible, représente tout de même 4 %.

Une étude cristallographique de plusieurs de ces composés permettra probablement de comprendre les interactions à l'état solide qui influencent les propriétés de fluorescence, et ainsi, de valider ces observations.

4.4. Etude des propriétés cristallographiques

4.4.1. Cristallisation

Deux composés ont réussi à être cristallisés par des méthodes de diffusion en phase vapeur. Les solvants utilisés pour la formation des cristaux sont repris dans le **Tableau 14**.

Composés	Solvant/Non-solvant ^D
28	Chloroforme/isopropyl ether ^V
29	DCM/isopropyl ether ^V

Tableau 14 : Cristallisation des différents composés.

Le composé **28** étudié est l'un de ceux qui présente une fluorescence intense à l'état solide. Le composé **29**, au contraire est celui qui présente la fluorescence la plus faible, en comparaison, de toute la famille des éthyles carbazoles monosubstitués. L'étude des propriétés cristallographiques de ces deux molécules permettra probablement de comprendre leur efficacité relative de fluorescence à l'état solide.

4.4.2. Etude de la structure cristalline

Les données cristallographiques et les paramètres structuraux sont donnés dans l'annexe. Les résultats importants des longueurs de liaison et des angles de torsion du système π -conjugué (**Figure 61**) sont repris dans le **Tableau 15**.

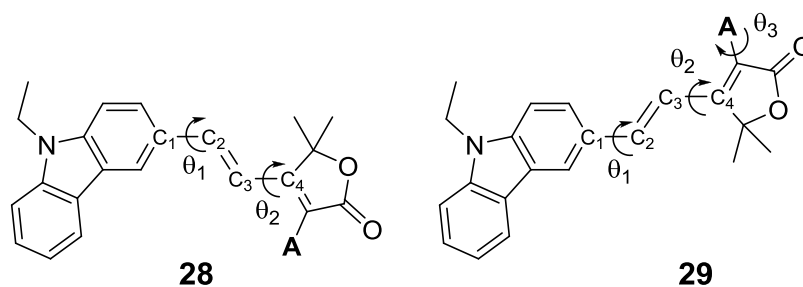


Figure 61 : Représentation moléculaire des atomes ainsi que les angles de torsion. Ensemble des atomes impliqués dans la conjugaison pour les composés **28**, **29**, **32**.

Composés	C ₁ – C ₂ (Å)	C ₂ = C ₃ (Å)	C ₃ – C ₄ (Å)	C ₄ = C ₅ (Å)	Θ ₁ (°)	Θ ₂ (°)	Θ ₃ (°)
28	1,458	1,350	1,438	1,357	7,9	4,2	-
29	1,457	1,340	1,435	1,354	9,7	6,2	21,3

Tableau 15 : longueurs de liaison sélectionnées et angles de torsion pour tous les composés.

On remarque tout de suite une différence dans les deux structures moléculaires au niveau de l'orientation relative des groupements électro-attracteurs par rapport au cycle carbazole. Pour le composé **28**, le nitrile se situe à l'opposé de l'éthyle porté par l'azote et du même côté que le 2^e cycle phényle du carbazole (conformation *s-cis s-trans* autour de C₁-C₂ et C₃-C₄ respectivement), alors que pour **29** c'est l'inverse avec deux rotations de 180° autour des liaisons C₁-C₂ et C₃-C₄ qui placent le groupement benzothiazole du même côté que le *N*-éthyl à l'opposé du phényle (conformation *s-trans s-trans*). Ceci induit une gêne stérique entre l'atome d'hydrogène porté par C₃ et le benzothiazole qui force ce dernier hors du plan moyen de la molécule (l'angle dièdre entre le plan du système conjugué et le plan du benzothiazole étant de 21,3°).

En revanche, les deux systèmes sont en configuration *s-trans s-trans* pour C₁-C₂ et C₃-C₄. Les mesures des longueurs de liaison et d'angles de torsion du pont π-conjugué montrent une bonne conjugaison entre le donneur et l'accepteur, ainsi qu'une bonne planéité avec les dix atomes formant le système conjugué captodatif situé quasiment dans le même plan (angles de torsion <10°).

En conclusion, les deux molécules sont conjuguées à l'état solide. Cela permet, d'expliquer les variations de longueurs d'onde d'émission entre les différents composés en fonction des groupements accepteurs. L'étude de l'agencement des molécules est importante afin de comprendre les variations des rendements quantiques à l'état solide des différents composés.

4.4.3. Etude des arrangements cristallins

La molécule **28**, cristallise suivant un système triclinique dans le groupe d'espace P-1, avec deux molécules par maille, tandis que la molécule **29** cristallise suivant un système monoclinique dans le groupe d'espace P2₁/c, avec quatre molécules par maille.

4.4.3.1. Composé 28

Comme le montre la **Figure 62**, les molécules forment des chaînes infinies dans lesquelles les dipôles sont alignés dans la même direction se suivant à environ 2,5 Å par une liaison hydrogène faible entre l'oxygène exocyclique du groupe MCF et un atome d'hydrogène du carbazole de la molécule suivante ($d_{O-H}=2,563$ Å). Une chaîne est reliée à la suivante, orientée anti-parallèle par une liaison hydrogène faible entre le nitrile et un atome d'hydrogène du carbazole voisin ($d_{N-H}=2,702$ Å). Ces chaînes forment ainsi des plans parallèles s'empilant selon la direction *a* et séparés d'une demi-longueur de maille (3,542 Å). Chaque plan peut être vu comme un arrangement en forme de mur de brique caractéristique d'une agrégation *J*. L'angle de glissement mesuré entre deux molécules proches de chaînes opposées est proche de 60°.

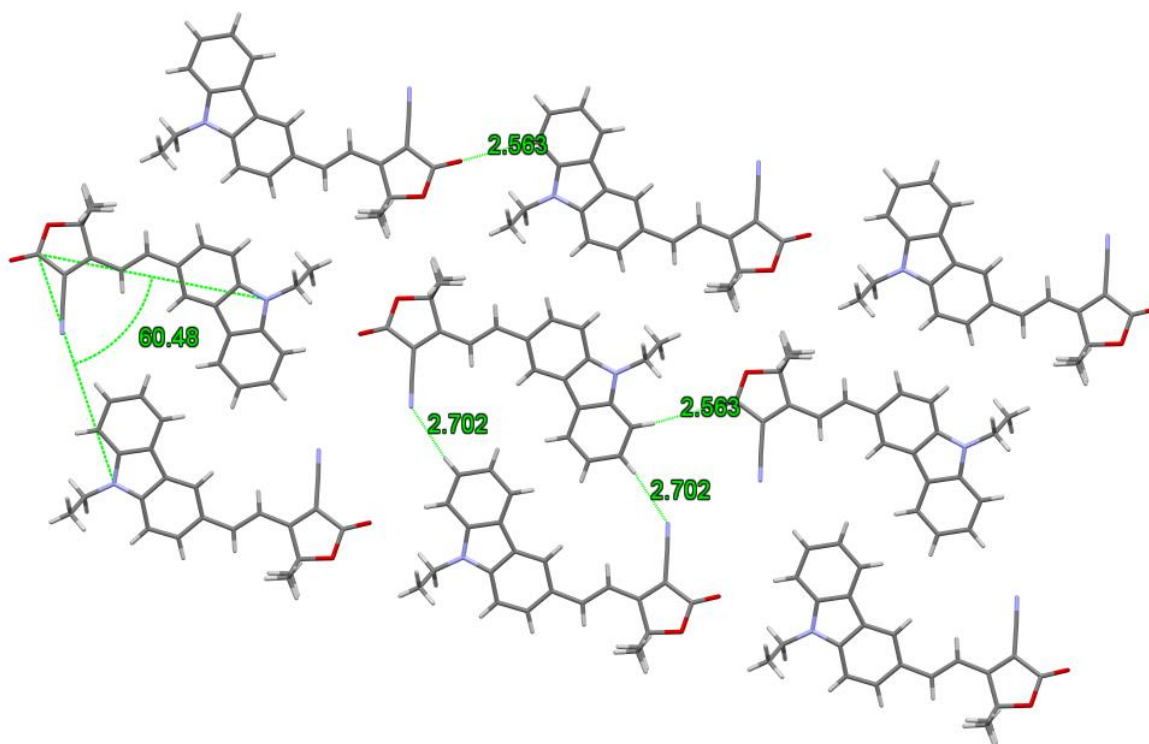


Figure 62 : Vue selon l'axe cristallographique *b* de l'empilement cristallin de **28** montrant l'arrangement en mur de brique.

Pour ce composé, l'analyse spectroscopique, à l'état solide, montre une émission intense à 585 nm, avec un rendement quantique à 49 %. L'analyse structurale indique que les molécules, d'un plan à l'autre sont décalées et qu'elles se positionnent en forme de brique. Cela correspond bien à un agrégat de type *J*, se corrélant donc avec les études spectroscopiques à l'état solide.

4.4.3.2. Composé 29

Le groupement nitrile du composé **28** ayant été remplacé par un cycle benzothiazole, on ne retrouve pas ici d'interaction hydrogène particulière. Quatre molécules composent la maille, alignées selon la direction *a* et qui s'opposent anti-parallèlement deux à deux selon les deux autres directions. L'empilement n'est pas compact et deux molécules superposées selon *b* sont inclinées formant un double chevron aigu orienté selon l'axe *a*. Des translations de ce motif à quatre molécules selon les 3 directions *a*, *b* et *c* constituent le réseau cristallin en un arrangement en mur de briques (**Figure 63**) légèrement inclinées.

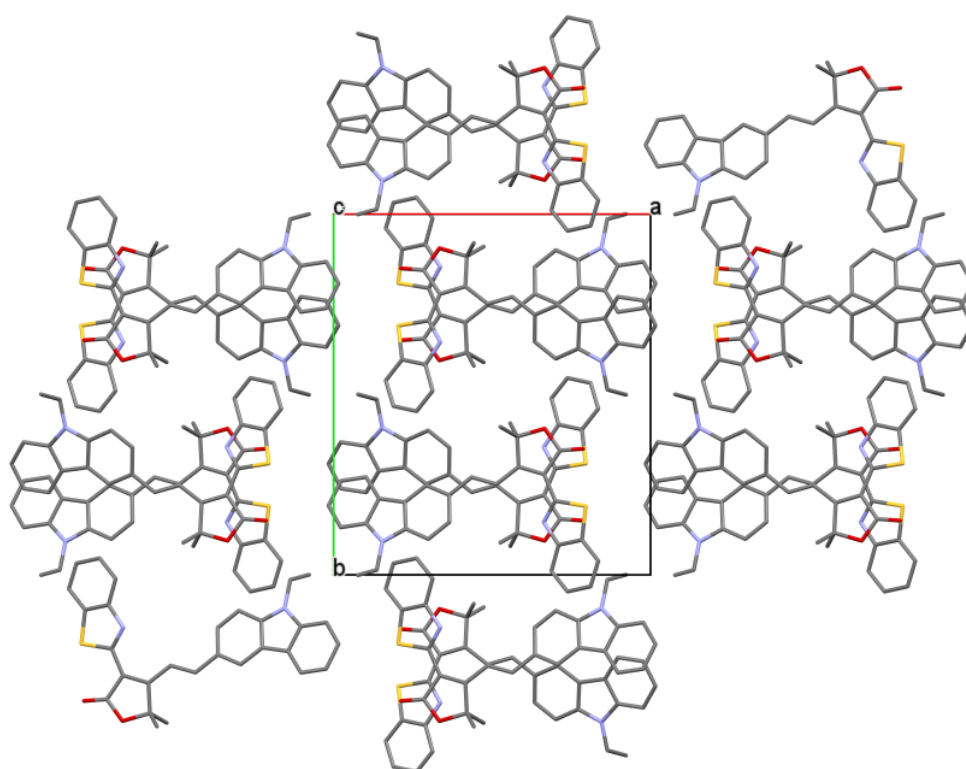


Figure 63 : Arrangement cristallin de la maille du composé **29**, selon l'axe cristallographique *c*.

4.4.3.3. Comparaison des arrangements cristallins des composés **2**, **12**, **28**, et **29**

D'après l'étude cristallographique, les groupements phényles portés par l'azote du N-donneur ainsi que le phényle du transmetteur, jouent un rôle important pour les composés **2** et **12**. Pour les composés **28**, **29**, le groupement carbazole semble avoir une moindre influence dans l'arrangement moléculaire, que le groupement *N,N*-diphénylamine. Ce sont surtout les

groupements accepteurs qui jouent un rôle important, en particulier le groupement MCF. En effet, le groupement MCF interagit de façon importante. Il en est de même, pour le composé **28**. En ce qui concerne le composé **29**, un rôle important est joué par le groupement MCF mais aussi par le groupement benzothiazole. Ceci pourrait expliquer le rendement quantique plus faible à l'état solide, (8% pour le composé **29**, et 49% pour le composé **28**).

Il semblerait donc que la fluorescence du composé **28** soit due à la faible interaction du groupement carbazole, en comparaison du groupement diphénylamine et à la forte interaction du groupement accepteur MCF. Néanmoins, n'ayant aucune structure avec un même groupement accepteur, et ayant peu d'exemples de structures, on ne peut généraliser ces observations.

Molécules	Φ_F (%)	agrégats
2	18	<i>J</i>
12	4	<i>J</i>
28	49	<i>J</i>
29	8	<i>J</i>

Tableau 16 : Présentation des molécules présentant des agrégats de type *J* ainsi que leur rendement quantique à l'état solide.

5. Conclusion

A la suite de cette ingénierie moléculaire, de nombreuses molécules présentant, à l'état solide, des rendements quantiques significatifs, ont été obtenues (**Tableau 17**).

La famille des dérivés du carbazole présente des points de fusion supérieurs à 150 °C. De plus, tous ces composés fluorescents de façon significative. Ainsi, parmi les quarante et un composés synthétisés, plusieurs d'entre eux pourront être retenus pour la suite du projet. Les composés répondant aux trois critères (température de fusion, solubilité et fluorescence à l'état solide dans le rouge) ont été sélectionnés pour la suite du projet. A noter que les composés **24**, **39** et **42** ont été synthétisés, en fin de thèse, et n'ont donc pas pu être utilisés dans le procédé d'élaboration des nanoparticules cœur-coquille.

Molécules	λ_{exc} (nm) ^P	λ_{em} (nm) ^P	Φ_F (%) ^P	T _{fus} (°C)	Solubilité (mol/L)
1	540	605	11	229	1×10^{-3}
2	450	640	18	173	$1,5 \times 10^{-1}$
16	530	605	8	161	1×10^{-2}
24	510	620	12	214	1×10^{-2}
27	530	605	28	244	6×10^{-3}
28	515	585	49	203	2×10^{-2}
29	550	625	8	223	4×10^{-3}
30	685	770	4	230	2×10^{-3}
31	525	585	34	218	4×10^{-3}
32	540	600	46	250	3×10^{-2}
38	490	610	11	223	2×10^{-2}
39	530	625	24	203	5×10^{-3}
40	550	610	12	142	1×10^{-2}
42	435	535	24	174	7×10^{-3}

Tableau 17 : Récapitulatif des composés présentant des rendements quantiques significatifs avec leur température de fusion et leur solubilité.

Pour la suite du projet, ce sont donc les composés **2** ($\Phi_F = 18\%$ à 640 nm, T_{fus} = 173 °C), **16** ($\Phi_F = 8\%$ à 605 nm, T_{fus} = 161 °C), **27** ($\Phi_F = 28\%$ à 605 nm, T_{fus} = 244 °C), **28** ($\Phi_F = 49\%$ à 585 nm, T_{fus} = 203 °C) et **32** ($\Phi_F = 46\%$ à 600 nm, T_{fus} = 250 °C) qui ont été retenus (**Figure 64**).

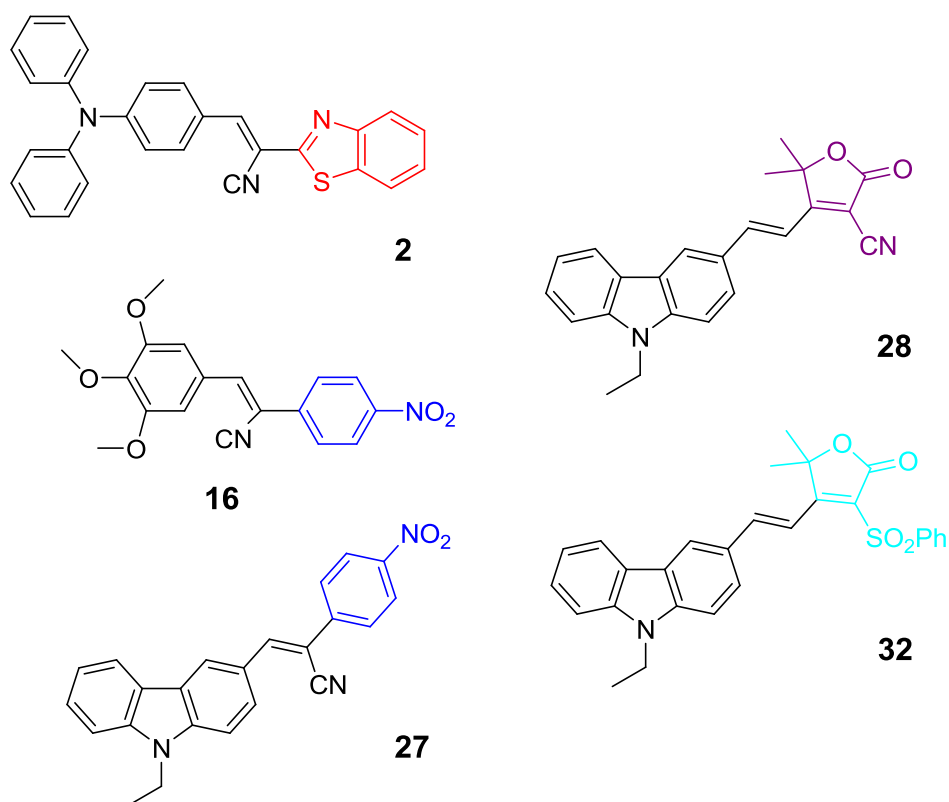


Figure 64 : Composés retenus pour la suite du projet : composés **2**, **16**, **27**, **28** et **32**.

6. Propriétés d'optique non linéaire des chromophores sélectionnés

La microscopie de fluorescence biphotonique est devenue l'une des techniques les plus prometteuses pour l'imagerie biomédicale. Elle permet l'étude, *in vivo*, des tissus, en profondeur, avec une plus grande résolution tridimensionnelle. Dans le cadre de ce projet, le cœur organique de la nanoparticule est un monocristal. Une étude des propriétés d'absorption à deux photons (ADP), à l'état solide des fluorophores, est donc indispensable. A notre connaissance, peu d'études de ce type n'ont été publiées à ce jour.

Actuellement, les seules publications existantes sont les publications de P.N. Prasad *et al.* [47-50] et K.D. Belfield *et al.* [51] (entre 2006 et 2011). Ils synthétisent des nanoparticules de silices cœur-coquilles afin d'imager la fluorescence à deux photons dans des cellules HeLa (du nom Henrietta Lacks : lignée cellulaire cancéreuse). Ils ont montrés que ces sondes étaient très efficaces pour visualiser la fluorescence par microscopie biphotonique dans des cellules avec une résolution spatiale allant jusqu'à 350 μm en profondeur. D'autres études, publiées très récemment (2012-2014) [52-53], ont également été réalisées sur des molécules en

suspension. Ils mesurent les spectres d'excitation à deux photons des suspensions colloïdales dans un rapport THF : eau (1 : 9) de la même manière qu'en solution (concentration identique).

6.1. Montage expérimental

L'absorption à deux photons a été mesurée par la méthode de fluorescence excitée à deux photons (TPEF) avec un laser titane : saphir (largeur d'impulsion ≤ 100 fs, répétition de 82 MHz, Spectra Physics Inc., USA) par l'équipe de Patrice Baldeck au laboratoire. La mesure a été effectuée sur pastille (**Figure 65**), entre 720 et 920 nm.



27	28	30
2	CMONS	32

Figure 65 : Photographie des composés sous forme de pastille

6.2. Dépendance quadratique avec l'intensité incidente

Lorsque l'énergie incidente est élevée, l'absorption non linéaire ne se limite plus à l'ADP mais également aux ordres supérieurs puisqu'ils ne sont plus négligeables (absorption trois photons et plus). C'est pourquoi, pour chaque chromophore une étude préliminaire a été effectuée afin de s'assurer que le processus dominant est l'ADP. Elle consiste à étudier la variation de l'intensité de fluorescence émise par les molécules concernées en fonction de la puissance du laser (mW). Dans le cas de l'ADP, on peut noter une dépendance quadratique entre la puissance P et l'intensité lumineuse I bien qu'il s'agisse d'un phénomène d'optique non linéaire du troisième ordre. En effet, la probabilité d'observer une absorption biphotonique peut être exprimée en fonction de l'intensité lumineuse I de la lumière excitatrice selon l'équation suivante:

$$P = (1/2) * \sigma_2 * I^2$$

Où σ_2 est la section efficace d'ADP exprimée en GM (1 GM = 10^{-50} cm⁴.s.photon⁻¹)

Pour une puissance de 110 mW, la majorité des chromophores étudiés génère une fluorescence à deux photons (**Figure 66** montre un exemple, avec le chromophore **CMONS**).

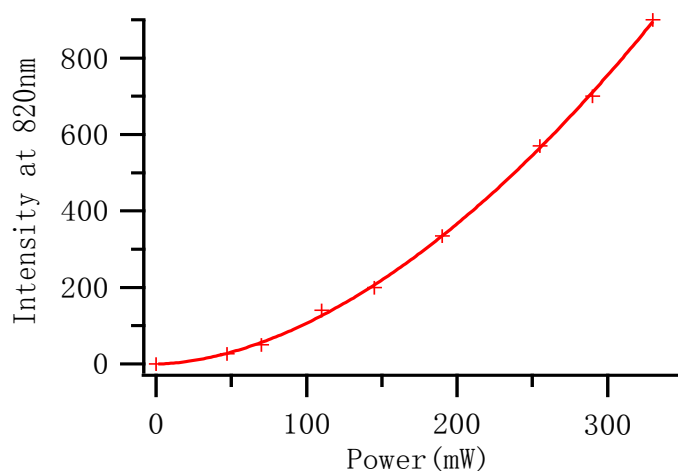


Figure 66 : Dépendance quadratique du signal de fluorescence du CMONS en fonction de la puissance du laser

6.3. Résultats

Les spectres d'absorption à deux photons des chromophores sur pastille, ont été superposés et sont présentés **Figure 67**.

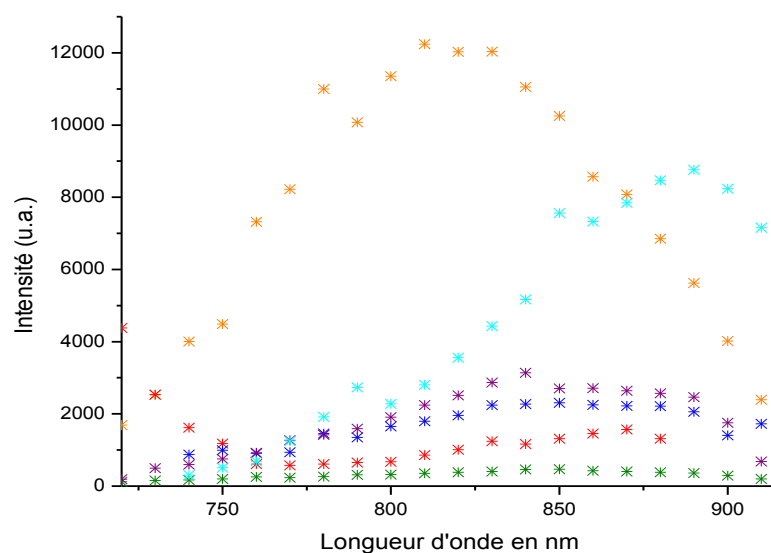
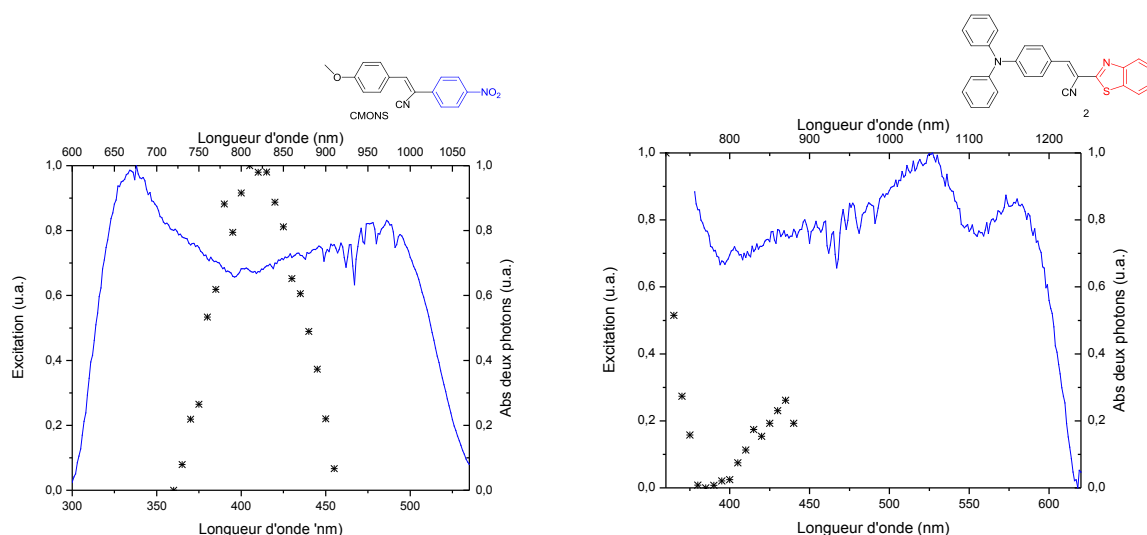


Figure 67 : Propriétés d'absorption à deux photons des composés sur pastille : **CMONS** (orange), **2** (rouge), **16** (olive), **27** (bleu), **28** (violet) et **32** (cyan).

On constate que tous les spectres présentent des bandes larges entre 720 et 920 nm dans le domaine du proche infrarouge. D'après ce graphe, deux composés (**CMONS** et composé **32**) présentent une réponse significative d'ADP avec des maximum respectivement à 820 et 890 nm. Une analyse comparative nous permettra d'étudier l'influence des groupements donneur et accepteur sur l'ADP des chromophores sélectionnés.

Afin de pouvoir les comparer aux spectres d'excitation à un photon les longueurs d'ondes des spectres d'ADP ont été divisées par deux. Pour l'ensemble de ces composés, il n'y a aucune superposition du spectre d'ADP observé avec les spectres à un photon à l'état solide (**Figure 68**). Les états excités entre les chromophores à l'état cristallin sont différents (état électronique différents) entre une absorption à un et à deux photons, il est donc normal que ces spectres ne se superposent pas. Des traitements mathématiques sont en cours afin de déterminer les interactions mis en jeu entre les dipôles en fonction de la force avec laquelle ces états excités sont couplés et en fonction de la nature des excitons considérés. De plus, nous observons pour le composé **2** un pic d'excitation à un photon vers 720 nm. Ceci est dû à l'absorption à un photon plus décalé dans le rouge pour ce composé en comparaison des autres composés.



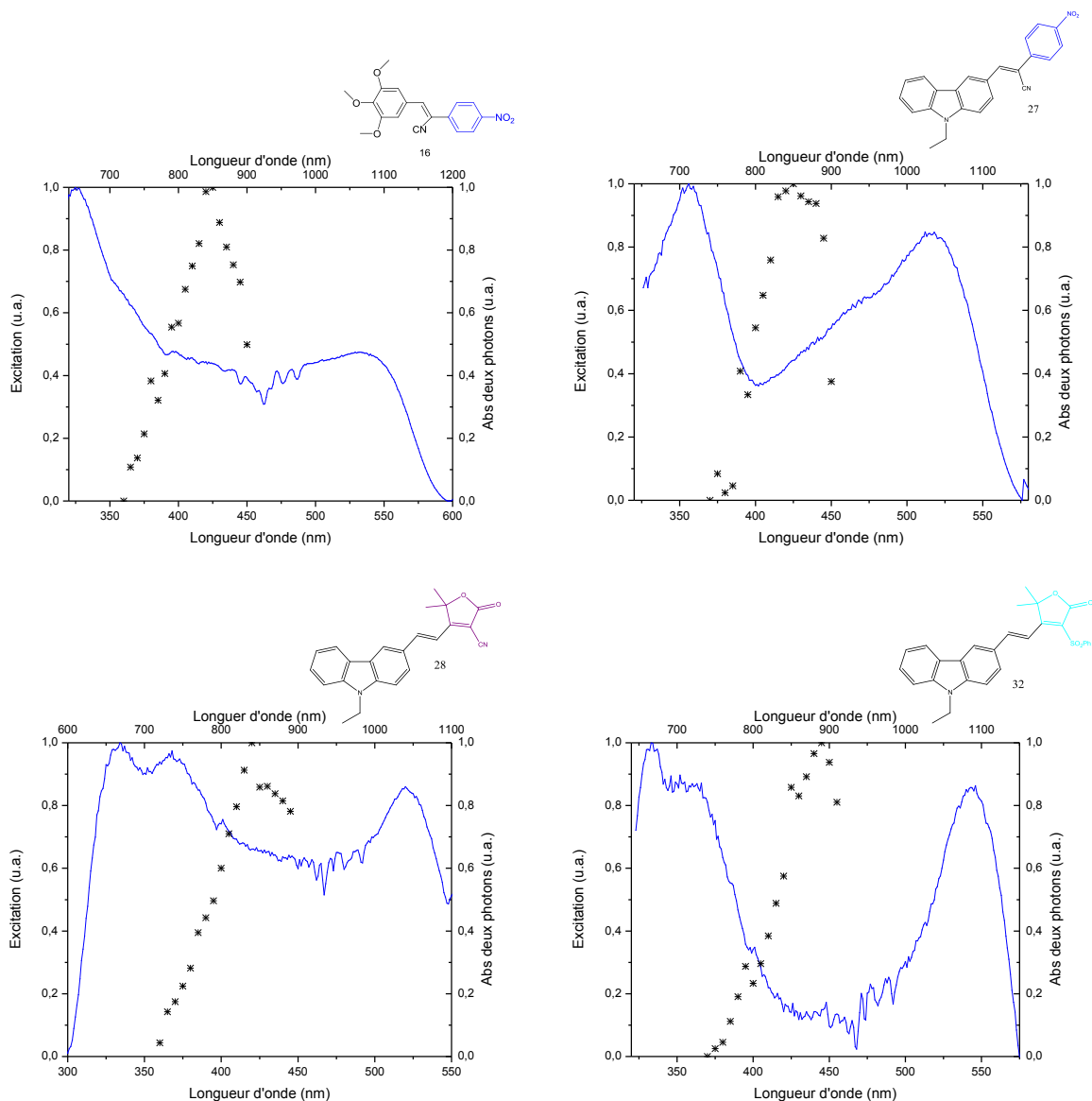


Figure 68 : Spectres d'excitation à un (bleu) et à deux (noir) photons des composés sur pastille de gauche à droite : **CMONS**, **2**, **16**, **27**, **28** et **32**

6.3.1. Influence des groupements accepteur

Nous avons tout d'abord choisi d'étudier l'influence des groupements electro-accepteur sur l'ADP en sélectionnant les composés **27**, **28** et **32** (groupement donneur identique: éthyle carbazole). Les résultats expérimentaux montrent une nette augmentation de l'efficacité d'ADP du composé **32** par rapport aux composés **27** et **28** (**Figure 69**). Il semblerait donc que la substitution du groupement nitrile de l'accepteur MCF (composé **28**) par un groupement sulfonylbenzène (composé **32**) induise d'importants décalages spectraux de l'ADP (maximum pour le composé **32** à 890 nm, déplacé dans le rouge, par rapport au composé **28** (maximum à 840 nm)).

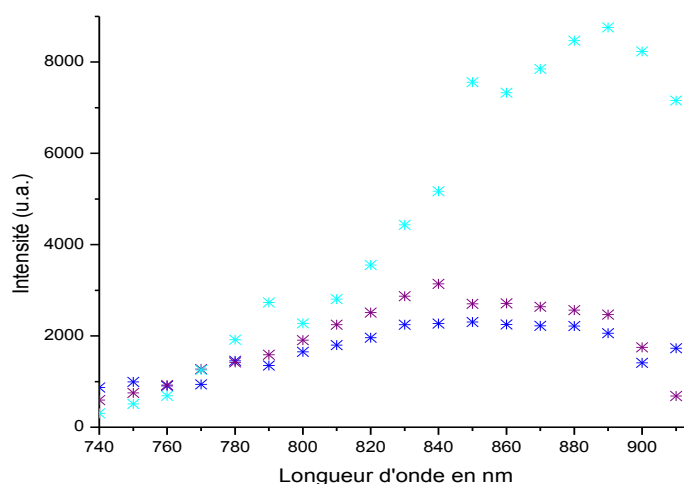


Figure 69 : Spectres d'excitation à deux photons des composés **27** (bleu), **28** (violet) et **32** (cyan).

6.3.2. Influence des groupements donneur

Une étude à groupement accepteur constant (groupement nitrophényle), a ensuite été réalisée, avec les composés **CMONS**, **16** et **27**, afin d'observer les éventuels changements des spectres d'ADP (figure 6). D'une part on constate que les maxima des composés **16** et **27** sont déplacés dans le rouge en comparaison du **CMONS** (ADP à 820 nm), avec un maximum respectivement de 840 et 850 nm. D'autre part, les mesures expérimentales montrent, notamment, l'efficacité importante du **CMONS** en comparaison des deux autres composés (**16** et **27**).

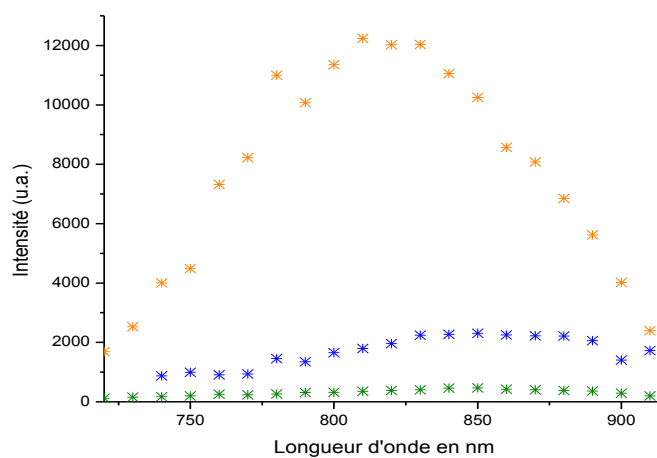


Figure 70: Spectres d'excitation à deux photons des composés **CMONS** (orange), **16** (olive) et **27** (bleu).

6.4. Conclusion

A la suite de notre ingénierie moléculaire, on a décidé d'étudier les cinq composés retenus ainsi que le **CMONS** vers un aspect de l'optique non linéaire jusqu'à présent jamais abordé : l'absorption à deux photons à l'état solide. Les premiers résultats ont permis de montrer d'importantes différences d'intensités entre les composés. On a notamment constaté que le **CMONS** (ADP à 820 nm) et le composé **32** (ADP à 890 nm) avaient une importante efficacité à deux photons à l'état solide, très encourageante pour la suite du projet ; de plus, la nature des substituants induit des différences spectrales en ADP notables.

Bibliographie

[1]: J. R. Lakowicz. *Principles of Fluorescent Spectroscopy. Chapter 3: Fluorophores*. 3rd Ed. Springer, 2006.

[2a]: G. Qian and Z.-Y. Wang. Near-Infrared Organic Compounds and Emerging Applications. *Chem Asian J.* **2010**, 5, 1006-1029. [2b]: K. Kiyose, H. Kojima, and T. Nagano. Functional Near-Infrared Fluorescent Probes. *Chem. Asian J.* **2008**, 3, 506-515. [2c]: H. Kobayashi, M. R. Longmire, M. Ogawa, and P. L. Choyke. Rational Chemical Design of the Next Generation of molecular Imaging Probes Based on Physics and Biology: Mixing Modalities, Colors and Signals. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40 (9), 4626–4648. [2d]: K. Umezawa, Y. Nakamura, H. Makino, D. Citterio, and K. Suzuki. Bright, Color-Tunable Fluorescent Dyes in the Visible-Near-Infrared Region. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130 (5), 1550-1551. [2e]: Y. Koide, Y. Urano, T. Terai, and T. Nagano. Development of an Si-Rhodamine-Based Far-Red to Near-Infrared Fluorescence Probe Selective for Hypochlorous Acid and its Applications for Biological Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133 (15), 5680-5682. [2f]: L. Yuan, W. Lin, Y. Yang, and H. Chen. A Unique Class of Near-Infrared Functional Fluorescent Dyes with Carboxylic-Acid-Modulated Fluorescence ON/OFF Switching: Rational Design, Synthesis, Optical Properties, Theoretical Calculations, and Applications for Fluorescence Imaging in Living Animals. *J. Am. Chem.Soc.* **2012**, 134 (2), 1200–1211.

[3]: J. B. Birks. *Photophysics of Aromatic Molecules*, Wiley monograph in chemical physics, Wiley, 1970.

[4]: C.-T. Chen. Evolution of Red Organic Light-Emitting Diodes: Materials and Devices. *Chem. Mater.* **2004**, 16 (23), 4389-4400.

[5a]: Z.-F. Shi, L.-J. Wang, H. Wang, X.-P. Cao, and H.-L. Zhang. Synthesis of Oligo(phenylene ethynylene)s with Dendrimer “Shells” for Molecular Electronics. *Org. Lett.* **2007**, 9 (4), 595-598. [5b]: T. Qin, G. Zhou, H. Scheiber, R. E. Bauer, M. Baumgarten, C. E. Anson, E. J. W. List, K. and Müllen. Polytriphenylene Dendrimers: A Unique Design for Blue-Light-Emitting Materials. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47 (43), 8292-8296.

[6a]: Y. Ooyama, S. Yoshikawa, S. Watanabe, and K. Yoshida. Molecular Design of Novel Non-Planar Heteropolycyclic Fluorophores with Bulky Substituents: Convenient Synthesis and Solid-State Fluorescence Characterization. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 3406-3409. [6b]: T. Ozdemir, S. Atilgan, I. Kutuk, Y. Serdar, A. Tulek, M. Bayindir, and E. U. Akkaya. Solid-

State Emissive BODIPY Dyes with Bulky Substituents As Spacers. *Org. Lett.* **2009**, *11* (10), 2105-2107. [6c]: Y. Kubota, J. Uehara, K. Funabiki, M. Ebihara, and M. Matsui. Strategy for Increasing the Solid-State Fluorescence Intensity of Pyrromethene–BF₂ Complexes. *Tet. Lett.* **2010**, *51* (47), 6195-6198. [6d]: Y. Kubota, H. Hara, S. Tanaka, K. Funabiki, and M. Matsui. Synthesis and Fluorescence Properties of Novel Pyrazine–Boron Complexes Bearing a β-Iminoketone Ligand. *Org. Lett.* **2011**, *13* (24), 6544-6547. [6e]: H. Lu, Q. Wang, L. Gai, Z. Li, Y. Deng, X. Xiao, G. Lai, and Z. Shen. Tuning the Solid-State Luminescence of BODIPY Derivatives with Bulky Arylsilyl Groups: Synthesis and Spectroscopic Properties. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 7852-7861. [6f]: D. Li, .Zhang, C. Wang, S. Huang, J. Guo, and Y. Wang. Construction of Full-Color-Tunable and Strongly Emissive Materials by Functionalizing a Boron-Chelate Four-Ring-Fused π-Conjugated Core; *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 4319-4328.

[7]: Z. Fei, N. Kocher, C. J. Mohrschladt, H. Ihmels, and D. Stalke. Single Crystals of the Disubstituted Anthracene 9,10-(Ph₂P=S)₂C₁₄H₈ Selectively and Reversibly Detect Toluene by Solid-State Fluorescence Emission. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42* (7), 783-787.

[8]: M.-J. Lin, Á. J. Jiménez, C. Burschka, and F. Würthner. Bay-Substituted Perylene Bisimide Dye with an Undistorted Planar Scaffold and Outstanding Solid State Fluorescence Properties. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 12050-12052.

[9]: M. Matsui, Y. Ando, O. Tokura, Y. Kubota, and K. Funabiki. Solid-State Fluorescence of 6-aryl-9-(dibutylamino)benzo[*a*]phenoxazin-5-ones. *Tetrahedron* **2013**, *69* (16), 3410-3414.

[10]: J. Luo, Z. Xie, J. W. Y. Lam, L. Cheng, H. Chen, C. Qiu, H. S. Kwok, X. Zhan, Y. Liu, D. Zhu, and B. Z. Tang. Aggregation-induced emission of 1-methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilole. *Chem. Commun.* **2001**, 1740-1741.

[11]: Z. Zhao, Z. Wang, P. Lu, C. Y. K. Chan, D. Liu, J. W. Y. Lam, H. H. Y. Sung, I. D. Williams, Y. Ma, and B. Z. Tang. Structural Modulation of Solid-State Emission of 2,5-Bis(trialkylsilylethynyl)-3,4-diphenylsiloles. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (41), 7608-7611.

[12a]: A. Qin, C. K. W. Jim, Y. Tang, J. W. Y. Lam, J. Liu, F. Mahtab, P. Gao, and B. Z. Tang. Aggregation-Enhanced Emissions of Intramolecular Excimers in Disubstituted Polyacetylenes. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112* (31), 9281-9288. [12b]: W. Z. Yuan, P. Lu, S. Chen, J. W. Y. Lam, Z. Wang, Y. Liu, H. S. Kwok, Y. Ma, and B. Z. Tang. Changing the Behavior of Chromophores from Aggregation-Caused Quenching to Aggregation-Induced

Emission: Development of Highly Efficient Light Emitters in the Solid State. *Adv. Mater.* **2010**, *22* (19), 2159-2163. [12c]: Q. Zhao, K. Li, S. Chen, A. Qin, D. Ding, S. Zhang, Y. Liu, B. Liu, J. Z. Sun, and B. Z. Tang. Aggregation-Induced Red-NIR Emission Organic Nanoparticles as Effective and Photostable Fluorescent Probes for Bioimaging. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 15128-15135. W. Qin, D. Ding, J. Liu, W. Z. Yuan, Y. Hu, B. Liu, and B. Z. Tang. Biocompatible Nanoparticles with Aggregation-Induced Emission Characteristics as Far-Red/Near-Infrared Fluorescent Bioprobes for In Vitro and In Vivo Imaging Applications. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 771-779. [12d]: W. Z. Yuan, Y. Gong, S. Chen, X. Y. Shen, J. W. Y. Lam, P. Lu, Y. Lu, Z. Wang, R. Hu, N. Xie, H. S. Kwok, Y. Zhang, J. Z. Sun, and B. Z. Tang. Efficient Solid Emitters with Aggregation-Induced Emission and Intramolecular Charge Transfer Characteristics: Molecular Design, Synthesis, Photophysical Behaviors, and OLED Application. *Chem. Mater.* **2012**, *24* (8), 1518-1528. [12e]: Z. Zhao, C. Y. K. Chan, S. Chen, C. Deng, J. W. Y. Lam, C. K. W. Jim, Y. Hong, P. Lu, Z. Chang, X. Chen, P. Lu, H. S. Kwok, H. Qiu, and B. Z. Tang. Using Tetraphenylethene and Carbazole to Create Efficient Luminophores with Aggregation-Induced Emission, High Thermal Stability, and Good Hole-Transporting Property. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 4527-4534.

[13a]: S. Kim, Q. Zheng, G. S. He, D. J. Bharali, H. E. Pudavar, A. Baev, and P. N. Prasad. Aggregation-Enhanced Fluorescence and Two-Photon Absorption in Nanoaggregates of a 9,10-Bis[4'-(4"-aminostyryl)styryl]anthracene Derivative. *Adv. Funct. Mater.* **2006**, *16* (18), 2317-2323. [13b]: H. Lu, B. Xu, Y. Dong, F. Chen, Y. Li, Z. Li, J. He, H. Li, and W. Tian. Novel Fluorescent pH Sensors and a Biological Probe Based on Anthracene Derivatives with Aggregation-Induced Emission Characteristics. *Langmuir* **2010**, *26* (9), 6838-6844.

[14a]: K. Li, Y. Jiang, D. Ding, X. Zhang, Y. Liu, J. Hua, S.-S. Feng, and B. Liu. Folic Acid-Functionalized Two-Photon Absorbing Nanoparticles for Targeted MCF-7 Cancer Cell Imaging. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7323-7325. [14b]: W. Qin, D. Ding, J. Liu, W. Z. Yuan, Y. Hu, B. Liu, and B. Z. Tang. Biocompatible Nanoparticles with Aggregation-Induced Emission Characteristics as Far-Red/Near-Infrared Fluorescent Bioprobes for In Vitro and In Vivo Imaging Applications. *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22* (4), 771-779.

[15a]: M. Yang, D. Xu, W. Xi, L. Wang, J. Zheng, J. Huang, J. Zhang, H. Zhou, J. Wu, and Y. Tian. Aggregation-Induced Fluorescence Behavior of Triphenylamine-Based Schiff Bases: The Combined Effect of Multiple Forces. *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (20), 10344-10359. [15b]: Z. Zheng, Z. Yu, M. Yang, F. Jin, Q. Zhang, H. Zhou, J. Wu, and Y. Tian. Electronic

Structure, and Aggregation-Induced Emission Property of Isophorone Derivatives. *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (7), 3222-3234.

[16a]: Y. Hong, J. W. Y. Lam, and B. Z. Tang. Aggregation-Induced Emission. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5361–5388. [16b]: M. Wang, G. Zhang, D. Zhang, D. Zhu, and B. Z. Tang. Fluorescent Bio/Chemosensors Based on Silole and Tetraphenylethene Luminogens with Aggregation-Induced Emission Feature. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 1858-1867.

[17]: B.-K. An, S.-K. Kwon, S.-D. Jung, and S. Y. Park. Enhanced Emission and Its Switching in Fluorescent Organic Nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (48), 14410-14415.

[18a]: H. C. Yeh, W.-C. Wu, Y.-S. Wen, D.-C. Dai, J.-K. Wang, and C.-T. Chen Derivative of α,β -Dicyanostilbene: Convenient Precursor for the Synthesis of Diphenylmaleimide Compounds, *E-Z* Isomerization, Crystal Structure, and Solid-State Fluorescence., *J. Org. Chem.* **2004**, *69* (19), 6455-6462. [18b]: Y.-T. Lee, C.-L. Chiang, and C.-T. Chen. Solid-State Highly Fluorescent Diphenylaminospirobifluorenylfumaronitrile Red Emitters for Non-Doped Organic Light-Emitting Diodes. *Chem. Commun.* **2008**, 217-219. [18c]: S. S. Palayangoda, X. Cai, R. M. Adhikari, and D. C. Neckers. Carbazole-Based Donor-Acceptor Compounds: Highly Fluorescent Organic Nanoparticles. *Org. Lett.* **2008**, *10* (2), 281-284. [18d]: J.H. Park, J.H. Seo, S.H. Lim, G.Y. Ryu, D.M. Shin, and Y.K. Kim. The Effect of the Molecular Structure of Organic Material on the Properties of Solid-State Fluorescence and Electroluminescence. *J. of Phys. Chem. Solids* **2008**, *69*, 1314-1319. [18e]: X. Li, Y. Qian, S. Wang, S. Li, and G. Yang. Tunable Fluorescence Emission and Efficient Energy Transfer in Doped Organic Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113* (9), 3862-3868. [18f]: K. Panthi, R. M. Adhikari, and T. H. Kinstle. Aromatic Fumaronitrile Core-Based Donor-Linker-Acceptor-Linker-Donor (D- π -A- π -D) Compounds: Synthesis and Photophysical Properties. *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114* (13), 4542-4549. [18g]: X. Y. Shen, Y. J. Wang, E. Zhao, W. Z. Yuan, Y. Liu, P. Lu, A. Qin, Y. Ma, J. Z. Sun, and B. Z. Tang. Effects of Substitution with Donor–Acceptor Groups on the Properties of Tetraphenylethene Trimer: Aggregation-Induced Emission, Solvatochromism, and Mechanochromism. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117* (14), 7334-7347.

[19]: R. Hu, E. Lager, A. Aguilar-Aguilar, J. Liu, J. W. Y. Lam, H. H. Y. Sung, I. D. Williams, Y. Zhong, K. S. Wong, E. Peña-Cabrera, and B. Z. Tang. Twisted Intramolecular

Charge Transfer and Aggregation-Induced Emission of BODIPY Derivatives. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113* (36), 15845- 15853.

[20]: B.-R. Gao, H.-Y. Wang, Y.-W. Hao, L.-M. Fu, H.-H. Fang, Y. Jiang, L. Wang, Q.-D. Chen, H. Xia, L.-Y Pan, Y.-G. Ma, and H.-B. Sun. Time-Resolved Fluorescence Study of Aggregation-Induced Emission Enhancement by Restriction of Intramolecular Charge Transfer State. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114* (1), 128-134.

[21a]: C. W. Tang, S. A. VanSlyke, and C. H. Chen. Electroluminescence of Doped Organic Thin Films. *Appl. Phys. Lett.* **1989**, *65* (9), 3610-3616. [21b]: T.-H. Liu, C.-Y. Iou, and C. H. Chen. Doped Red Organic Electroluminescent Devices Based on a Cohost Emitter System. *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *83* (25), 5241-5243.

[22a]: E. Ishow, A. Brosseau, G. Clavier, K. Nakatani, P. Tauc, C. Fiorini-Debuisschert, S. Neveu, O. Sandre, and A. Léaustic. Multicolor Emission of Small Molecule-Based Amorphous Thin Films and Nanoparticles with a Single Excitation Wavelength. *Chem. Mater.* **2008**, *20* (21), 6597-6599. [22b]: M. Breton, G. Prével, J.-F. Audibert, R. Pansu, P. Tauc, B. Le Pioufle, O. Français, J. Fresnais, J.-F. Berret, and E. Ishow. Solvatochromic dissociation of non-covalent fluorescent organic nanoparticles upon cell internalization. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13*, 13268-13276.

[23a]: C.-L. Chiang, M.-F. Wu, D.-C. Dai, Y.-S. Weng, J.-K. Wang, and C.-T. Chen. Red-Emitting Fluorenes as Efficient Emitting Hosts for Non-Doped, Organic Red-Light-Emitting Diodes. *Adv Funct Mater* **2005**, *15* (2), 231-238. [23b]: R. Davis, N. S. S. Kumar, S. Abraham, C. H. Suresh, N. P. Rath, N. Tamaoki, and S. Das. Molecular Packing and Solid-State Fluorescence of Alkoxy-Cyano Substituted Diphenylbutadienes: Structure of the Luminescent Aggregates. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112* (6), 2137-2146. [23c]: S.-Y. Park, M. Ebihara, Y. Kubota, K. Funabiki, and M. Matsui. The Relationship Between Solid-State Fluorescence Intensity and Molecular Packing of Coumarin Dyes. *Dyes Pigments* **2009**, *82* (3), 258-267. [23d]: Y. Ooyama, T. Sugiyama, Y. Oda, Y. Hagiwara, N. Yamaguchi, E. Miyazaki, H. Fukuoka, T. Mizumo, Y. Harima, and J. Ohshita. Synthesis of Carbazole-Type D- π -A Fluorescent Dyes Possessing Solid-State Red Fluorescence Properties. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 4853-4859. [23e]: A. Singh, C.-K. Lim, Y.-D. Lee, J.-H. Maeng, S. Lee, J. Koh, and S. Kim. Tuning Solid-State Fluorescence to the Near-Infrared: A Combinatorial Approach to Discovering Molecular Nanoprobes for Biomedical Imaging. *ACS Appl Mater Interfaces* **2013**, *5* (18), 8881-8888. [23f]: C. Shi, Z. Guo, Y. Yan, S. Zhu, Y. Xie, Y Sheng

Zhao, W. Zhu, and H. Tian. Self-Assembly Solid-State Enhanced Red Emission of Quinolinemalononitrile: Optical Waveguides and Stimuli Response. *ACS Appl Mater Interfaces* **2013**, *5* (1), 192-198. [23g]: Y. Ooyama, Y. Oda, Y. Hagiwara, H. Fukuoka, E. Miyazaki, T. Mizumo, and J. Ohshita. Solid-State Fluorescence Properties and Mechanofluorochromism of D-p-A Pyridinium Dyes Bearing Various Counter Anions. *Tetrahedron* **2013**, *69* (29), 5818-5822.

[24a]: S. N. Oliver, P. Pantelis, and P. L. Dunn. Polymorphism and crystal-crystal transformations of the highly optically nonlinear organic compound [(4-methoxyphenyl)methylene]-4-nitro-benzeneacetonitrile. *Appl. Phys. Lett.* **1990**, *56* (4), 307-309. [24b]: F. Treussart, E. Botzung-Appert, N.-T. Ha-Duong, A. Ibanez, J.-F. Roch, and R. Pansu. Second Harmonic Generation and Fluorescence of CMONS Dye Nanocrystals Grown in a Sol-Gel Thin Film. *ChemPhysChem* **2003**, *4*, 757-760. [24c]: N. Sanz, P. L. Baldeck, J.-F. Nicoud, Y. Le Fur, and A. Ibanez. Polymorphism and Luminescence Properties of CMONS Organic Crystals: Bulk Crystals and Nanocrystals Confined in Gel-Glasses. *Solid State Sci.* **2001**, *3* (8), 867-875.

[25a]: J. Massin, W. Dayoub, J.-C. Mulatier, C. Aronica, Y. Bretonnière, and C. Andraud. Near-Infrared Solid-State Emitters Based on Isophorone: Synthesis, Crystal Structure and Spectroscopic Properties. *Chem. Mater.* **2011**, *23* (3), 862-873. [25b]: Y. Bretonnière, C. Andraud, and J. Massin. Organic Fluorophores Emitting in the Solid State. Fr. Demande (2013), FR 2989377.

[26]: X. Wang, A. R. Morales, T. Urakami, L. Zhang, M. V. Bondar, M. Komatsu, and K. D. Belfield. Folate Receptor-Targeted Aggregation-Enhanced Near-IR Emitting Silica Nanoprobe for One-Photon in Vivo and Two-Photon ex Vivo Fluorescence Bioimaging. *Bioconj. Chem.* **2011**, *22* (7), 1438-1450.

[27a]: S. Kim, H. E. Pudavar, A. Bonoiu, and P. N. Prasad. Aggregation-Enhanced Fluorescence in Organically Modified Silica Nanoparticles: A Novel Approach toward High-Signal-Output Nanoprobes for Two-Photon Fluorescence Bioimaging. *Adv. Mater.* **2007**, *19* (22), 3791-3795. [27b]: S. Kim, T. Y. Ohulchanskyy, H. E. Pudavar, R. K. Pandey, and P. N. Prasad. Organically Modified Silica Nanoparticles Co-encapsulating Photosensitizing Drug and Aggregation-Enhanced Two-Photon Absorbing Fluorescent Dye Aggregates for Two-Photon Photodynamic Therapy. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (9), 2669-2675. [27c]: S. Kim, H. Huang, H. E. Pudavar, Y. Cui, and P. N. Prasad. Intraparticle Energy Transfer and

Fluorescence Photoconversion in Nanoparticles: An Optical Highlighter Nanoprobe for Two-Photon Bioimaging. *Chem. Mater.* **2007**, *19* (23), 5650-5656.

[28]: J. Gierschner and S. Y. Park. Luminescent Distyrylbenzenes: Tailoring Molecular Structure and Crystalline Morphology. *J. Mater. Chem. C* **2013**, *1* (37), 5818-5832.

[29]: G. Scheibe. Über die Veränderlichkeit der Absorptionsspektren in Lösungen und die Nebervalenzen als ihre Ursache. *Ang. Chem.* **1937**, *50* (11), 212-219.

[30]: E. E. Jelley. Molecular, Nematic and Crystal States of I: I-Diethyl-Cyanine Chloride. *Nature* **1937**, *139* (3519), 631-632.

[31]: F. Würthner, T.E. Kaiser, and C.R. Saha-Möller. J-aggregates: from Serendipitous Discovery to Supramolecular Engineering of Functional Dye Materials. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, *50* (15), 3376-3410.

[32]: J. Massin. Ingénierie moléculaire pour l'imagerie par microscopie non-linéaire : Synthèse et propriétés de nouvelles sondes, Thèse de l'ENS de Lyon (2011).

[33]: H.-Y. Wang, G. Chen, X.-P. Xu, and S.-J. Ji. Synthesis and Characterization of Triphenylamine-Benzothiazole-Based Donor and Acceptor Materials. *Synth. Met.* **2010**, *160*, 1065-1072.

[34]: L.P. Hammett. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. Benzene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59* (1), 96-103.

[35]: C. Hansch, A. Leo, and R.W. Taft. A Survey of Hammett substituent Constants and Resonance and Field Parameters. *Chem. Rev.* **1991**, *91* (2), 165-195.

[36]: J. C. deMello, H. F. Wittmann, and R. H. Friend. An Improved Experimental Determination of External Photoluminescence Quantum Efficiency. *Adv. Mat.* **1997**, *9* (3), 230-232.

[37]: L. Porrès, A. Holland, L.-O. Palsson, A. P. Monkman, C. Kemp, and A. Beeby. Absolute Measurements of Photoluminescence Quantum Yields of Solutions Using an Integrating Sphere. *J. of Fluoresc.* **2006**, *16* (2), 267-272.

[38a]: M. Rumi, J.E. Ehrlich, A.A. Heikal, J.W. Perry, S. Barlow, Z. Hu, D. McCord-Maughon, T.C. Parker, H. Röckel, S. Thayumanavan, S.R. Marder, D. Beljonne, and J.L.

Brédas. Structure-Property Relationships for Two-Photon Absorbing Chromophores: Bis-donor Diphenylpolyene and Bis(styryl)benzene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (39), 9500-9510. [38b]: S.-L. Zheng, N. Li, S. Reid, B. Wang. Effect of Extended Conjugation with Phenylethynyl Group on the Fluorescent Properties of Water-Soluble Arylboronic Acids. *Tetrahedron* **2007**, *63* (25), 5427-5436.

[39a]: H.-Y. Wang, L.-F. Chen, X.-L. Zhu, C. Wang, Y. Wan, and H. Wu. Spectral Studies of Multi-branched Fluorescence Dyes Based on Triphenylpyridine Core. *Spectrochim. Acta A*. **2014**, *121*, 355-362. [39b]: L. Shi, C. He, D. Zhu, Q. He, Y. Li, Y. Chen, Y. Sun, Y. Fu, D. Wen H. Cao, and J. Cheng. High Performance Aniline Vapor Detection Based on Multi-branched Fluorescent Triphenylamine-benzothiadiazole Derivatives: Branch Effect and Aggregation Control of the Sensing Performance, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 11629-11635.

[40a]: S. Kim, H. Moon, J. Hwang, J. Sohn, J. Seo, S. Y. Park, T. I. Kang, and B. R. Cho. First Hyperpolarizabilities of Dipolar Photoconductive Chromophores: an Approach Toward Monolithic Molecular Materials for Photorefractivity. *Chem. Phys.* **2000**, *256* (3), 289-294.

[40b]: L. Li, Y. Wu, Q. Zhou, C. He. Experimental and Theoretical Studies on the One-photon and Two-photon Properties of a Series of Carbazole Derivatives Containing Styrene. *J. Phys. Org. Chem.* **2012**, *25*, 362-372.

[41]: Seoka et al., Sensitizer for use in electrophotographic light-sensitive material, (1975), US 3909260A.

[42a]: B. Hu, Z. Yang, and F.E. Karasz. Electroluminescence of pure poly(*N*-vinylcarbazole) and its blends with a multiblock copolymer. *J. Appl. Phys.* **1994**, *76*, 2419-2422. [42b]: K. Shirai, M. Matsuoka, K. Fukunishi. New syntheses and solid state fluorescence of azomethine dyes derived from diaminomaleonitrile and 2,5-diamino-3,6-dicyanopyrazine. *Dyes and Pigments* **2000**, *47* (1-2), 107-115. [42c]: A.-R. Hyun, J.-H. Lee, I.-N. Kang, and J.-W Park. Synthesis and Electroluminescent Properties of para- and meta-Tolyl Carbazyl Derivatives. *Thin Solid Films* **2006**, *509* (1-2), 127-131.

[43a]: K. A. N. Upamali, L. A. Estrada, P. K. De, X. Cai, J. A. Krause, and D. C. Neckers. Carbazole-Based Cyano-Stilbene Highly Fluorescent Microcrystals. *Langmuir* **2011**, *27* (5), 1573-1580.

- [43b]: K. Panthi, R. M. Adhikari, and T. H. Kinstle. Carbazole Donor–Carbazole Linker-Based Compounds: Preparation, Photophysical Properties, and Formation of Fluorescent Nanoparticles. *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114* (13), 4550-4557.
- [44a]: Q. Pan, C. Fang, F. Li, Z. Zhang, Z. Qin, X. Wu, Q. Gu, and J. Yu. Thermally Stable Chromophores for Nonlinear Optical Applications. *Mater. Res. Bull.* **2002**, *37*, 523-531.
- [44b]: J. Ostrauskaite, V. Voska, J. Antulis, V. Gaidelis, V. Jankauskas, and J. Grazulevicius, High Hole Mobilities in Carbazole-based Glass-Forming Hydrazones. *J. Mater. Chem.* **2002**, *12*, 3469-3474.
- [45]: S. Maruyama, X-T. Tao, H. Hokari, T. Noh, Y. Zhang, T. Wada, H. Suzuki, T. Watanabe, and S. Miyata. Electroluminescent Applications of a Cyclic Carbazole Oligomer. *J. Mater. Chem.* **1999**, *9*, 893-898.
- [46]: T. Sun, Y. L. Pan, J. Y. Wu, H. P. Zhou, Z. Z. Zhao, and Y. P. Tian. Synthesis, Luminescence and Cyclic Voltammetric Studies of Several Novel Carboxylato Diruthenium Complexes. *Transition Met. Chem.* **2007**, *32* (4), 449-455.
- [47]: S. Kim, H.E. Pudavar, A. Bonoiu, P.N. Prasad, Aggregation-Enhanced Fluorescence in Organically Modified Silica Nanoparticles : A Novel Approach toward High-Signal-Output Nanoprobes for Two-Photon Fluorescence Bioimaging, *Adv. Mater.*, **2007**, *19* (22), 3791-3795.
- [48]: S. Kim, T.Y. Ohulchanskyy, H.E. Pudavar, R.K. Pandey, P.N. Prasad, Organically Modified Silica Nanoparticles Co-encapsulating Photosensitizing Drug and Aggregation-Enhanced Two-Photon Absorbing Fluorescent Dye Aggregates for Two-Photon Photodynamic Therapy, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129* (9), 2669-2675.
- [49]: S. Kim, H. Huang, H.E. Pudavar, Y. Cui, P.N. Prasad, Intraparticle Energy Transfer and Fluorescence Photoconversion in Nanoparticles : An optical Highlighter Nanoprobes for Two-Photon Bioimaging, *Chem; Mater.*, **2007**, *19* (23), 5650-5656.
- [50]: S; Kim, Q. Zheng, G.S. He, D.J. Bharali, H.E. Pudavar, A. Baev, P.N. Prasad, Aggregation-Enhanced Fluorescence and Two-Photon Absorption in Nanoaggregates of a 9,10-Bis[4'-(4''-aminostyryl)styryl]anthracene Derivative, *Adv. Funct. Mater.*, **2006**, *16* (18), 2317- 2323.

[51]: X. Wang, A.R. Morales, T. Urakami, L. Zhang, M.V. Bondar, M. Komatsu, K.D. Belfield, Folate Receptor-Targeted Aggregation-Enhanced Near-IR Emitting Silica Nanoprobes for One-Photon in Vivo and Two-Photon ex Vivo Fluorescence Bioimaging, *Bioconj. Chem.*, **2011**, 22, (7), 1438-1450.

[52]: Z. Xu, Q. Liao, Y. Wu, W. Ren, W. Li, L. Liu, S. Wang, Z. Gu, H. Zhangand, H. Fu, Water-soluble J-aggregate Nanoparticle as an Efficient Two-Photon Fluorescent Nano-Probe for Bio-Imaging, *J. Mater. Chem.*, **2012**, 22 (34), 17737- 17743.

[53]: B. Xu, J. Zhang, H. fang, S. Ma, Q. Chen, H. Sun, C. Im, W. Tian, Aggegation induced enhanced emission of conjugated dendrimers with a large intrinsic two-photon absorption cross-section, *Polym. Chem*, **2014**, 5 (2), 479-488.

Chapitre 3 :

**Nanocristallisation de molécules organiques
en matrices silicatées : couches minces sol-
gel et nanoparticules cœur-coquille**

Chapitre 3 :

Nanocristallisation de molécules organiques en matrices silicatées: couches minces sol-gel et nanoparticules cœur-coquille

Dans les chapitres précédents, nous avons développé des familles de fluorophores devant satisfaire au cahier des charges fixé pour la synthèse de nanoparticules cœur-coquille dans le réacteur de *spray-drying* (voir **chapitre 1**) :

- température de fusion supérieure à 150 °C,
- bonne solubilité dans le THF (environ 10^{-1} M),
- intense émission de fluorescence dans le rouge à l'état solide

Suite à la pré-sélection des chromophores (voir **chapitre 2**), nous avons décidé de réaliser, tout d'abord, la nanocristallisation de ces cinq composés en couches minces sol-gel. En effet, ce type d'élaboration a permis de tester rapidement la cristallisation de chacun des fluorophores en utilisant peu de composé organique. Les analyses sur ces échantillons par microscopie de fluorescence ont permis de comparer les propriétés de fluorescence entre les nanocristaux encapsulés en matrices silicatées et la poudre microcristalline de fluorophore pur. Cela a permis de réaliser les premiers tests de nanocristaux en matrice sol-gel. Ainsi, les composés retenus, qui se comportent bien en couches minces sol-gel, ont ensuite été encapsulés par *spray-drying* [1] en coquilles silicatées, afin de concevoir de nouveaux traceurs *in vivo* pour l'imagerie médicale.

Les différentes caractérisations de spectroscopie de fluorescence ont été réalisées à l'ENS Lyon, avec le même appareil de mesure que celui utilisé pour les chromophores dispersés en solution sous forme colloïdale et sous forme de poudre (**chapitre 2**).

1. Le procédé sol-gel

Le procédé sol-gel est une voie de synthèse en solution de matériaux de type oxydes à partir de composés moléculaires (précurseurs) à basse température, proche de l'ambiante. Il doit son nom aux différents états qui se succèdent : à partir d'une solution initiale de précurseurs, on forme un **sol**, qui se transforme ensuite en **gel**.

On appelle **sol**, une suspension colloïdale avec des tailles de particules de l'ordre de 1 nm à 1 μ m. Un **gel** est constitué d'un réseau tridimensionnel interconnecté qui emprisonne un solvant, ce qui lui donne une cohésion mécanique avec un caractère rigide et non déformable [2]. Les précurseurs constituent le point de départ dans le procédé sol-gel. Ils peuvent être à base de métaux (Zr, Ti, Fe, Al, ...) ou non métaux (Si, Sn, ...). Dans toute notre étude, nous n'avons utilisé que des matrices silicatées. Aussi, la discussion qui suit ne se limite qu'à ce type de matériaux. En effet, la famille des précurseurs la plus répandue est celle des alcoxydes $\text{Si}(\text{OR})_4$, où R est un groupement alkyle. En présence d'un catalyseur (acide, base ou nucléophile), ces composés réagissent avec l'eau, on parle alors de **réaction d'hydrolyse**. Ensuite, la **réaction de condensation** des fonctions silanols formées permet de créer les liaisons Si-O-Si qui constituent le squelette inorganique.

La facilité de mise en forme de ce type de matériaux (sous forme de poudres, monolithes, couches minces, nanoparticules, fibres etc...) est un des grands avantages du procédé sol-gel. Bien qu'on ne puisse obtenir que des poudres ou des monolithes une fois que le gel est formé, il est possible de mettre en forme aisément le matériau à partir des sols. Ceci nous a permis d'obtenir des couches minces (par *spin coating*) ou des nanoparticules (par *spray drying*).

1.1. Mécanisme

La formation des matériaux silicatés par le procédé sol-gel se produit grâce à l'avancement des réactions d'hydrolyse et de condensation. Ces réactions sont déclenchées lorsque les précurseurs sont mis en présence d'eau et d'un catalyseur. Les cinétiques comparées de ces deux types de réaction, ainsi que la nature du catalyseur vont déterminer les paramètres texturaux et morphologiques finaux des matériaux.

Réaction d'hydrolyse :

La réaction d'hydrolyse (**Figure 1**), transforme un groupement alcoxy du précurseur en groupement hydroxy par une substitution nucléophile sur l'atome de silicium.

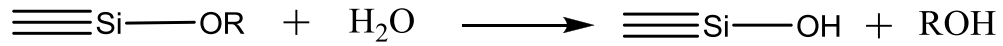


Figure 1 : Réaction d'hydrolyse.

Cette réaction est catalysée en milieu basique ou en milieu acide. Dans notre cas, les sols ont été catalysés par de l'acide chlorhydrique.

Réaction de condensation :

La réaction de condensation permet de former un pont siloxane (Si-O-Si) à partir des molécules hydrolysées ou partiellement hydrolysées (silanols) [3-4]. Les silanols vont donc réagir soit avec d'autres fonctions silanol, soit avec des alcoxydes non hydrolysés par substitution nucléophile (**Figure 2**). Selon les cas, il va donc se former une molécule d'eau ou d'alcool.

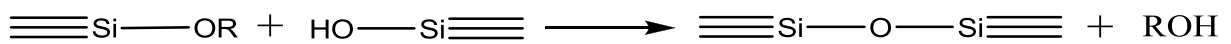
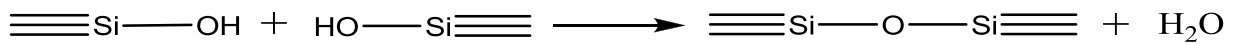


Figure 2 : Réaction de condensation.

Les cinétiques relatives des réactions d'hydrolyse et de condensation peuvent être contrôlées par plusieurs paramètres : le pH, la proportion d'eau ou de solvant ou encore la nature des précurseurs.

1.2. Influence des paramètres de synthèse

- Influence du pH :

Le choix du pH est un paramètre important dans la synthèse de matériaux silicatés par voie sol-gel. Les réactions catalysées en milieu acide en présence d'une faible quantité d'eau produisent des sols polymériques peu ramifiés, alors qu'en milieu basique avec un large excès d'eau, des sols particuliers fortement condensés sont obtenus. Des conditions catalytiques intermédiaires résultent en des structures de gels intermédiaires entre ces deux extrêmes [5].

En milieu acide ($\text{pH} < 3$), la rapidité des réactions d'hydrolyse favorise la croissance du réseau silicaté et conduit à un sol polymérique. La vitesse d'hydrolyse est gouvernée par la concentration en protons $[\text{H}^+]$. Les réactions d'hydrolyse et de condensation se produisent avec formation d'intermédiaires réactionnels pentacoordinés chargés positivement (mécanisme associatif : **Figure 3**) [5].

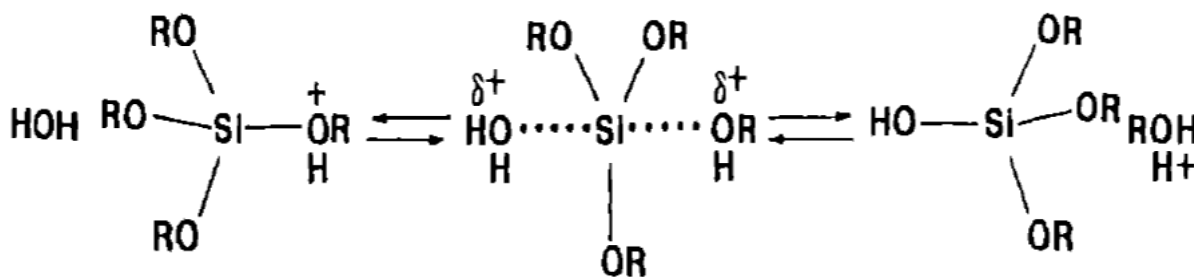


Figure 3 : Mécanisme de la réaction d'hydrolyse en milieu acide. [5]

La charge partielle positive sur l'atome de silicium favorise les réactions de condensation en bout de chaîne aux dépens des positions en milieu de chaîne, et entraîne donc une faible ramification du réseau silicaté (**Figure 4**) [6-7].



Figure 4 : Structure sol-gel obtenue à $\text{pH} < 3$: gel polymérique linéaire.

En milieu basique, l'hydrolyse se produit par un mécanisme semblable à la réaction de substitution nucléophile du deuxième ordre ($\text{S}_{\text{N}}2$) entre les ions OH^- et les alcoxydes de silicium. Les groupes silanols formés sont alors déprotonés (le point isoélectrique de la silice

est en effet compris selon les conditions en solution entre 2 et 4.5). La croissance des clusters par les milieux de chaînes est alors favorisée, ce qui conduit à la croissance anisotrope de particules colloïdales sphériques (**Figure 5**).

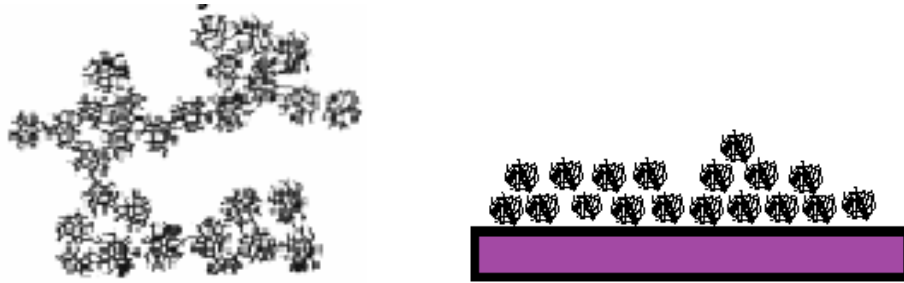


Figure 5 : Structure sol-gel obtenue à $\text{pH} > 7$: gel colloïdal.

Dans notre cas, pour l'étude de nanocristallisation de fluorophores en milieu sol-gel (*spin coating* et *spray drying*), un gel polymérique linéaire est requis afin de bien confiner la nucléation et la croissance des cristallites organiques et de minimiser la porosité de la matrice. On travaillera donc à un $\text{pH} < 3$.

- Formulation du sol :

D'autres paramètres entrent en compte afin d'obtenir les matériaux souhaités :

-Le taux d'hydrolyse, noté **h** (**Figure 6**), conditionne les cinétiques relatives des réactions d'hydrolyse et de condensation. Suite aux études précédentes du laboratoire, il a été fixé à $h = 1$, c'est-à-dire qu'il y a autant de molécules d'eau que de fonctions -OR à hydrolyser, ce qui conduit à des polymères linéaires faiblement réticulés, et limite les fissurations des films ou coquilles silicatés.

-Le taux de solvant, noté **s** (**Figure 6**), est aussi un paramètre très important dans l'élaboration de couches minces. Si le taux de solvant est trop faible, le temps de gélification sera très court et l'échantillon ne pourra pas être mis en forme (couches minces ou nanoparticules). De plus, cela peut aussi conduire à des sols visqueux augmentant l'épaisseur des films obtenus par *spin coating* ou perturbant la nébulisation des sols par *spray drying*. Si, à l'inverse, la quantité de solvant est trop importante, le temps de gélification sera long, le séchage nécessitera une température de four plus élevée dans le cas du *spray drying* et conduira à des coquilles de très faibles épaisseurs ou à des tailles de particules très faibles. Pour élaborer des couches minces, **s** est de l'ordre de 20-30 tandis qu'il est nettement plus élevé pour l'élaboration de nanoparticules, de l'ordre de 500-750.

-La nature du solvant est aussi un paramètre essentiel [8-9]. Les solvants polaires et protiques sont les plus adaptés en chimie sol-gel car ils stabilisent les intermédiaires réactionnels, en formant avec eux des liaisons hydrogènes [10]. De plus, ils permettent d'avoir un mélange initial homogène, alors que l'eau et les alcoxydes de silicium sont généralement immiscibles. Habituellement, l'alcool associé au précurseur silylé est utilisé (par exemple le méthanol dans le cas du TMOS). Cependant, les contraintes dues à la solubilité des fluorophores organiques nous ont conduits à utiliser le THF, solvant aprotique polaire, pour ces études. Ce solvant est également bien adapté aux procédés sol-gel. En effet, ce solvant a l'avantage de posséder un point d'ébullition de 66 °C, relativement faible, pour s'assurer d'une évaporation rapide soit au cours du processus de *spin coating*, soit dans le réacteur de *spray drying* (température du four 150 °C).

-Le taux de molécules organiques, noté **d** (**Figure 6**), définit la quantité de molécules organiques introduites en fonction de la concentration molaire en atomes de silicium. Ce taux sera déterminé, par la suite, pour chaque fluorophore.

$$h = \frac{[H_2O]}{[-OR]} \quad s = \frac{[solvant]}{[Si]} \quad d = \frac{[orga]}{[Si]}$$

Figure 6 : Définition des paramètres **h**, **d** et **s**.

[H₂O] : Concentration molaire d'eau

[-OR] : Concentration molaire en fonctions alcoxydes dans la solution de départ

[solvant] : Concentration molaire de solvant

[Si] : Concentration molaire en atomes de silicium (précurseurs alcoxydes de silicium)

[orga] : Concentration molaire en fluorophore organique

1.3. Choix des précurseurs sol-gel

Le choix des précurseurs silylés joue aussi un rôle important sur les vitesses d'hydrolyse et de condensation. Les alcoxydes de silicium les plus couramment utilisés pour la synthèse de matériaux silicatés sont le tétraméthoxysilane (aussi appelé TMOS) et le tétraéthoxysilane (TEOS). Les groupements –OR liés au silicium influencent la polarisation des liaisons Si-O et donc par conséquent la réactivité des alcoxydes de silicium. D'autre part, plus la taille des groupements R est importante, plus la diffusion des espèces réactionnelles est

lente, donc plus les vitesses d'hydrolyse et de condensation diminuent. Nous avons choisi de travailler avec le TMOS comme base de nos formulations.

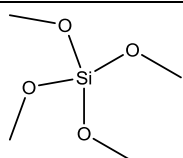
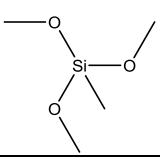
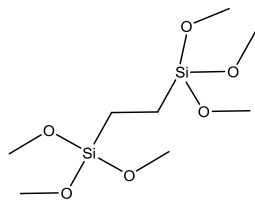
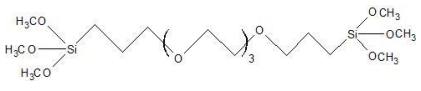
Alcoxyde de silicium	Formule développée	Abréviation	M (g/mol)	Densité (g/cm ³)
Tétraméthoxysilane		TMOS	152,2	1,032
Méthyltriméthoxysilane		MTMOS	136,2	0,955
1,2-bis(triméthoxysilyl)éthane		TMSE	270,1	1,060
1, 16-bis(triméthoxysilyl)-4,7,10,13-tétraoxahexadécane		C ₃ O ₄	460.2	1.06

Tableau 1: Différents alcoxydes de silicium utilisés pour l'élaboration de matrices silicatées

D'autres précurseurs sol-gel, contenant des liaisons covalentes Si-C, plus inertes chimiquement, sont ajoutés pour modifier l'équilibre hydrophile/hydrophobe de la matrice ainsi que les interactions avec les fluorophores. Certains de ces précurseurs sont commerciaux (MTMOS, TMSE), d'autres ont été synthétisés par le groupe de Bruno Boury de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier (C₃O₄) (**Tableau 1**).

La variation de la nature des précurseurs influence la nanocristallisation des chromophores ainsi que les propriétés et chimie de surface des coquilles silicatées résultantes. En effet, il a été montré qu'au cours du procédé de *spin coating*, si seul le précurseur TMOS est utilisé, les groupements silanols résiduels peuvent interagir fortement par liaison hydrogène avec les molécules de fluorophore organiques dissoutes dans le sol et perturber

leur nanocristallisation comme l'a montré Nathalie Sanz dans sa thèse [11]. En effet, ces interactions chromophore-matrice peuvent fortement perturber, voire inhiber l'agrégation des molécules lors de l'évaporation du solvant et ainsi leur nanocristallisation.

C'est pourquoi, afin de diminuer ces interactions, des précurseurs comme le MTMOS [12], qui possède un groupement méthyle non hydrolysable ont été ajoutés dans la formulation des sols. Ainsi, après hydrolyse et condensation, les groupements méthyles restent non pontants dans le réseau silicaté et permettent d'écranter les fonctions silanols, favorisant ainsi la nanocristallisation.

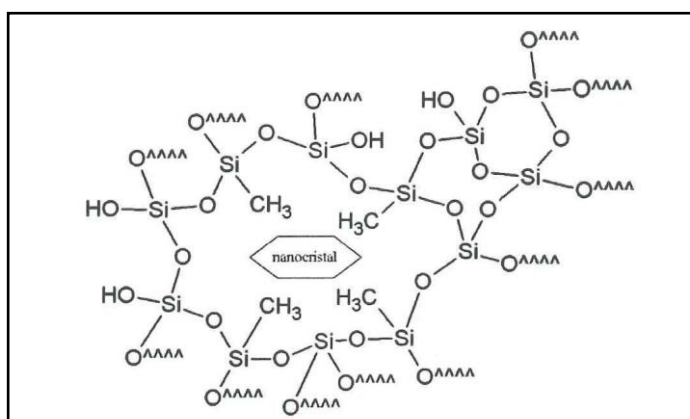


Figure 7: Schématisation de l'écranage des liaisons pendantes -Si-OH par des groupes -CH₃ non pontants dans une matrice TMOS + MTMOS. [13]

Finalement, le précurseur TMSE a aussi été utilisé. Virginie Monnier a montré pendant sa thèse [13] que l'utilisation seule du TMSE conduit à une gélification rapide du sol. En effet, ce précurseur comprend un groupement espaceur éthyle inductifs donneurs entre les deux fonctions triéthoxysilane, qui accélère les réactions d'hydrolyse et de condensation en milieu acide. En co-condensation avec le TMOS, il permet d'écranter les silanols de surface (tout comme le MTMOS), mais en conférant une hydrophobie moindre au matériau. Le TMOS sera donc utilisé d'emblée en tant qu'agent réticulant avec le précurseur TMSE. Les proportions optimisées par Virginie Monnier pour obtenir des diamètres de nanocristaux compris entre 200 et 300 nm sont 1 TMSE pour 2 TMOS. Dans cette étude, un nouveau type de précurseur a également été utilisé. Il s'agit du précurseur C₃O₄ qui présente un espaceur PEG qui permet d'augmenter le caractère hydrophile et la biocompatibilité de ces matériaux (coquille silicatée des nanoparticules).

Pour les premiers tests de nanocristallisation de fluorophores en couches minces, les précurseurs et les paramètres expérimentaux préalablement déterminés par Emilie Dubuisson, dans le cadre de sa thèse, ont été conservés [14] (voir annexe). Ils ont servi de point de départ

pour élaborer des nanocristaux de fluorophores confinés en couches minces sol-gel [15-16] afin de vérifier qu'il n'y ait pas d'incompatibilité physico-chimique entre la matrice silicatée et le fluorophore que l'on souhaite nanocristalliser. D'autre part, dans le cas du processus de *spray drying* pour l'obtention de nanoparticules cœur-coquille, les conditions déterminées par Cécile Philpott [17], puis optimisées par Joséphine Zimmermann (thèse en cours) en parallèle à ce travail ont été utilisées.

2. Nanocristallisation des chromophores en couches minces

Il existe différentes méthodes d'élaboration de couches minces sol-gel. Dans cette étude nous avons utilisé la méthode de *spin coating* : centrifugation du sol sur un substrat mis en rotation.

2.1. La méthode de *spin coating*

Cette méthode de dépôt [18] est simple à mettre en œuvre, nécessite peu de volume de sol (400 μL par couche) et est très rapide (< 1 minute), ce qui est intéressant pour effectuer un criblage des différents fluorophores dans différentes conditions.

Afin de minimiser la formation de défauts dans les couches minces, une surface de substrat parfaitement propre est requise. L'ensemble des manipulations a été réalisé dans une salle « grise » à atmosphère filtrée pour minimiser la présence de poussières. Les lames de verre sont préalablement nettoyées : dégraissage dans une solution commerciale basique de TFD-4 concentrée à 5% volumique dans l'eau et sous ultrasons pendant 15 minutes, puis rinçage à l'eau déionisée et à l'éthanol et enfin séchage sous flux d'azote filtré. De plus, l'adhésion de la couche silicatée est conditionnée à la présence de fonctions silanols à la surface des lames de verre. Pour cela, les lames subissent un traitement de surface par plasma froid à pression atmosphérique, grâce à l'appareillage 3D-BOX (puissance 1000 W, N_2 : 50 L/min, O_2 : 100 mL/min, pendant 30 s).

Après avoir laissé vieillir les sols pendant 4 à 20 heures dans une étuve à 80 °C contenant les précurseurs d'alcoxydes de silicium, l'eau, l'acide et le solvant organique, on introduit les fluorophores. Ainsi, le dépôt par *spin coating* peut être réalisé. Une lame de verre est placée au centre de la platine de rotation. On dépose quelques gouttes de sols à l'aide d'une micropipette (400 μL) au centre de la lame de verre. On enclenche ensuite la mise en

rotation du substrat (4000 tr.min^{-1}). Cela permet d'étaler le sol par centrifugation sur l'ensemble du substrat et d'expulser l'excédent de sol vers l'extérieur de la lame de verre. Ainsi, on forme une couche mince de sol uniforme sur toute la lame de verre (**Figure 8-a**). L'évaporation démarre au cours de la rotation du substrat mais elle est limitée par le capot (gyrset). Sous l'effet de l'évaporation du solvant qui augmente soudainement à l'ouverture du capot, le réseau silicaté polycondense et se densifie (**Figure 8-b**). Ensuite, en fin d'évaporation du solvant, la concentration en fluorophore dans la solution confinée dans le réseau silicaté devient très élevée. Cette forte sursaturation entraîne la nucléation et la croissance de la phase organique dans les pores de la couche sol-gel (**Figure 8-c**). Ces pores agissent comme des microréacteurs de nucléation et de croissance en solution (confinée) ce qui permet d'éviter la coalescence et l'agrégation des nanocristaux après évaporation totale du solvant (**Figure 8-d**).

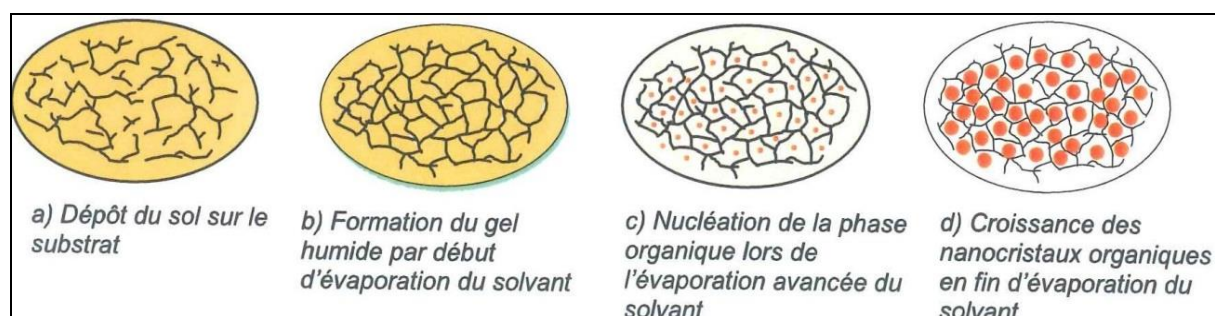


Figure 8: Différentes étapes de la synthèse de nanocristaux organiques lors du dépôt par spin-coating. [14]

Les paramètres (vitesse, durées de rotation et d'accélération) ont été optimisés par Virginie Monnier [13,16] et Emilie Dubuisson [14], et sont récapitulés ci-dessous :

- Vitesse de rotation $v = 4000 \text{ tr/min}$
- Accélération $a = 3000 \text{ tr/min/s}$
- Durée de la centrifugation $t = 10 \text{ s}$.

En utilisant ces conditions optimisées de dépôt par *spin coating*, la nanocristallisation des fluorophores sélectionnés lors de l'ingénierie cristalline a pu être testée dans différentes matrices organo-minérales. L'objectif de notre étude n'était pas d'optimiser la préparation de nanocristaux en couches minces, mais d'obtenir rapidement des cristallites de fluorophore en matrice sol-gel afin de tester la compatibilité de ces composés avec le procédé de nanocristallisation (pH < 3, matrice silicatée, forte sursaturation pour déclencher la nucléation en milieu confiné...).

2.2. Nanocrystallisation des chromophores en couches minces sol-gel

Les fluorophores synthétisés à l'ENS Lyon (**Figure 9**) et répondant au moins partiellement au cahier des charges initial ont été sélectionnés et leur nanocrystallisation en matrice silicatée a tout d'abord été testée en couches minces. Les couches minces obtenues ont ensuite été analysées par microscopie confocale en mode fluorescence.

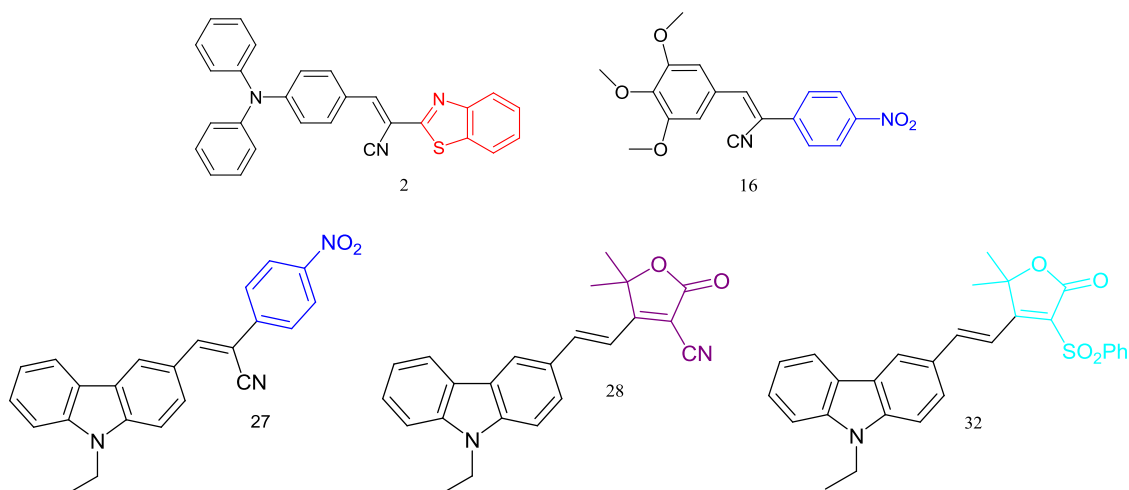


Figure 9 : Chromophores testés lors de nanocrystallisation en couches minces sol-gel.

2.2.1. Caractérisation par microscope optique confocale

Afin de visualiser les nanocristaux organiques fluorescents formés en couches minces sol-gel, nous avons utilisé la microscopie optique confocale. Cette technique, malgré sa limitation en résolution (de l'ordre de 200 nm dans le plan xy de la couche mince), permet d'observer la distribution des nanocristaux au sein de la couche mince silicatée. Les images sont enregistrées en mode fluorescence, ce qui permet d'observer toutes les particules fluorescentes visibles. De plus, ce mode permet d'enregistrer des spectres d'émission de fluorescence et de pouvoir les comparer à ceux obtenus avec les poudres microcristallines pour s'assurer que le processus d'encapsulation en matrice sol-gel n'altère pas la fluorescence du chromophore (par effet chimique du milieu ou par cristallisation sous forme d'un autre polymorphe).

La couche mince est observée en coupe x/y (**Figure 10-a**) afin d'observer la répartition des nanocristaux dans la matrice sol-gel mais aussi en coupe z (**Figure 10-c** : résolution plus faible, de l'ordre de 600 nm, d'où nanocristaux apparents moins bien définis

sur l'image en coupe en épaisseur) afin de s'assurer que la nucléation et la croissance des nanocristaux se produit au centre de la couche mince, et non à l'extérieur.

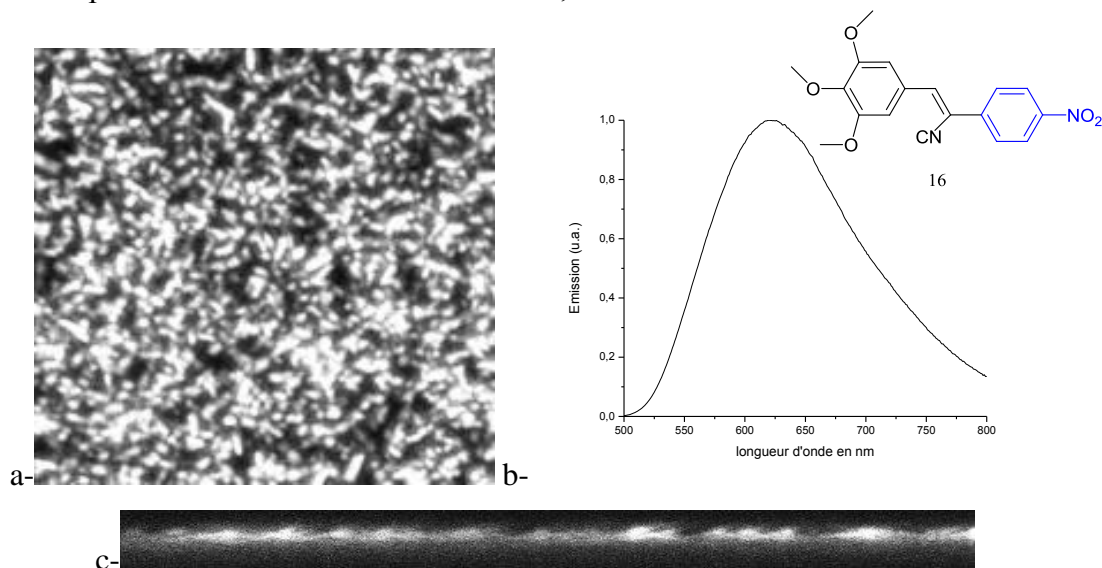


Figure 10 : Image en microscopie optique confocale en mode fluorescence d'une couche mince sol-gel contenant des nanocristaux du composé **16** : a) image enregistrée dans le plan xy de la couche mince, b) spectre d'émission de fluorescence du composé dans la matrice silicatée, c) coupe en z (épaisseur de la couche).

2.2.2. Etude de la fluorescence des nanocristaux, résultats

Pour une analyse optimale en spectroscopie de fluorescence, nous avons cherché à obtenir des nanocristaux d'une taille d'environ 300 - 400 nm bien dispersés. Pour cela, les paramètres s et d, les précurseurs silylés ainsi que le temps de vieillissement des sols ont été optimisés. Les sols ont été préparés selon la composition suivante : TMSE + 2 TMOS ou TMOS + MTMOS, THF (taux de solvant s compris entre 20 et 30), HCl 0.1 M (h = 1) avec des taux de fluorophore d = 0,02 - 0,1. Le temps de vieillissement a été varié entre 4 et 20 heures. Les échantillons obtenus ont été observés au microscope optique confocal.

- Choix de la matrice sol-gel :

Le premier paramètre optimisé est la nature de la matrice sol-gel. Deux types de matrices, TMOS/MTMOS et 2TMOS/TMSE, ont été utilisés. En comparant les deux clichés enregistrés au microscope confocal (**Figure 11**), il apparaît judicieux de choisir la matrice TMOS + MTMOS, car les nanocristaux obtenus semblent mieux définis, bien que les conditions globales de nanocrystallisation ne soient pas optimisées. En effet, cette matrice permet de réduire très efficacement les interactions fluorophore-matrice et ainsi d'obtenir plus facilement de bonnes conditions de nanocrystallisation. Ceci est le but recherché puisqu'il nous permet de vérifier les potentialités de confinement des différents fluorophores

sélectionnées en matrices sol-gel et de pouvoir enregistrer leur spectre de fluorescence. La matrice sol-gel qui sera utilisée est donc la matrice TMOS + MTMOS, plus simple à mettre en œuvre chimiquement.

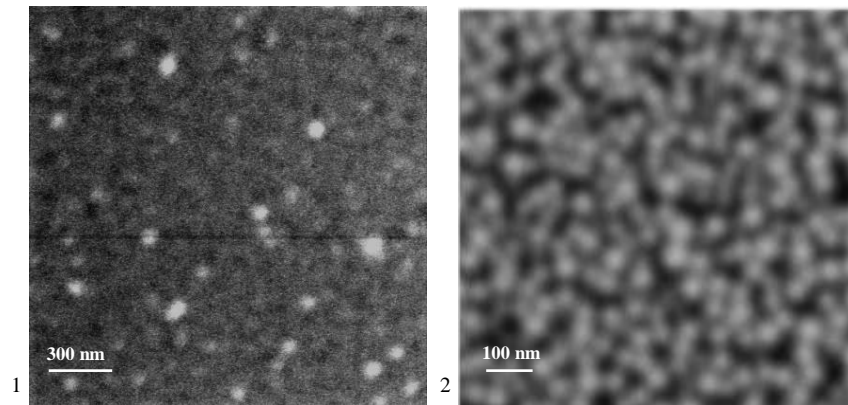


Figure 11 : Clichés enregistrés au microscope confocal en changeant uniquement la nature de la matrice, composé **28** : 1) matrice TMSE + 2TMOS, 2) matrice TMOS + MTMOS : $d = 0,07$, $s = 20$, temps de vieillissement 20 h.

- Temps de vieillissements des sols :

L'influence du temps de vieillissement des sols joue aussi un rôle primordial. C'est pourquoi deux tests ont été effectués : deux sols ont été mis à l'étuve à 80 °C en catalyse acide pendant 4 h et 20 h (**Figure 12**). Lorsque le temps de vieillissement des sols est plus important on observe que la taille des nanocristaux est plus petite. Le réseau silicaté à $t = 20$ h est en effet plus interconnecté qu'à $t = 4$ h c'est pourquoi la nucléation et la croissance des nanocristaux s'effectuent selon des conditions de confinement spatial plus fortes (volume de pores dans les gels humides plus petits) ce qui conduit à des nanocristaux plus petits et mieux définis. Par la suite, nous avons donc choisi un temps d'hydrolyse de 20 h.

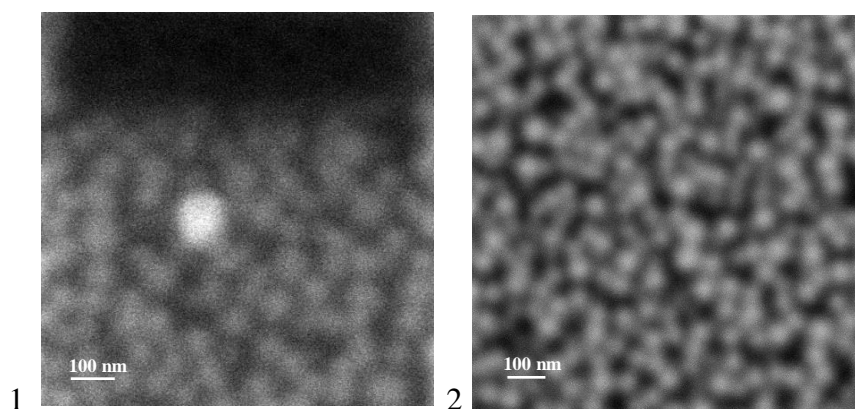


Figure 12 : Clichés enregistrés au microscope confocal en changeant uniquement le temps de vieillissement, avec le composé **28** : matrice TMOS + MTMOS : $d = 0,09$, $s = 20$ 1) 4 h, 2) 20 h.

- Taux de solvant :

Plusieurs tests d'élaboration ont été effectués en modifiant le taux de solvant ($s= 20$ et 30). Les images enregistrées au microscope confocal sont représentées **Figure 13**. Il est observé que lorsque le taux de solvant augmente, la taille des nanocristaux diminue. En effet, plus le taux de solvant augmente, plus la concentration globale en molécules organiques en solution est faible, le seuil de nucléation est alors atteint plus tardivement par rapport à la formation de la couche sol-gel. Ainsi, la condensation du réseau sol-gel est plus avancée lorsque la nucléation se produit et les nanocristaux sont donc plus petits à cause d'un confinement spatial plus fort. Par la suite, nous avons donc utilisé un taux de solvant $s = 30$.

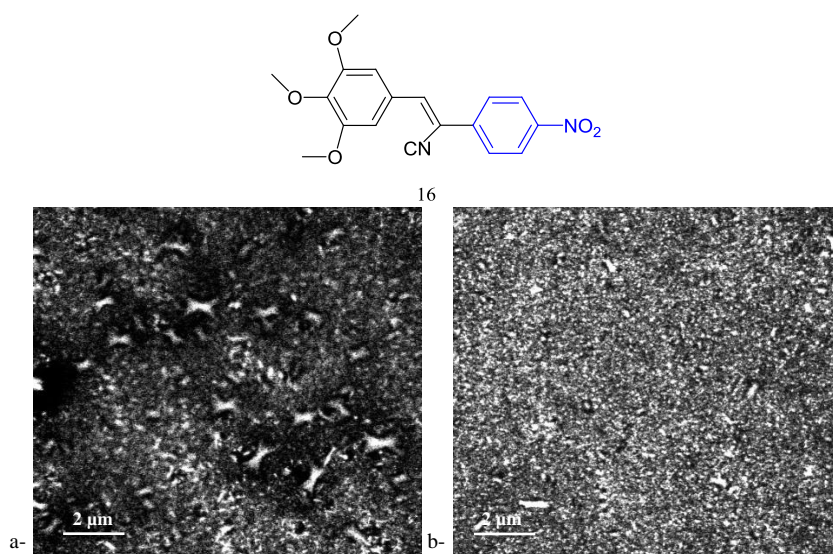


Figure 13 : Clichés enregistrés au microscope confocal en changeant uniquement le paramètre s , composé **16** : matrice TMOS + MTMOS : $d = 0,1$, temps de vieillissement 20 h. $s = 20$ (a) et $s = 30$ (b).

- Taux de molécules organiques :

Finalement le taux de molécules organiques a été ajusté en fonction de la solubilité de chaque composé. Nous avons cherché à saturer les sols en chromophores afin d'obtenir une concentration maximale en composés organiques (**Figure 14**). Lorsque le taux de dopage en fluorophore augmente la nucléation se produit tôt par rapport à l'avancement de la polycondensation de la matrice sol-gel. Ainsi, la nucléation démarre dans un réseau sol-gel très peu interconnecté. Sous l'effet de l'évaporation, on atteint des sursaturations très élevées conduisant à des taux de nucléation importants. On observe donc de très fortes densités de nanocristaux dans les couches. Pour chaque chromophore, nous avons cherché les taux de

dopage en organique les plus élevés possibles, tout en évitant la formation de trop gros cristaux ou de dendrites.

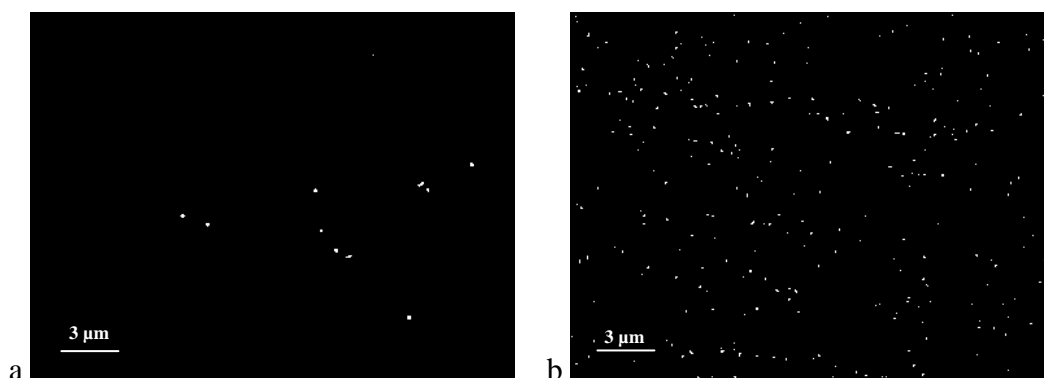


Figure 14: Clichés enregistrés au microscope confocal des deux couches minces du composé **16** sur lame de verre correspondant : (à gauche) $d = 0,02$ et (à droite) $d = 0,1$.

- Bilan :

Il a donc fallu faire un choix judicieux entre le taux de solvant, le temps de vieillissement des sols et la quantité de fluorophores introduite, afin d'obtenir de nombreux nanocristaux de l'ordre de 300 - 400 nm en diamètre bien dispersés et pouvoir ainsi enregistrer les spectres de fluorescence sur un seul monocristal. Finalement, après avoir trouvé les paramètres permettant d'obtenir des nanocristaux de taille moyenne et bien dispersés, les cinq chromophores sélectionnés (**chapitre 2**) ont été testés afin de s'assurer que leurs propriétés de fluorescence ne sont pas altérées lors de l'encapsulation en matrice sol-gel. Récapitulatif des paramètres optimisés pour l'étude des nanocristaux en matrices silicatées :

- Taux de solvant $s = 30$
- Temps de vieillissement des sols 20 h
- Taux de chromophore organique maximal (d_{\max}) défini pour les différents fluorophores étudiés.

2.2.3. Etude du composé **2**

Le premier fluorophore testé, le (E)-2-(benzo[d]thiazol-2-yl)-3-(4-(diphenylamino)phenyl)acrylonitrile (composé **2**), est celui possédant les meilleures caractéristiques : température de fusion de 173 °C, une solubilité de $1,5 \cdot 10^{-1}$ M dans le THF, fluorescent dans la fenêtre de transparence biologique (Excitation 540 nm, maximum d'émission 640 nm)

(**Figure 15**) et un rendement quantique de fluorescence à un photon sur poudre de l'ordre de 18% (Cf. **chapitre 2**).

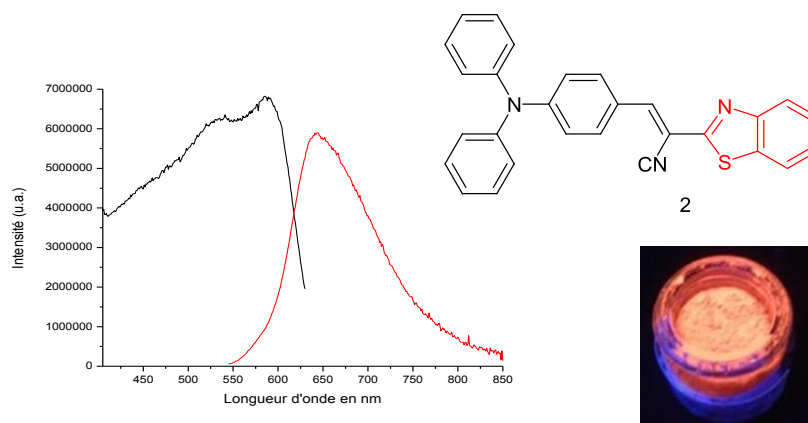


Figure 15 : Spectre de fluorescence du composé **2** sur poudre (gauche): spectre d'excitation (noir) et d'émission (rouge), photographie de la poudre sous lampe UV (excitation à 365 nm) du composé **2** (droite).

Plusieurs élaborations de films avec le chromophore **2** ont été réalisées, avec différents taux de molécules organiques (entre 0.07 et 0.1). Par microscopie optique confocale, nous avons observé des nanocristaux dispersés d'une taille d'environ 400-500 nm de diamètre. Cependant les spectres d'émission de fluorescence sur couche mince sont très décalés dans le bleu (environ 60 nm) en comparaison du spectre de fluorescence obtenu sur poudre microcristalline du composé **2** (**Figure 16**). Cela montre donc que ce chromophore est altéré ou modifié lors de la formation des couches minces. Deux hypothèses sont avancées : la première est une altération de la structure chimique du composé (protonation ou réarrangement), la deuxième une différence de structure cristallographique (polymorphisme). Le sol déposé contenant de l'acide chlorhydrique, le groupement benzothiazole pourrait être protoné lors de l'étape de *spin coating*, ce qui résulterait en une modification des propriétés de fluorescence.

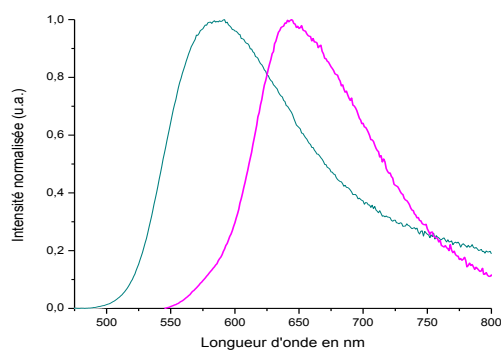


Figure 16: Comparaison des spectres d'émission sur poudre (rose) et spectre sur film de nanocristaux en couche mince sol-gel (TMOS+MTMOS) du composé **2** ; $d = 0.07$, $s = 30$, vieillissement 20 h (vert).

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons procédé à la neutralisation du sol avant introduction du chromophore dans la solution selon différents protocoles (**Tableau 2**).

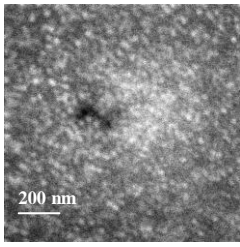
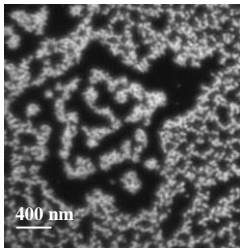
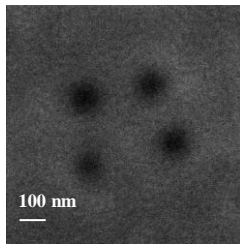
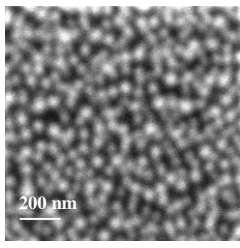
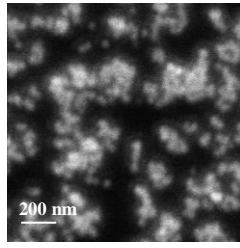
Echantillons	Images microscope
NH ₃ 1M 1eq d=0,07	
NaOH, 1eq d=0,03	
CH ₃ COONa, 1M, 1eq d=0,03	
1HCOOH/0,1HCOONa 1M, d=0,03, (HCl remplacé par HCOOH)	
CH ₃ COOH/CH ₃ COONa, 1M, 1eq d=0,03, (HCl remplacé par CH ₃ COOH)	

Tableau 2 : Récapitulatif des essais de neutralisation avec le composé 2

Les couches minces ont été observées au microscope optique confocal. Diverses conditions ont été testées pour neutraliser l'acide chlorhydrique (NH₃, NaOH, CH₃COONa). De plus, l'acide a aussi été modifié pour fixer un pH moins acide et auquel le benzothiazole ne pourrait pas être protoné (par exemple en utilisant des tampons CH₃COOH/CH₃COONa, à

pH= 4,7). Cependant, malgré l'observation de nanocristaux dispersés sur la plupart des couches minces, la fluorescence reste systématiquement faible et décalée vers le bleu par rapport à celle de la poudre microcristalline (**Figure 17**). En fonction des différentes neutralisations la position du maximum de fluorescence reste inchangée par rapport au spectre du premier essai.

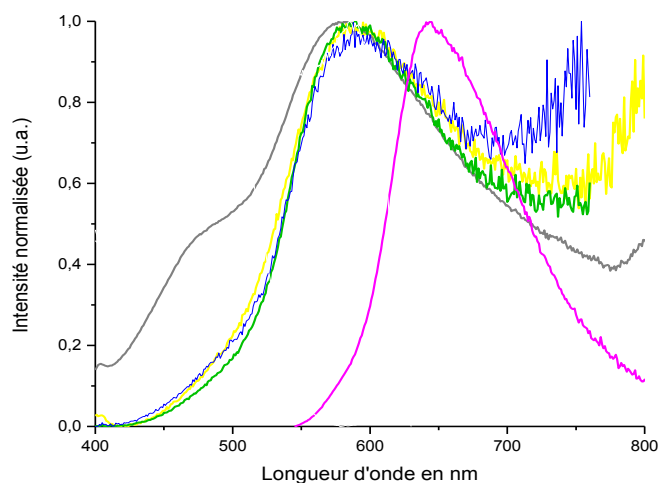


Figure 17: Comparaison des spectres d'émission de fluorescence de la poudre microcristalline (rose) avec ceux enregistrés pour les nanocristaux obtenus lors des différentes conditions de neutralisation des sols: NH_3 (gris), NaOH (vert), acétate de sodium (jaune), sans neutralisation (bleu)

Après les différents tests de neutralisation, on peut conclure qu'il ne s'agit pas de protonation de la molécule **2**. Cela est certainement dû à un changement de polymorphisme. Dans la matrice sol-gel le fluorophore pourrait cristalliser sous la forme d'un nouveau polymorphe. Un arrangement différent des molécules dans le réseau cristallin peut, en effet, engendrer un changement des propriétés spectrales [19-20]. Bien que nous n'ayons pu caractériser qu'un seul polymorphe de cette molécule par diffraction des rayons X, c'est cette hypothèse qui est la plus plausible. En effet, le maximum d'émission de ce composé nanocristallisé en couche mince est situé à environ 580 nm, soit un spectre de fluorescence différent de celui déjà identifié, lorsque **2** est cristallisé dans le DCM (cristaux oranges : maximum d'émission à 640 nm). Des études complémentaires (diffraction RX et diffraction électronique) sont en cours afin d'identifier ce nouveau polymorphe.

Le composé **2** possède probablement plusieurs polymorphes (étude en cours). De plus, en matrice sol-gel le polymorphe qui cristallise fluoresce peu et son émission est décalée vers le bleu. Ainsi, ce composé, qui présentait toutes les qualités pour la réalisation de traceurs

fluorescents ne pourra pas être utilisé pour la synthèse des nanoparticules cœur-coquille. Nous avons ensuite testé les autres composés selon la même méthodologie.

2.2.4. Etude des autres composés en couches minces sol-gel

Nous avons nanocristallisé en couches minces les autres fluorophores présélectionnés : **16**, **27**, **28**, **32** selon les mêmes conditions d'élaboration que pour le composé **2**. Ci-dessous les noms des composés ainsi que leurs formules.

Composé **16**: (Z)-2-(4-nitrophenyl)-3-(3, 4, 5-triméthoxyphényl)acrylonitrile

Composé **27**: (Z)-3-(9-éthyl-9H-carbazol-3-yl)-2-(4-nitrophényl)acrylonitrile

Composé **28**: (E)-4-(2-(9-éthyl-9H-carbazol-3-yl)vinyl)-5, 5'-diméthyl-2-oxo-2, 5-dihydrofuran-3-carbonitrile

Composé **32**: (E)-4-(2-(9-éthyl-9H-carbazol-3-yl)vinyl)-5, 5'-diméthyl-3-(phénylsulfonyl)furan-2(5H)-one

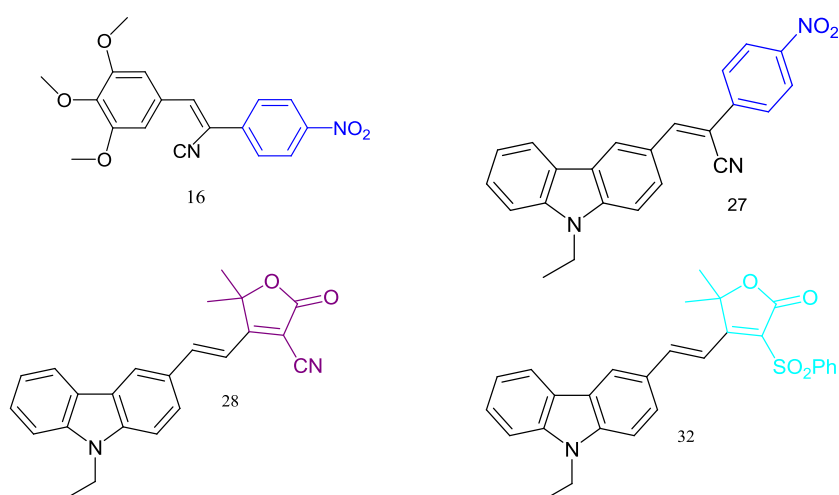


Figure 18 : Récapitulatif des chromophores encapsulés en matrice silicatée: 16, 27, 28, 32.

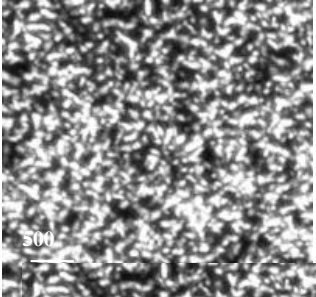
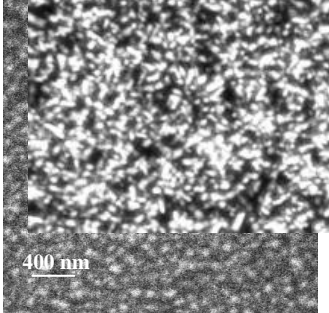
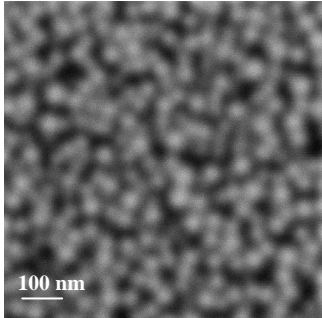
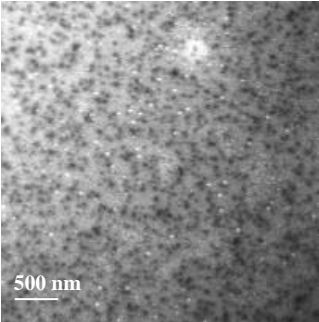
Echantillons	Images microscope
Composé 16 : d= 0,1, vieillissement 20 h, s = 30, Matrice TMOS/MTMOS $T_{\text{fus}} = 161 \text{ }^{\circ}\text{C}$	
Composé 27 : d= 0,05, vieillissement 20 h, s = 30, Matrice TMOS/MTMOS $T_{\text{fus}} = 244 \text{ }^{\circ}\text{C}$	
Composé 28 : d= 0,05, vieillissement 20 h, s = 30, Matrice TMOS/MTMOS $T_{\text{fus}} = 203 \text{ }^{\circ}\text{C}$	
Composé 32 : d= 0,05, vieillissement 20 h, s = 30, Matrice TMOS/MTMOS $T_{\text{fus}} = 250 \text{ }^{\circ}\text{C}$	

Tableau 3 : Images au microscope confocale des couches minces des différents composés.

Pour les différents composés nous avons obtenus des nanocristaux fluorescents bien dispersés en couches mince (**Tableau 3**). La taille des nanocristaux, pour chaque composé, varie de 300 à 500 nm. Ces tailles sont tout à fait adaptées pour l'analyse des couches minces en spectroscopies de fluorescence. Ainsi, les spectres d'émission de fluorescence des quatre composés ont été comparés à ceux enregistrés avec la poudre microcristalline (**Figure 19** et

20) correspondant au fluorophore pur, afin de vérifier que l'on cristallise bien en matrice sol-gel le même polymorphe.

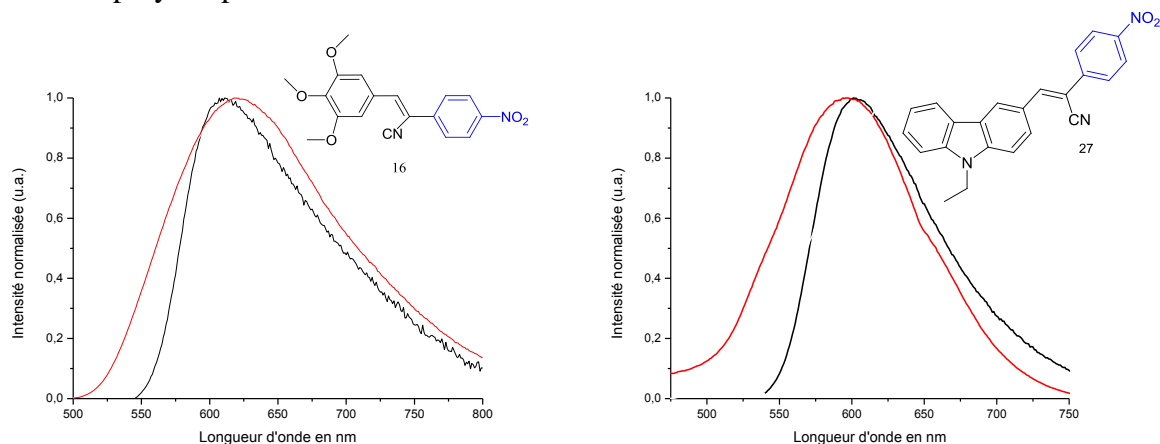


Figure 19: Comparaison des spectres de fluorescence normalisés des composés **16** (gauche) et **27** (droite) pour les poudres microcristallines (noir) et pour les nanocristaux confinés en couches minces dans une matrice TMOS + MTMOS, $s = 30$, $d = 0.07$: temps de vieillissement 20 h (rouge).

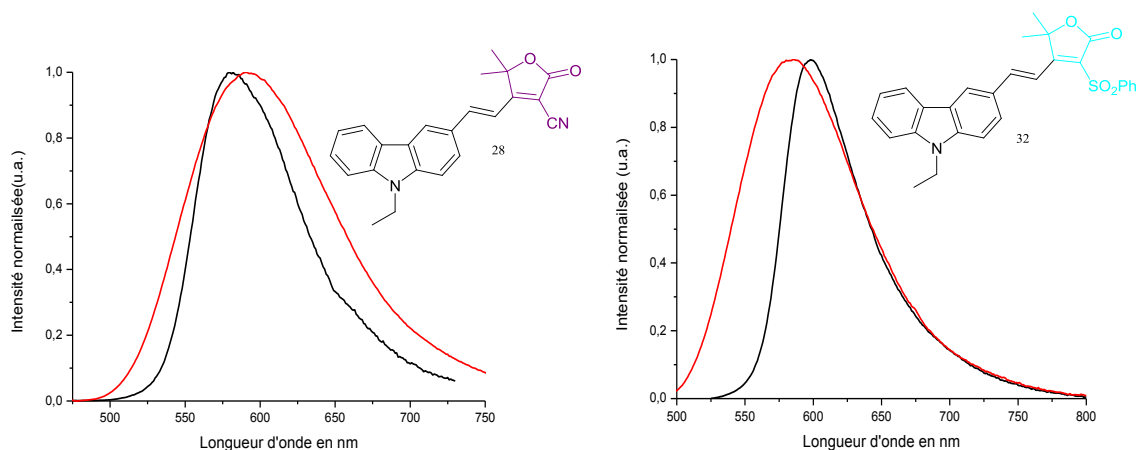


Figure 20: Comparaison des spectres de fluorescence normalisés des composés **28** (gauche) et **32** (droite) pour les poudres microcristallines (noir) et pour les nanocristaux confinés en couches minces dans une matrice TMOS + MTMOS, $s = 30$, $d = 0.05$: temps de vieillissement 20 h (rouge).

Pour les quatre composés les maxima des spectres d'émissions en couches minces et en poudre sont très proches. Lors de l'élaboration des couches minces, la structure cristalline de ces composés n'est donc pas modifiée. A noter que les spectres d'émission en couches minces sont plus élargis en comparaison des spectres sur poudre, cela est probablement dû au phénomène de réabsorption dans le bleu, plus fort pour les microcristaux [21]. En effet, la taille des nanocristaux en couches minces est de l'ordre d'une centaine de nanomètre, le phénomène de réabsorption est alors moins important que dans le cas de poudres, où la taille est de l'ordre du micromètre (épaisseur plus importante).

En conclusion, ces élaborations préliminaires de nanocristaux en couches minces nous ont permis de sélectionner uniquement les composés qui nanocristallisent correctement en matrice sol-gel selon le même polymorphe fluorescent, soit les composés **16**, **27**, **28** et **32** que nous avons ensuite élaborés sous forme de nanoparticules cœur-coquille.

3. Encapsulation des chromophores en coquilles organosilicatées

Le procédé de synthèse de nanoparticules cœur-coquille a été optimisé pendant la thèse de Cécile Philippot [17] (Cf. **chapitre 1**). Les paramètres importants pour l'élaboration des nanoparticules cœur coquille et les améliorations apportées ensuite pendant ma thèse et celle de Joséphine Zimmermann sont présentés ci-dessous.

3.1. Principaux paramètres pour le procédé de nébulisation et séchage des sols

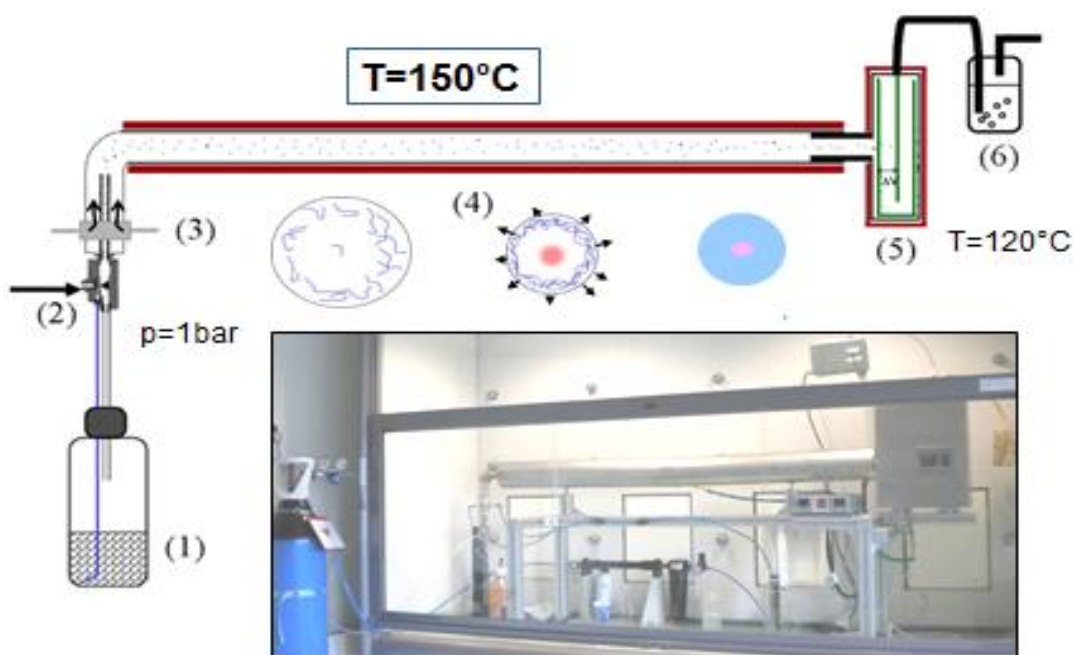


Figure 21 : Schéma du montage du *spray drying*.

Le sol est introduit dans une bouteille (1), qui est ensuite fermée hermétiquement. La buse de nébulisation pneumatique (2) utilise un flux d'azote, qui par effet Venturi permet la montée du sol du flacon vers l'injecteur via un capillaire. Le nébuliseur va ensuite permettre la fragmentation de la solution en fines gouttelettes. L'arrivée de gaz vecteur (air comprimé

(3)) assure un flux laminaire dans le four tubulaire (4) dans lequel est réalisé le séchage des nanoparticules. De par leur charge de surface, en sortie de four, un filtre électrostatique (5) permet de les attirer vers l'électrode centrale.

- Pression du gaz de nébulisation:

La pression et le débit du gaz qui permet de disperser le liquide en fines gouttelettes est l'un des paramètres les plus importants. En effet, un débit minimum (inférieur à 0.9 L/min) est nécessaire pour aspirer le liquide et former l'aérosol. Cependant, un débit trop élevé (à partir de 1.2 L/min) conduit à un temps de passage court dans le four, d'où un séchage incomplet provoquant l'agglomération et la déformation des particules sur le filtre électrostatique (**Figure 22**).

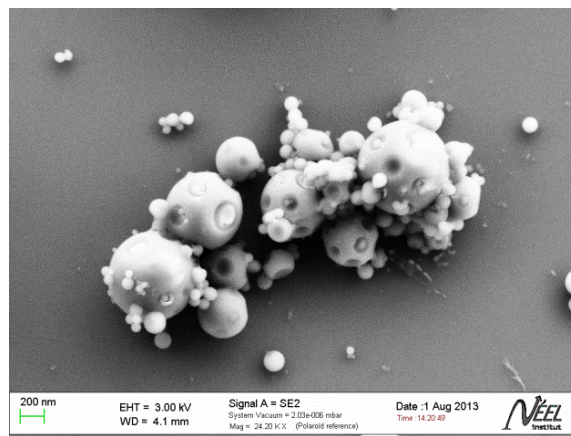


Figure 22: Cliché MEB de nanoparticules 8TMOS/ 1C₃O₄ sans chromophore, avec un débit de 1.5 L/min.

- Débit du second gaz vecteur :

Pour s'assurer que les nanoparticules soient transportées sous un flux laminaire dans le four, une arrivée supplémentaire de gaz vecteur a été mise en place [22]. Là encore, le débit doit être suffisamment faible pour permettre un temps de résidence minimal des nanoparticules dans le four.

- Température du four :

La température du four joue un rôle très important pour le séchage des gouttelettes et la formation des nanoparticules. Si la température du four est trop faible, le séchage des

nanoparticules sera incomplet et les nanoparticules seront déformées lors de leur collection dans le filtre électrostatique. Une température minimale de l'ordre de 150 °C est requise pour ce four de 160 cm, afin d'évaporer les solvants et l'eau assez rapidement. Cependant, si la température est proche de la température de fusion du chromophore organique, la cristallisation pourra être perturbée. Par exemple, par sublimation de la phase organique à l'extérieur des gouttelettes, ce qui induit une ségrégation de cette phase organique en dehors des particules de silice, comme cela a été observé pour le **CMONS** dans la thèse de Cécile Philippot [17]. Ainsi, pour utiliser cette température minimale de séchage de 150 °C nous avons dû sélectionner des fluorophores à point de fusion supérieur à 160 °C.

- Température du filtre électrostatique :

D'autre part, le filtre électrostatique a été thermostaté afin de permettre l'élimination totale des résidus de solvants et de récupérer plus facilement les nanoparticules une fois la synthèse terminée et le réacteur refroidi. Pour éviter toute condensation de solvant ou d'eau en sortie de four tubulaire, le filtre a été placé à une température supérieure au point d'ébullition de l'eau, soit à 120 °C. C'est une température inférieure à la température du four, pour éviter toute altération des fluorophores, car les nanoparticules doivent y séjourner parfois plusieurs heures.

- Bilan des paramètres optimisés préalablement par Cécile Philippot :

Tous les paramètres optimisés par Cécile Philippot pendant sa thèse [17] sont récapitulés ci-dessous :

- Pression d'azote : 1 bar
- Débit d'air comprimé : 1,5 L/min
- Température du four : 150 °C
- Température filtre électrostatique : 120 °C
- Solvant : THF
- Matrice : 2 TMOS / TMSE ou 8 TMOS / 1 C₃O₄

Les sols sont préparés de la même manière que pour l'élaboration des couches minces. Les précurseurs alcoxydes de silicium sont introduits dans un flacon séché en boîte à gants, puis, au dernier moment, l'eau, l'acide et le THF sont introduits en dehors de la boîte à gants.

Ensuite, les sols sont vieillis à l'étuve (température 80 °C) pendant une semaine. Lorsque les sols sont prêts, les fluorophores sont mis, seulement quelques minutes avant la synthèse des nanoparticules cœur-coquille. Pour la synthèse des nanoparticules cœur-coquille, le taux de solvant s est nettement plus élevé ($s = 500 - 750$) qu'en couche minces ($s = 30$), afin d'obtenir des tailles de nanoparticules inférieures à 100 nm de diamètre, à partir de gouttelettes de sol de 1 -2 microns produites par nébulisation.

Les premiers résultats avec la molécule de référence, le **CMONS**, ont été très encourageants. Cécile Philippot a ainsi utilisé un taux de solvant $s = 500$ afin d'obtenir des nanoparticules de petites tailles [17]. Ce taux de solvant sera utilisé comme point de départ pour l'optimisation des chromophores sélectionnés au **chapitre 2**. De plus, elle a pu montrer que des nanoparticules contenant un cœur monocristallin sont obtenues de façon reproductible, ce qui était un critère indispensable pour synthétiser, ensuite, des nanoparticules avec de nouveaux chromophores.

- Cœur organique monocristallin :

En dissolvant la coquille silicatée des nanoparticules obtenues par *spray drying* avec la molécule de référence CMONS, Cécile Philippot [17] a montré que le cœur de la nanoparticule était monocristallin. Les clichés, obtenus au MEB, sont exposés ci-dessous, **Figure 23**. On observe des cristaux bien facettés qui présentent la morphologie cristalline caractéristique de celle d'un monocristal (**Figure 23-a**).

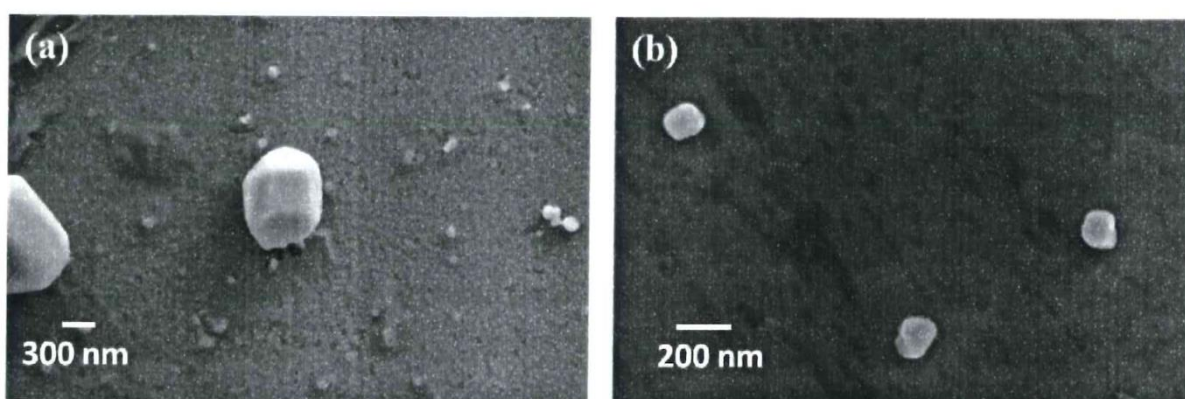


Figure 23: Clichés MEB de cristaux de CMONS obtenus suite à la dissolution totale de la coquille silicatée par dissolution à la soude 0.01M: (a) cristal de 600 nm issu du décapage d'une particule avec un diamètre initial de 700-800 nm et (b) 3 cristaux de 150 nm issus de la dissolution totale de la coquille silicatée de particules avec des diamètres initiaux de 200- 300 nm. [17]

Ce caractère monocristallin des cœurs organiques a été confirmé par diffraction électronique qui a permis d'enregistrer des diagrammes de diffraction d'électrons bien définis, correspondant à la diffraction d'un seul cristal [19]. Cela permet donc d'envisager des propriétés d'émetteur de fluorescence unique pour les nanoparticules cœur-coquille avec de nouveaux chromophores.

- Généralisation de cette méthode de nanocristallisation :

Une collaboration étroite avec le laboratoire de chimie de l'ENS Lyon [23] a permis de tester le caractère générique de cette méthode en réalisant des premiers essais de nanocristallisation avec d'autres chromophores émettant dans le rouge et le proche infrarouge. Durant sa thèse, Julien Massin a synthétisé quatre composés (**Figure 24**), répondant au critère de point de fusion supérieur à 170 °C et à une bonne solubilité dans le THF. Ces fluorophores ont ainsi pu être correctement encapsulés en matrice de silice par le procédé de *spray drying*.

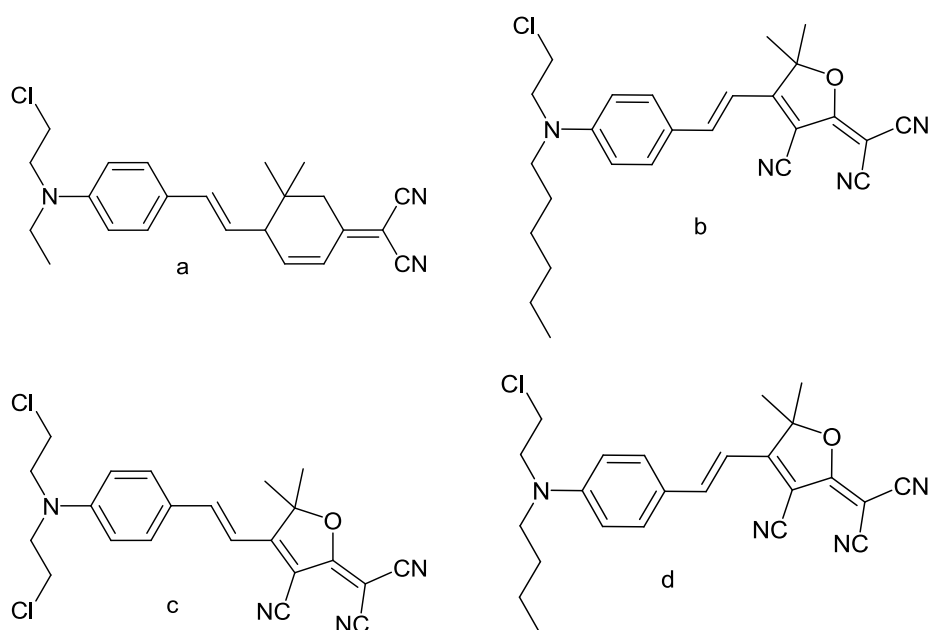


Figure 24 : Composés dicyanoisophorone (a) et tricyanofurane (b-d).

3.2. Optimisation des paramètres antérieurs

Dans le cadre de ma thèse, j'ai repris les conditions expérimentales de *spray drying* que j'ai ensuite optimisées pour les quatre fluorophores que nous avons sélectionnés.

- Installation d'un débitmètre en amont de la buse de nébulisation :

En effectuant des synthèses à des débits d'azote différents (**Figure 25**), nous avons constaté que le flux d'azote doit être contrôlé avec une grande précision. En effet, pour des débits de l'ordre de 1,5 L/min le temps de résidence des gouttelettes dans le four est trop court et les nanoparticules ne bénéficient pas d'un temps de séchage suffisant. On obtient ainsi des particules incrustées les unes dans les autres (**Figure 25-a**). C'est pourquoi, nous avons installé un débitmètre à l'entrée de l'arrivée du flux d'azote (**Figure 26**), afin de contrôler et réguler le flux à un débit de 1 L/min. Ce contrôle du flux d'azote a ainsi permis d'améliorer la reproductibilité de nos expériences et d'obtenir des nanoparticules cœur-coquille totalement séchées (bien sphériques), présentant des surfaces non rugueuses.

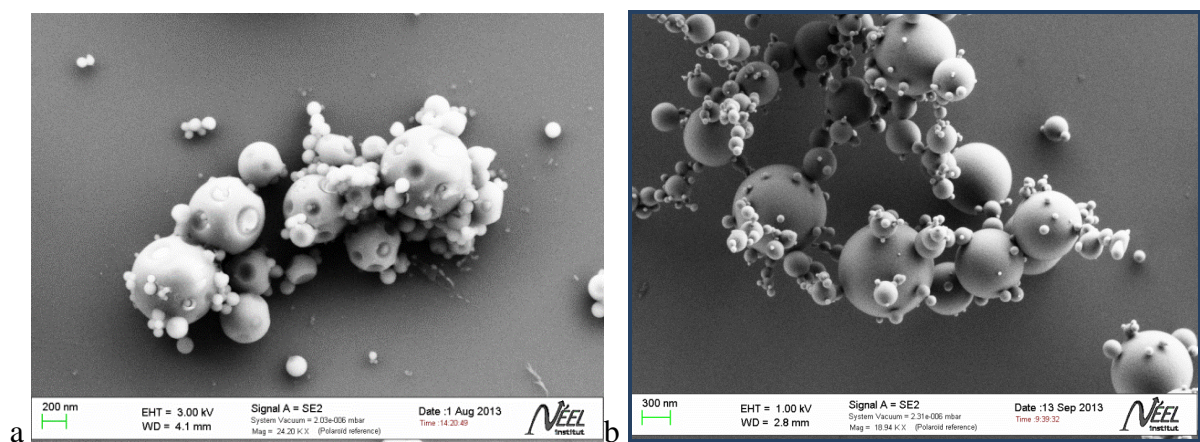


Figure 25: Cliché MEB de nanoparticules 8TMOS/ 1C₃O₄ sans chromophore, avec un débit de 1.5 L/min (a) et 1 L/min (b).



Figure 26: Photographie du débitmètre installé en amont de la buse de nébulisation pour contrôler le débit d'azote.

- Profil thermique du four :

Un profil thermique longitudinal du four a été réalisé (50 cm en profondeur en sortie du four, la pénétration de la sonde ne pouvant excéder cette longueur) (**Figure 27**) afin de s'assurer de l'homogénéité de la température dans l'ensemble du four. A noter que lorsque la température du four est modifiée, les profils thermiques sont régulièrement contrôlés. Ci-dessous un exemple de profil thermique réalisé avec la sonde placée au centre du tube.

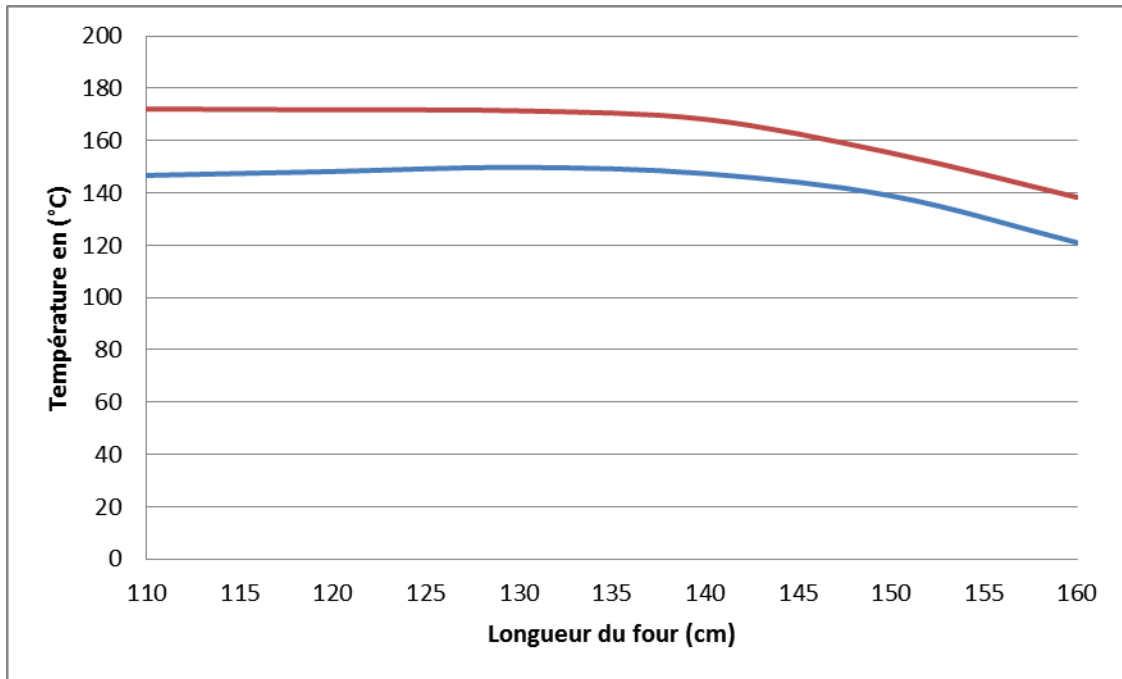


Figure 27: Profils de température longitudinaux obtenus avec des consignes de température à 150 °C (bleu) et à 175 °C (rouge).

On peut s'apercevoir qu'il n'y a aucun point chaud observé, que ce soit à 150 °C ou à 175 °C. Cependant, il faut souligner que la sonde utilisée ne mesure que 50 cm de longueur, il n'a donc pas été possible d'effectuer des mesures au-delà de cette longueur (la mesure à 160 cm correspondant à la mesure en sortie de four). On a donc émis l'hypothèse, puisque la température est constante de 110 à 140 cm, qu'il en est de même dans toute la longueur du four, à l'exception des extrémités du four, injection d'un spray, d'une part, et en sortie de four d'autre part. Lors des étalonnages thermiques, nous avons observé une diminution logique de température en sortie du four.

3.3. Encapsulation des nouveaux chromophores sélectionnés

Une fois les paramètres d'élaboration des nanoparticules ajustés, les chromophores préalablement sélectionnés après l'étape de nanocrystallisation en couches minces ont été

testés. Dans un premier temps, il a fallu déterminer le taux de molécules organiques, d , optimal afin d'obtenir des cœurs fluorescents de taille de plusieurs dizaines de nanomètres pour l'élaboration de nanoparticules fortement fluorescentes. En revanche, un excès de chromophore dans le sol initial peut induire la nucléation de nanocristaux en dehors des nanoparticules (**Figure 28** : cristaux formés à l'extérieur des nanoparticules).

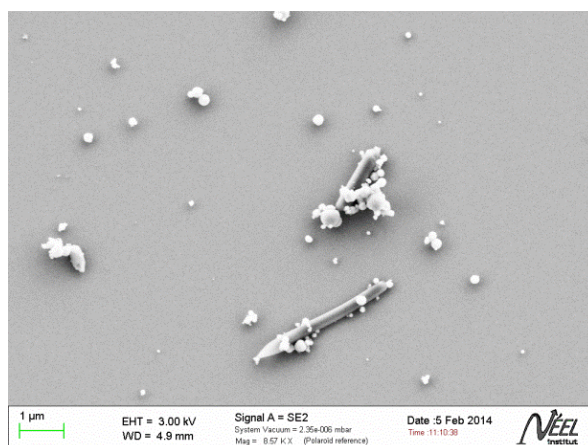


Figure 28: Cliché MEB de nanoparticules 8TMOS/ $1\text{C}_3\text{O}_4$ contenant le composé **16**, $s = 750$, à $d = 0.07$ avec un débit de 1 L/min.

3.3.1. Optimisation du taux de chromophores dans les nanoparticules

Pour déterminer le taux maximal de molécules organiques de chaque composé, il est nécessaire d'effectuer une dizaine de préparations environ. Dans un premier temps, la solubilité des chromophores a été comparée à la solubilité du CMONS, pour lequel le paramètre d a été optimisé. Les solubilités et les points de fusion pour chaque molécule sont répertoriés dans le **Tableau 4**.

Molécules	T_{fus} (°C)	Solubilité (mol/L), à 25 °C
16	161	0.09
27	244	0.005
28	203	0.03
32	250	0.05
CMONS	165	0.15

Tableau 4 : Solubilités et températures de fusion des composés sélectionnés et du **CMONS**.

Les fluorophores retenus ont une solubilité plus faible que celle du **CMONS**. C'est pourquoi les premiers sols ont été préparés avec un d compris entre 0,05 et 0,07, inférieur au d optimal du **CMONS** ($d = 0,09$). Lorsque des cristaux moléculaires sont apparents en dehors des coquilles silicatées (imagerie MEB : exemple donnée en **Figure 28**), le taux de fluorophores a ensuite été diminué jusqu'à ce que l'on obtienne des nanoparticules parfaitement sphériques, sans la moindre présence de cristallites organiques en dehors de celles-ci. Les différentes optimisations ont été réalisées à partir de sols contenant les précurseurs de la matrice silicatée $8 \text{ TMOS} + 1 \text{ C}_3\text{O}_4$, avec comme taux de solvant $s = 500$ et 750 et un temps de vieillissement des sols de sept jours à l'étuve à $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Les sols ont ensuite été nébulisés selon les conditions préalablement définies (débit 1 L/min , $T_{\text{four}} = 155\text{-}175 \text{ }^\circ\text{C}$, $T_{\text{filtre}} = 120 \text{ }^\circ\text{C}$). En fin de synthèse, les nanoparticules ont été récoltées à l'aide d'un pinceau, sur la tige du filtre électrostatique (**Figure 29**).

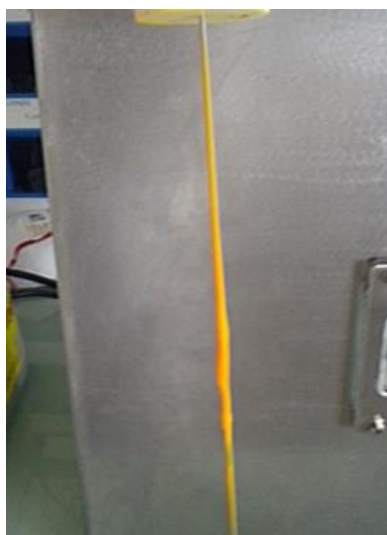


Figure 29: Clichés du filtre électrostatique après synthèse de nanoparticules avec le composé **28** et avant récolte des nanoparticules, $s = 750$, matrice $8 \text{ TMOS} + 1 \text{ C}_3\text{O}_4$, $d = 0,04$.

Les conditions optimales pour chaque chromophore sont répertoriées dans le **Tableau**

5.

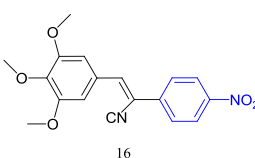
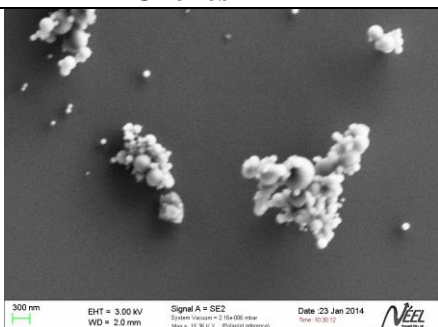
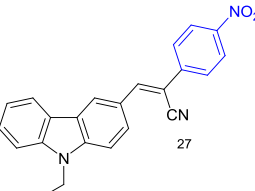
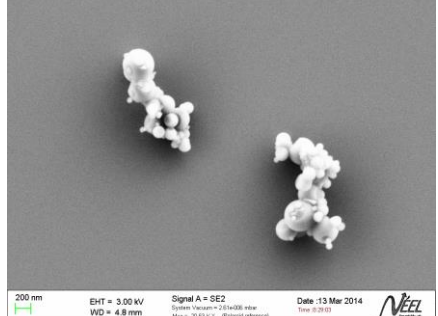
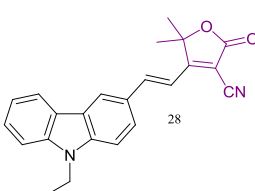
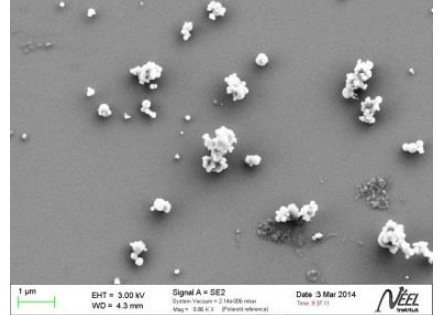
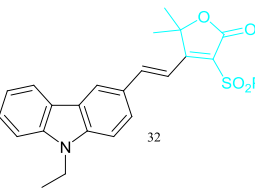
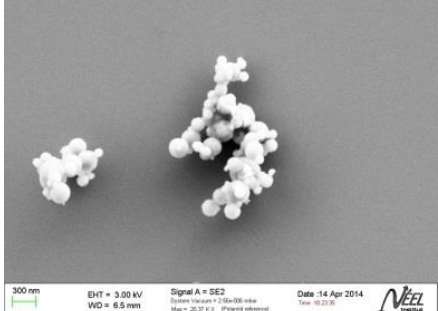
Chromophore	Taux de fluorophore d	Clichés MEB
 <p>16</p> <p>$T_{\text{fus}} = 161\text{ °C}$</p>	<p>$d = 0,04, s = 500$</p> <p>$T_{\text{four}} = 155\text{ °C},$</p> <p>$T_{\text{filtre}} = 120\text{ °C}$</p>	 <p>300 nm EHT = 3.00 kV Signal A = SE2 System Vacuum = 2.75e-08 mbar Date: 23 Jan 2014 WD = 2.9 mm Mag = 15.36 k X (Filtered reference) Time: 10:50:12</p>
 <p>27</p> <p>$T_{\text{fus}} = 244\text{ °C}$</p>	<p>$d = 0,02, s = 750$</p> <p>$T_{\text{four}} = 175\text{ °C},$</p> <p>$T_{\text{filtre}} = 120\text{ °C}$</p>	 <p>200 nm EHT = 3.00 kV Signal A = SE2 System Vacuum = 2.75e-08 mbar Date: 13 Mar 2014 WD = 4.8 mm Mag = 20.63 k X (Filtered reference) Time: 8:29:33</p>
 <p>28</p> <p>$T_{\text{fus}} = 203\text{ °C}$</p>	<p>$d = 0,04, s = 750$</p> <p>$T_{\text{four}} = 175\text{ °C},$</p> <p>$T_{\text{filtre}} = 120\text{ °C}$</p>	 <p>1 µm EHT = 3.00 kV Signal A = SE2 System Vacuum = 2.75e-08 mbar Date: 3 Mar 2014 WD = 4.3 mm Mag = 9.86 k X (Filtered reference) Time: 8:37:11</p>
 <p>32</p> <p>$T_{\text{fus}} = 250\text{ °C}$</p>	<p>$d = 0,05, s = 750$</p> <p>$T_{\text{four}} = 175\text{ °C},$</p> <p>$T_{\text{filtre}} = 120\text{ °C}$</p>	 <p>300 nm EHT = 3.00 kV Signal A = SE2 System Vacuum = 2.75e-08 mbar Date: 14 Apr 2014 WD = 6.5 mm Mag = 20.22 k X (Filtered reference) Time: 10:20:36</p>

Tableau 5: Conditions expérimentales pour obtenir des nanoparticules cœur-coquille fluorescentes dans le proche infrarouge.

Finalement, malgré des solubilités plus faibles que celle du **CMONS**, les taux de molécules organiques d optimisés sont compris entre 0,02 et 0,05 selon les chromophores synthétisés. De plus, les points de fusion étant largement supérieurs à celui du **CMONS**, le four a été réglé à 175 °C afin de mieux sécher les nanoparticules. Ainsi, il a été possible

d'augmenter le taux de solvant en passant de $s = 500$ à $s = 750$, dans le but d'obtenir des nanoparticules de plus petites tailles avec des diamètres inférieurs à 100 nm.

3.3.2. Optimisation de la taille et de la dispersion des nanoparticules en solution

Après récolte des nanoparticules sur le filtre électrostatique, on constate que les nanoparticules s'agrègent systématiquement en solution aqueuse (**Figure 30**). Lorsque les solutions sont soumises à des ultrasons, on constate qu'une grande partie du solide est dispersé, le surnageant étant alors homogène et fluorescent. Néanmoins, cette suspension n'est pas stable dans le temps (quelques jours seulement : **Figure 30-a**).

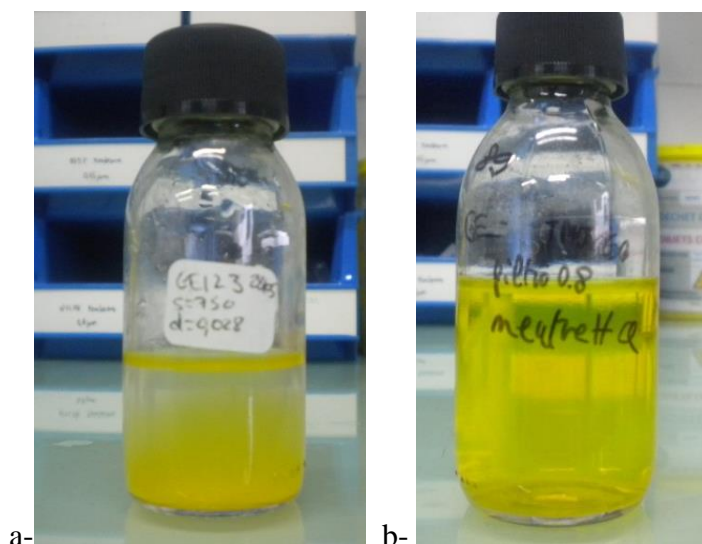


Figure 30: Agrégation des nanoparticules du composé **27** dans l'eau, juste après la synthèse (gauche) et après traitement basique et filtrations (droite).

- Protocole pour stabiliser les nanoparticules :

Les particules récoltées sont légèrement agrégées, comme le montrent les images MEB. Afin de les séparer, un traitement basique en solution est appliqué (solution de soude à 0,01 M pendant 48 h à l'abri de la lumière, pour $s = 500$ et seulement 6 h pour $s = 750$). Cela permet de dissoudre de façon contrôlée sur quelques nm les coquilles silicatées et ainsi de séparer les particules agrégées [15, 17 et 24]. Les suspensions ont ensuite été neutralisées en ajoutant une solution d'acide chlorhydrique 0,1 M.

A la suite de ce traitement acido-basique, il a fallu sélectionner les nanoparticules de plus petites tailles (diamètre inférieur à 100 nm). En premier lieu, les solutions ont été centrifugées pour éliminer les plus grosses nanoparticules (8000 tours/min pendant 5 min). Puis, le surnageant obtenu a été filtré plusieurs fois avec des filtres à porosité variable (de 1 μm à 100 nm) afin d'obtenir des nanoparticules aux tailles souhaitées et ainsi supprimer totalement les nanoparticules de diamètre supérieur à 100 nm.

- Bilan :

Après traitement les nanoparticules forment des suspensions stables colloïdalement (figure 31-b). Le potentiel Zeta mesuré est de -38 mV pour ces nanoparticules en suspension. La taille des nanoparticules avec le chromophore **32** a ensuite été mesurée par diffusion dynamique de la lumière (DLS). Nous observons, d'après la **Figure 31**, que lorsque le taux de solvant s est augmenté (passant de $s = 500$ à $s = 750$) la taille des nanoparticules diminue significativement passant de 70 nm à $40 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$. Ceci est particulièrement encourageant pour la suite du projet.

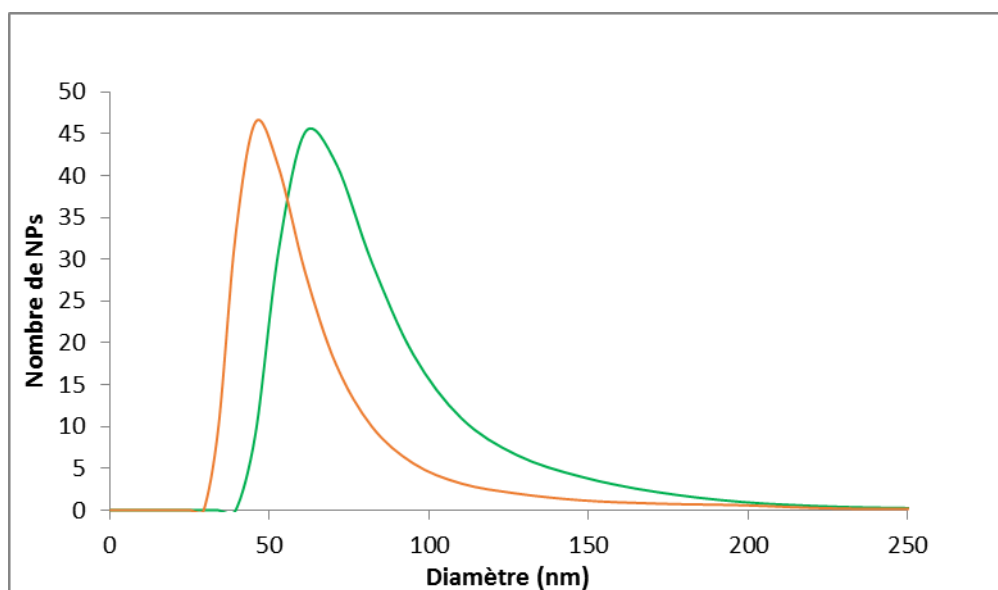


Figure 31 : DLS d'une suspension colloïdale du composé **32**, matrice TMOS / TMSE à $s = 500$ (vert) et à $s = 750$ (orange).

Les nanoparticules sphériques obtenues en suspension colloïdale ont ensuite été caractérisées par spectroscopie de fluorescence.

3.3.3. Caractérisations spectroscopiques des nanoparticules

- Etude spectroscopique des nanoparticules :

Les nanoparticules ainsi obtenues ont été étudiées par spectroscopie de fluorescence afin de s'assurer que les conditions de nanocrystallisation en température ($T = 175\text{ °C}$) et sous confinement en coquille sol-gel n'avaient pas affecté les propriétés de fluorescence. Les spectres d'émission normalisés des composés en poudre microcristalline, et sous forme de nanocristaux encapsulés sont comparés et rassemblés ci-dessous (**Figure 32 et 33**) pour les quatre fluorophores sélectionnés.

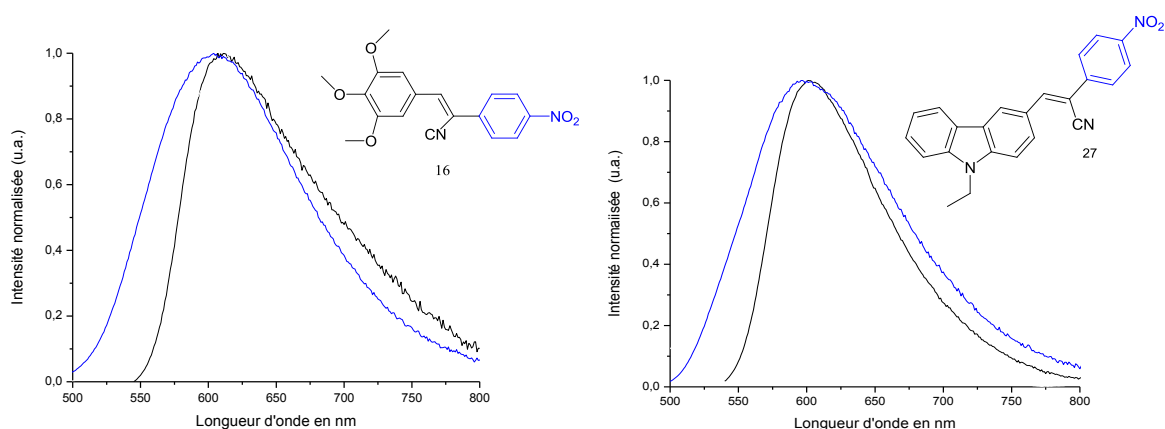


Figure 32: Comparaison des spectres d'émission normalisés des composés **16** (gauche) et **27** (droite) sur poudre microcristalline (noir) et encapsulé dans une matrice silicatée en suspension dans l'eau (bleu).

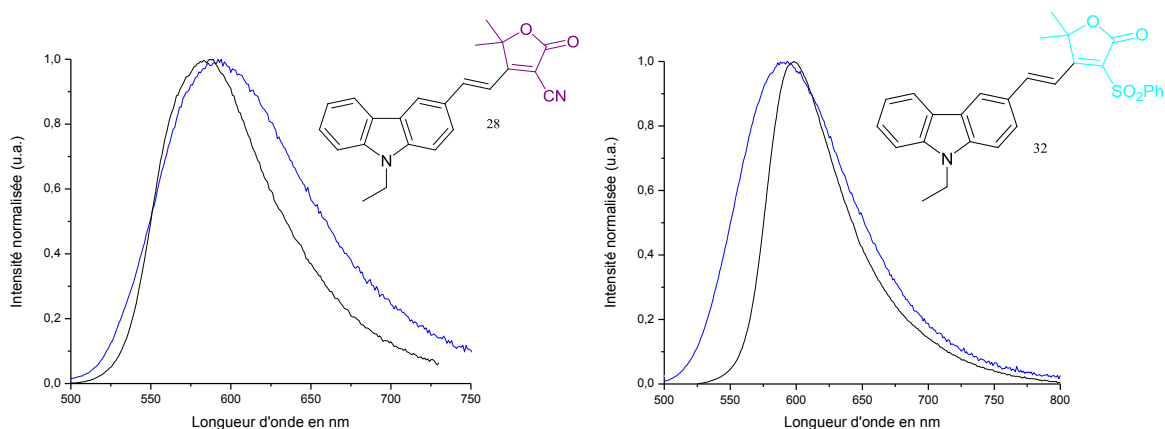


Figure 33: Comparaison des spectres d'émission normalisés des composés **28** (à gauche) et **32** (à droite) sur poudre microcristalline (noir) et encapsulé dans une matrice silicatée en suspension dans l'eau (bleu).

Pour les quatre composés, les trois spectres de fluorescence ont des profils très similaires (**Figure 32 et 33**). Les chromophores sélectionnés, qu'ils soient encapsulés dans une matrice silicatée, en couche mince à température ambiante ou qu'ils soient soumis à des températures de l'ordre de 150-175 °C (en fonction de la température de fusion de ces

derniers) pour le séchage par spray ont donc des structures similaires (correspondant ainsi au même polymorphe). De plus, il est à noter qu'un phénomène de réabsorption dans le bleu (à l'exception du composé **28**), est à nouveau observé sur microcristaux car l'épaisseur est également plus importante que dans le cas des nanoparticules cœur-coquille (diamètre < 100 nm).

Une fois les nanoparticules synthétisées et analysées par spectroscopie, il a fallu obtenir des suspensions colloïdales stables afin de pouvoir envisager de les injecter. Les nanoparticules ont donc été dispersées en solution aqueuse en se basant sur le protocole établi par Cécile Philippot [17] et optimisé par Joséphine Zimmermann. Ce protocole a été adapté pour les nanoparticules de plus petites tailles (diamètre < 80 nm).

3.3.4. Mesure du rendement quantique des nanoparticules

Les rendements quantiques à un photon des nanoparticules ont été déterminés afin de pouvoir comparer l'efficacité d'émission de ces nouveaux chromophores par rapport au CMONS qui est le composé référence dans cette étude. Le principe de mesure du rendement quantique à l'état solide est le même que celui décrit au **chapitre 2** [25]. Il consiste à introduire les nanoparticules, en suspension colloïdale dans l'eau, dans le même porte-échantillon qui a servi à la mesure du rendement quantique des fluorophores « nus » en suspension (**chapitre 2** : une solution de chromophore dissout dans le THF que l'on fait précipiter dans de l'eau). Puis, en utilisant une sphère d'intégration, les différentes mesures sont effectuées afin d'y évaluer les rendements quantiques. Les rendements quantiques obtenus par cette méthode sont répertoriés dans le **Tableau 6**.

Molécules	Φ_F (%)susp.	Φ_F (%) NP
16	1	1
27	7	5
28	4	3
32	7	4
CMONS	11	5

Tableau 6 : Mesure du rendement quantique des nanoparticules (susp.: en suspension colloïdale dans l'eau, NP : en nanoparticule cœur-coquille).

La molécule **CMONS** est utilisée ici comme référence, afin de pouvoir comparer les composés **16**, **27**, **28** et **32** à cette dernière. Les rendements quantiques obtenus en suspension varient entre 1 et 7 %, alors que la mesure du rendement quantique du **CMONS** est légèrement supérieure (11%). De plus, on remarque que les rendements quantiques obtenus avec les nanoparticules cœur-coquille varient entre 1 et 5 %. Ils sont donc légèrement inférieurs en comparaison à ceux obtenus avec les fluorophores « nus » en suspension.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer de telles variations de rendements quantiques. D'une part, il n'est actuellement pas possible de contrôler exactement la quantité de fluorophores dans les nanoparticules cœur-coquille. Une concentration moindre pourrait expliquer un rendement de fluorescence plus faible qu'en suspension THF/eau, où la concentration est mieux contrôlée. D'autre part, les rendements quantiques sont relativement faibles, les incertitudes de mesures pourraient donc également expliquer des écarts de 2 - 3 %.

4. Conclusions

Suite à la sélection des cinq composés à la fin du **chapitre 2** répondant au cahier des charges, une première étape d'encapsulation des chromophores sur couche mince sol-gel a été réalisée. Nous avons prouvé que cette étape permettait de tester en peu de temps le comportement des chromophores dans un milieu confiné. Les analyses par spectroscopie de fluorescence des nanocristaux encapsulés en matrices sol-gel ont été comparées à ceux obtenus sur poudre microcristalline. En ce qui concerne les composés **16**, **27**, **28** et **32** les maxima des spectres d'émission en couches minces et en poudre sont très proches, la structure cristalline de ces composés n'est donc pas modifiée. Cependant, nous avons observé que le composé **2** présentait un polymorphisme, il n'a donc pas été retenu pour la suite du projet.

Les quatre composés **16**, **27**, **28** et **32** ont été encapsulés en coquilles silicatées par la méthode de *spray drying*. Puis, une fois le taux de chromophore optimisé, les nanoparticules ont subi un traitement basique afin de les rendre stables colloïdalement dans l'eau. Les analyses sur ces solutions ont été très encourageantes. D'une part, les mesures de DLS ont montré que lorsque le taux de solvant était de $s = 750$, le diamètre des nanoparticules était plus petit (diamètre # 40 nm) que pour $s = 500$ (diamètre # 60 nm). D'autre part, les mesures du rendement quantique des nanoparticules avec les nouveaux chromophores sont équivalentes à celle du **CMONS**, molécule donnant déjà des résultats encourageant pour l'imagerie médicale (malgré son émission à 560 nm).

Bibliographie

- [1]: C. Philippot, N. Marcellin, E. Djurado, A. Ibanez, Nanocristaux fluorescents enrobés d'une coquille inorganique, CNRS Patent, FR N°08/51830, réf: PCT/FR2009/000294 (2009).
- [2]: P. Audebert, F. Miomandre, *Procédé sol-gel de polymérisation*, Techniques de l'Ingénieur, 2005, AM3048.
- [3]: S. Sallard, Etudes électrochimiques des cinétiques de polycondensation sol-gel et de la fractabilité des xérogels, Thèse de doctorat de l'Ecole Normale Supérieure de Cachan, 2004.
- [4]: C.J. Brinker, G.W. Scherrer, *Sol-Gel Sci.*, 1990: Academic Press, Inc. Boston, San Diego, New York, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
- [5]: Brinker, Scherrer, *the Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, 1990.
- [6]: D. Gallagher, T.A. Ring, Sol-Gel Processing of Ceramic Films, *Chimia*, 1989, 43 (10), 298-304.
- [7]: D. Gallagher, L.C. Klein, Silica Membranes by the Sol-Gel Process, *J. Colloid Interf. Sci.*, 1986, 109, 40-45.
- [8]: B. Boury, F. Ben, R.J.P. Corriu, P. Delord, M. Nobili, Control of the anisotropic organization of nanostructured silica-based hybrid materials, *Chem. Mater.*, 2002, 14, 730-738.
- [9]: A.P. Rao, A.V. Rao, Optical and dielectric properties of organic laser dye Rhodamine 6G doped silica xerogels with the variation of the sol-gel parameters, *Indian J. Eng. Mater. Sci.*, 2004, 11 (5), 413-420.
- [10]: I. Artaki, T.W. Zerda, J. Jonas, Solvent Effects on the Condensation Stage of the Sol-Gel Process, *J. Non-Cryst. Solids*, 1986, 81 (3), 381-395.
- [11]: N. Sanz, Elaboration, Caractérisation Structurale et Etude des Propriétés Optiques Linéaires et Non Linéaires de Nanocristaux Organiques en Matrice Sol-Gel, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I (2000).
- [12]: P. Innocenzi, M.O. Abdirashi, M. Guglielmi, Structure and properties of sol-gel coatings from methyltriethoxysilane and tetrathoxysilane, *J. Sol-Gel Sci. Techn.*, 1994, 3, 47-55.

- [13]: V. Monnier, Elaboration et caractérisation structurale de nanocristaux moléculaires fluorescents inclus dans des couches minces sol-gel : Application à la réalisation de capteurs chimiques et biologiques, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I (2006).
- [14]: E. Dubuisson, Nanocristaux organiques fluorescents insérés en couche mince sol-gel : Vers le développement d'un nouveau type de biopuces, Institut Polytechnique de Grenoble (2009).
- [15]: E. Dubuisson, V. Monnier, N. Sanz-Menez, B. Boury, Y. Usson, R.B. Pansu, A. Ibanez, Brilliant molecular nanocrystals emerging from sol-gel thin films : towards a new generation of fluorescent biochips, *Nanotechnology*, **2009**, *20* (31), 315301.
- [16]: V. Monnier, N. Sanz, E. Botzung-Appert, M. Bacia, A. Ibanez, Confined nucleation and growth of organic nanocrystals in sol-gel matrices, *J. Mater. Chem.*, **2006**, *16*, 1401-1409.
- [17]: C. Philippot, Elaboration et Caractérisation de nanocristaux organiques fluorescents insérés en coquille sol-gel : vers le développement d'un nouveau type d'agent imageant, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I (2010).
- [18]: D.E. Bornside, C.W. Macosko, L.E. Scriven, On the modelling of spin-coating, *J. Imaging Sci. Technol.*, **1987**, *13*, 122-130.
- [19]: C. Philippot, J. Zimmermann, F. Dubois, M. Bacia, B. Boury, P. Baldeck, S. Brasselet, A. Ibanez, Polymorphism of CMONS Nanocrystals Grown in Silicate Particles through a Spray-Drying Process, *Cryst. Growth Des.*, **2013**, *13* (12), 5241-5248.
- [20]: N. Sanz, P. Baldeck, J.-F. Nicoud, Y. Le Fur, A. Ibanez, Polymorphism and luminescence properties of CMONS organic crystals: bulk crystals and nanocrystals confined in gel-glasses, *Solid State Sci.*, **2001**, *3* (8), 867-875.
- [21]: I. Wang, Matériaux organiques microstructurés et optique non linéaire, Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I (2002).
- [22] : N. Baccile, D. Grosso, C. Sanchez, Aerosol generated mesoporous silica particles, *J. Mater. Chem.*, **2003**, *13* (12), 3011-3016.

[23]: J. Massin, Ingénierie moléculaire pour l'imagerie par microscopie non-linéaire : Synthèse et propriétés de nouvelles sondes, Thèse de Doctorat de l'Université de Lyon-Ecole Normale Supérieure de Lyon (**2011**).

[24]: V. Monnier, PCT/FR2008/0504901D-595, **2008**.

[25]: A. Singh, C.-K. Lim, Y.-D. Lee, J.-H. Maeng, S. Lee, J. Koh, Tuning Solid-State Fluorescence to the Near-Infrared : A combinatorial Approach to Discovering Molecular Nanoprobes for Biomedical Imaging, *Appl. Mater. Interfaces*, **2013**, 5 (18), 8881-8888.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'objectif de ma thèse consistait, d'une part, à effectuer une ingénierie moléculaire afin de concevoir des émetteurs à l'état solide et possédant des rendements quantique performants dans le domaine spectral de la fenêtre de transparence biologique (700 à 1000 nm). D'autre part, ces fluorophores devaient répondre au cahier des charges fixé par la méthode d'élaboration des nanoparticules de silice : le *spray drying* (Température de fusion supérieure à 150 °C, une solubilité importante dans le THF et une section efficace d'absorption à deux photon, à l'état solide, dans la fenêtre de transparence biologique). Puis, après sélection des chromophores respectant ses contraintes, ceux-ci ont été encapsulés dans une coquille silicatée afin de concevoir un nouveau type de traceur pour l'imagerie médicale.

Dans un premier temps, nous avons réalisé la synthèse de quarante et une molécules de type push-pull. La synthèse de ces composés ne nécessite en moyenne que deux étapes : une réaction de Knoevenagel et une réaction de Vilsmeier Hack avec des rendements de l'ordre de 60 %. Nous avons modifié les groupements accepteur, donneur et le système π -conjugué. Nous avons également synthétisé des composés di substitué et tri-substitué. Ainsi, le nombre et la diversité des chromophores obtenus ont permis d'étudier et de comprendre leurs propriétés physique afin d'y établir, à l'état solide, certaines règles d'ingénierie. Ensuite, l'étude spectroscopique a été réalisée en solution et à l'état solide. On a notamment pu constater que l'ensemble de ces composés couvrait une large gamme spectrale aussi bien en solution qu'à l'état solide.

Puis, il a fallu établir un protocole de mesure du rendement quantique de fluorescence à l'état solide, afin de pouvoir les comparer entre eux. Un protocole décrit par J.C. de Mello et nécessitant une sphère d'intégration (absence de référence absolue) sur film a été utilisé, mais adapté à notre problématique, en introduisant des poudres dans un porte échantillon. Nous avons ensuite pu comparer nos résultats mesurés, par cette méthode, avec les valeurs des rendements de fluorescence obtenues à partir de système similaire (Institut Néel) ou différents (Clermont-Ferrand, ENSCCF). Cette concordance a permis de valider nos mesures et ainsi effectuer des comparaisons à l'état solide de tous nos composés.

D'une part, à groupement accepteur fixe, on a pu constater que les règles établies en solution étaient respectées à l'état solide. Les groupements alcoxy, moins donneur d'électrons

que les groupements amine, émettent dans le jaune vers 550 nm alors que les groupements amines émettent dans le rouge vers 640 nm. D'autre part, la nature de la substitution joue également un rôle important, notamment sur la substitution du N donneur. Nous avons ainsi pu observer que les molécules diméthyle sont décalées dans le bleu et moins fluorescentes en comparaison de leur homologue diphenyle (à groupement accepteur constant). En étudiant la force de l'attracteur à groupement donneur constant, les groupements nitrophényle et TCF sont ceux ayant une longueur d'onde décalés dans le rouge et le proche infrarouge par rapport aux autres groupements accepteurs. Ensuite, l'étude de l'augmentation de la conjugaison de l'espaceur a montré un décalage du spectre d'émission logique à l'état solide. Cette règle établie en solution se transmet donc à l'état solide.

Huit chromophores ont également été cristallisés et leurs structures résolues par diffraction X. On a donc corréler les résultats des structures cristallographiques avec les mesures des rendements quantiques à l'état solide. Ainsi, nous avons observé que lorsque le composé forme un agrégat de type H, la fluorescence est faible. A l'inverse, les composés qui forment un agrégat de type J présentent une fluorescence intense à l'état solide, mais, avec des variations du rendement quantique allant de 4 à 49 %.

A la fin de cette ingénierie moléculaire, nous avons sélectionnés les composés satisfaisant au cahier des charges pour synthétiser les nanoparticules cœur-coquille par la méthode de *spray drying*. Cinq composés ont été retenus qui, au préalable, ont été encapsulés en couches minces sol-gel. Les analyses de fluorescence sur ces composés ont permis d'observer leur comportement dans un milieu confiné. Nous avons ainsi écarté le composé **2**, qui présente un polymorphisme, et dont celui qui cristallise dans une matrice sol-gel ne possède pas les caractéristiques spectroscopiques souhaitées. Les quatre autres composés retenus, se comportant bien en couches minces sol-gel ont ensuite été encapsulés par la méthode de *spray drying*. Les premiers résultats obtenus avec ces nouveaux chromophores sont très encourageants. En effet, les tailles de ces traceurs cœur-coquille sont d'environ 40 nm de diamètre et les mesures de rendement quantique en nanoparticules sont équivalentes à celle du CMONS, molécule très largement étudiée à l'Institut Néel.

Les premiers travaux pour ajouter des chaînes pégylés (PEG) autour de la nanoparticule ont déjà débuté avec le CMONS avec des résultats plutôt prometteurs (diamètres < 100 nm). Cette fonctionnalisation a pour but de rendre le traceur furtif et ainsi augmenter leur durée de vie dans le compartiment sanguin, répondant ainsi à l'objectif

principal pour effectuer de l'imagerie médicale. Dans les mois prochains, il serait donc indispensable de synthétiser ces nanoparticules recouvertes d'agent de furtivité avec les nouveaux chromophores que nous avons obtenu. Pour le moment, cette étape n'a pas encore été optimisée et reste un point clé dans ce projet. Puis, il sera également nécessaire, d'ajouter sur la surface des nanoparticules des ligands biologiques, ceux-ci seront reconnus par les cellules composant le tissu d'intérêt afin d'effectuer des ciblage de zone spécifique.

A plus long termes, il sera possible d'envisager de combiner plusieurs avantages des techniques déjà existantes, en concevant des nanoparticules possédant des marqueurs doubles. Cette technique, appelée imagerie corrélative, est apparue il y a seulement quelques années et suscite déjà un intérêt important dans le domaine médicale [1]. En effet, les premières constatations montrent que la combinaison des avantages de plusieurs techniques dans un seul système d'imagerie permet de donner des informations plus importantes par rapport à celles obtenues pas les systèmes utilisés séparément. Nous pouvons citer, par exemple, la microscopie corrélative photonique/électronique (notée CLEM en anglais : correlative light-electron microscopy). Cette technique permet d'observer un même objet à deux échelles différentes : l'échelle cellulaire par la microscopie de fluorescence et à l'échelle subcellulaire par la microscopie électronique [2]. Cela consistera probablement l'une des avancées les plus importantes au cours des prochaines années, notamment pour la biologie et le domaine médical.

[1]: S. Modla, K.J. Czymmek, Correlative microscopy : A powerful tool for exploring neurological cells and tissues, *Micron.*, **2011**, 42, 773-792.

[2]: J. Caplan, M. Niethammer, R.M. Taylor, K.J. Czymmek, The power of correlative microscopy: multi-modal, multi-scale, multi-dimensional, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2011**, 21, 686-693.

Partie expérimentale

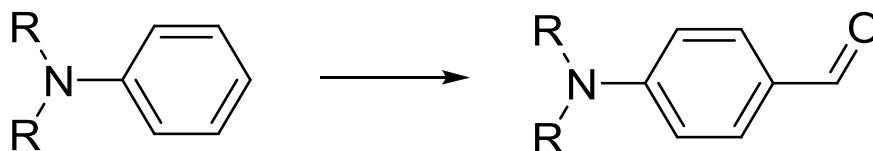
Synthesis

General informations

All solvents were of HPLC or reagent grade quality and purchased commercially from Alrich, Acros or SDS Carlo-Erba. Commercial reagents were purchased from Aldrich, Acros or Alfa and used as received. Anhydrous solvent were dried by passing through a drying column of activated alumina (THF, CH₂Cl₂ and Toluene) or directly purchased from Acros (DMF, methanol) in septum capped bottles with activated molecular sieves (Acroseal®). All air- or moisture-sensitive reactions were carried under Ar atmosphere. Thin-layer chromatography (*tlc*) was performed with Merck 60F254 precoated silica gel plates. Column chromatography was carried out using Merck silica gel 60 (70-230 mesh).

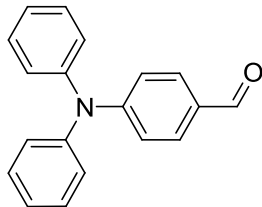
Compounds were characterised using ¹H and ¹³C NMR spectroscopy. The spectra were recorded on a Bruker Advance 300 operating at 300.13 MHz for ¹H and 75.45 for ¹³C respectively or on a Bruker Advance 500 operating at 500.10 for ¹H and 125.75 MHz for ¹³C. Chemical shifts are reported as δ values (ppm) with reference to the residual solvent peaks. For proton, data are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, m = multiplet, b = broad), and coupling constants in Hz. Low resolution mass-spectra were taken on a microanalyses and high-resolution mass spectrometry measurements were performed at the Centre Commun de Spectrométrie de Masse (UCBL, Villeurbanne, France). Elemental analysis were performed at the Service Central d'Analyse du CNRS (INSA, Villeurbanne, France). Infrared spectra were recorded on a Jasco FT / IR – 4200 (Fourier Transformation Infrared Spectrometer). Data are reported as wavelength number (ν, cm⁻¹). Melting points were recorded by DSC with a Perkin-Elmer DSC-7 instrument operating between 30 and 300°C.

General Protocol 1: Vilsmeier-Haack Reaction



Under argon, the aniline derivative (1 eq) was dissolved in dry DMF (10 eq) and the solution was cooled to 0°C with an ice bath. POCl₃ (2 eq) was slowly added. The mixture was stirred for a given time (*see detailed for every product*) at 40°C (*unless otherwise stated*). After cooling to room temperature, the green solution was poured into ice water and carefully neutralized with solid K₂CO₃. The aqueous layer was extracted three times with CH₂Cl₂ (3x10mL). The combined organic phases were washed three times with water (3x10mL), once with brine (10mL), dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to afford pure compounds.

4-(diphenylamino)benzaldehyde.



Prepared according to *general protocol 1* from triphenylamine (5g, 20 mmol.), dry DMF (10 mL, 0.13 mol.) and POCl₃ (2.8 mL, 30 mmol.) at 40°C for 18 hours. The title compound was obtained as a pale green solid (4.7g, 86%).

Melting point: 133°C.

¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 9.78 (s, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.34 (m, 4H), 7.23 (m, 2H), 7.34 (m, 4H), 6.97 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H).

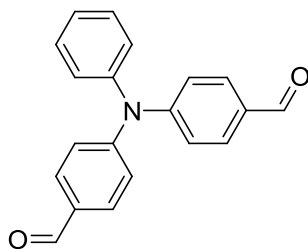
¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 190.1, 152.1, 147.2 (2C), 131.9 (2C), 130.7 (4 C), 130.1, 127.3 (4 C), 126.1 (2C), 119.8 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 2851, 1577/1504/1491, 1156.

Anal. calcd for C₁₉H₁₅NO: C, 83.49; H, 5.53; N, 5.12. Found: C, 83.66; H, 5.59; N, 5.49.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 274.1240 (calcd. 274.1232).

4,4'-(phenylazanediy)l)dibenzaldehyde.



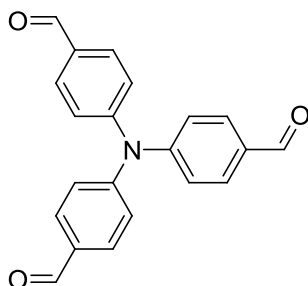
Prepared according to *general protocol 1* from triphenylamine (3 g, 12.2 mmol.), dry DMF (10 mL, 0.13 mol) and POCl₃ (2.8 mL, 30.6 mmol) at 80°C for 20 hours. The title compound was obtained as a pale yellow solid (2.73g, 82%).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 9.97 (s, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 4H), 7.53 (m, 2H), 7.39-7.24 (m, 7H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 190.6 (2C), 151.6 (2C), 147.1, 131.3 (4C), 130.8 (2C), 129.8 (2C), 127.1 (2C), 125.9 (4C), 119.6.

IR: ν (cm⁻¹) 2834, 2741, 1581/1505/1487, 1172.

4, 4', 4''-nitriлотрибензалdehyde.



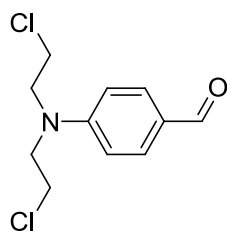
Prepared according to *general protocol 1* from triphenylamine (3 g, 10 mmol), dry DMF (24 mL, 0.30 mol) and POCl₃ (22.5 mL, 0.25 mol) at 100°C for 19 hours. The title compound was obtained as a pale yellow solid (1.26g, 38%).

¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 9.93 (s, 3H), 7.83 (d, *J* = 8.6 Hz, 6H), 7.25 (d, *J* = 8.6 Hz, 6H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 190.9 (3 C), 151.3 (3C), 133.0 (3C), 131.7 (6C), 125 (6C).

IR: ν (cm⁻¹) 2833, 2734, 1682/1575/1504, 1162.

4-(bis(2-chloroethyl)amino)benzaldehyde.



Prepared according to *general protocol 1* from *N*-phenyldiethanolamine (4.7 g, 26.3 mmol) dry DMF (20 mL, 0.26 mol) and POCl₃ (7.4 mL, 78.9 mmol) at 40°C for 18 hours. The title compound was obtained as a brown solid (6.28g, 97%).

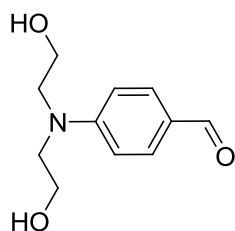
Melting point: 87°C.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 9.88 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.87 (m, 8H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 190.1, 132.2 (2C), 111.6 (2C), 102.2, 98.2, 54.2 (2C), 40.5 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 1668, 1595/1522/1405, 1169.

4-(bis(2-hydroxyethyl)amino)benzaldehyde.



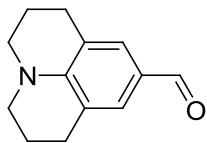
2,2'-(4-formylphenylazaediyl)bis(ethane-2,1-diyl)diacetate was prepared according to *general protocol 1* from 2,2'-(phenylazanediy)bis(ethane-2,1-diyl)diacetate (4.7 g, 17.7 mmol), dry DMF (20 mL, 0.26 mol) and POCl₃ (7.4 mL, 78.9 mmol) at 40°C for 18 hours. It was then dissolved in ethanol and aqueous NaOH (25%). The reaction mixture was heated to 85°C for 20 hours. The solution was cooled and neutralized with aqueous hydrochloric acid. The solution was partitioned between ethyl acetate and water. The organic phase was washed with water, dried over anhydrous magnesium sulphate, filtered and evaporated. The crude product was purified by a column chromatography on silica gel eluting with ethyl acetate/petroleum ether (1/5, v/v). The title compound was obtained as a white solid (3.28 g, 89%).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 9.86 (s, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.72 (d, *J* = 8.95 Hz, 2H), 3.93 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.7 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.36 (s, 2H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 190.6, 152.9, 132.3 (2C), 125.9, 111.9 (2C), 60.6 (2C), 55.3 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 3342, 1681, 1576/1435, 1179.

2, 3, 6, 7-hexahydropyrido[3, 2, 1-ij]quinolone-9-carbaldehyde.



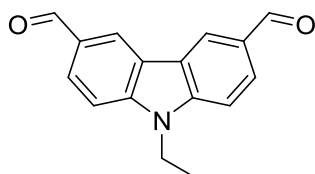
Prepared according to *general protocol 1* from julolidine (1 g, 5.8 mmol), dry DMF (15 mL) and POCl_3 (1 mL, 11.6 mmol) at 40°C for 16 hours. The title compound was obtained as a white solid (1.05 g, 91%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) 9.89 (s, 1H), 7.37 (s, 2H), 3.38 (t, $J = 5.9$ Hz, 4H), 2.73 (t, $J = 6.1$ Hz, 4H), 1.94 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ (ppm) 190.1, 147.8, 130.5 (2C), 125.6, 122.1 (2C), 50.2 (2C), 27.5 (2C), 21.7 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 2945, 1660/1596/1525, 1145.

9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-dicarbaldehyde (**D**).



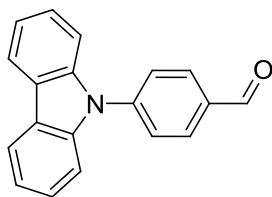
Prepared according to *general protocol 1* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (2 g, 8.97 mmol), dry DMF (20 mL, 0.26 mol) and POCl_3 (7 mL, 74.9 mmol) at 90°C for 48 hours. After evaporation, the crude residue was purified by column chromatography on silica gel using chloroform-ethyl acetate (99/1, v/v) as an eluent. The title compound was obtained as a pale yellow solid (0.56 g, 25%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) 10.14 (s, 2H), 8.7 (s, 2H), 8.1 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 4.45 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.5 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ (ppm) 192 (2C), 143.8 (2C), 140.9 (2C), 126.9 (2C), 124.2 (2C), 121 (2C), 109.3 (2C), 38.1, 14.

IR: ν (cm^{-1}) 1683, 1590/1467, 746.

4-(9H-carbazol-9-yl)benzaldehyde (**N-Carb**).



Under an argon atmosphere, carbazole (1.05 g, 6.25 mmol) was dissolved in dry DMF (50 mL). Fresh potassium *tert*-butoxide (0.69 g, 6.25 mmol) was added and the mixture was heated at 110 °C for 30 min. Then, 4 fluorobenzaldehyde (0.9 mL, 7.5 mmol) was added dropwise to the above solution, and the temperature was maintained at 36 h. After the mixture was cooled to room temperature and poured into ice-water. After 30 min of stirring, the mixture was filtered and evaporated. The crude residue was recrystallized from acetone/water (10/1, v/v) to afford the pure compound as yellow crystals (0.76g, 45%). Melting point: 158°C.

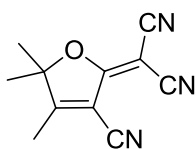
¹H-NMR (DMSO, 500 MHz): δ (ppm) 10.15 (s, 1H), 8.28 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 8.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.48 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.35 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H).

¹³C-NMR (DMSO, 125 MHz): δ (ppm) 192.2, 142.1, 139.4 (2C), 134.5, 131.3 (2C), 126.7 (2C), 126.5 (2C), 123.2 (2C), 120.7 (2C), 120.6 (2C), 109.6 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 2822, 2733, 1701, 1594, 1450, 1224, 748.

Anal. calcd for C₁₉H₁₃NO: C,84.11; H,4.83; N,5.16. Found: C, 83.99; H, 5.05; N, 5.29;

2-(3-cyano-4, 5, 5'-trimethylfuran-2(5H)-ylidene)malononitrile (**TCF**).

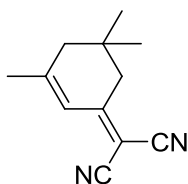


In a round-bottom flask equipped with a Soxhlet filled with activated molecular sieves (3Å), 3-hydro-3 methylbutanone (1.5g, 14.7 mmol) and malononitrile (2g, 30 mmol) were dissolved in anhydrous ethanol (15 mL). Lithium shots (0.6 g) were then added and the mixture was refluxed overnight. After cooling, the resulting precipitate was filtrated and washed with cold ethanol to afford a light yellow solid (2.05g, 71%).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 2.37(s, 6H), 1.64 (s, 3H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 182.3, 175.1, 110.9, 110.3, 108.9, 104.8, 99.6, 58.6, 24.3 (2C), 14.1.

2-(3,5,5-trimethylcyclohex-2-enylidene)malononitrile (**DCIP**).



To a solution of isophorone (2.1 mL, 13.8 mmol, 1 eq) and malononitrile (912 mg, 13.8 mmol, 1 eq) in dry ethanol (150 mL) was added piperidine (13 mL, 0.14 mmol, 0.01 eq). The solution was stirred at 60°C for 8 hours. After cooling to room temperature, the black solution was slowly poured into water (200mL) and the precipitated black solid was filtered. Recrystallization from heptane afforded a brown solid. Yield: 2.3 g (90 %).

Melting point: 74°C.

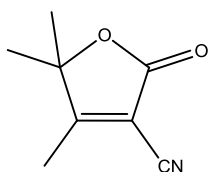
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 6.61 (s, 1H), 2.51 (s, 2H), 2.17 (s, 2H), 2.02 (s, 3H), 1.29 (s, 6H);

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 170.5, 160, 120.5, 113.1 (2C), 75.9, 45.6, 42.6, 32.4, 27.8 (2C), 25.3.

IR: ν (cm⁻¹) 2219.

Anal. calcd for (C₁₂H₁₄N₂): C, 77.38; H, 7.58; N, 15.04. Found: C, 77.73; H, 7.53; N, 15.45.

4, 5, 5'-trimethyl-2-oxo-2, 5-dihydrofuran-3-carbonitrile (**MCF**).



Sodium (80 mg, 3.3 mmol) was added slowly at 0°C to dry methanol (4 mL). After completed reaction, 3-hydroxy-3-methyl-butan-2-one (1.05 ml, 10 mmol) and ethyl cyanoacetate (1.4 mL, 13 mmol) were added at 0°C. After 12 hours, acetic acid (5 mL) was added and the solvent was concentrated under reduced pressure. Water (25 mL) and dichloromethane (25 mL) were added to the crude product. The product was then purified by column chromatography on silica gel eluting with ethyl acetate/cyclohexane (3/7, v/v) to give a yellow solid (1.25 g, 82%).

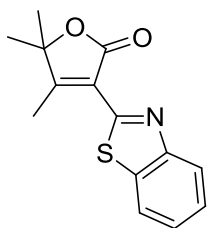
Melting point: 54°C.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 2.28 (s,3H), 1.50 (s, 6H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 184.8, 165.4, 110.7, 104.5, 88.3, 24.3 (2C), 13.8.

IR: ν (cm⁻¹) 3448, 2239, 1764, 1650, 1288, 1080, 910.

3-(benzo[d]thiazol-2-yl)-4, 5, 5-trimethylfuran-2(5H)-one.



MCF (906 mg., 6 mmol), 2-hydroxythiophenol (640 μ L, 6 mmol) and phosphoric acid 85% aq (3 g.) were heated at 120°C for 14 hours. After cooling to room temperature, dichloromethane (50 mL) and a saturated solution of K_2CO_3 (50 mL) were added. The organic layer was extracted, dried over sodium sulfate and concentrated under *vacuum*. The product was obtained without purification as a brown solid (1.41 g., 91%).

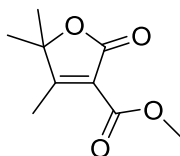
Melting point: 158 °C.

1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ (ppm) 8.07 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.53 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.43 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.68 (s, 3H), 1.59 (s, 6H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ (ppm) 172.3, 170.3, 157.9, 153.0, 135.1, 126.3, 125.6, 123.3, 121.8, 119.0, 87.0, 24.7 (2C), 13.6.

IR: ν (cm^{-1}) 2173, 1644, 1497, 1055, 970, 958, 76.

Methyl 4, 5, 5'-trimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carboxylate.



Sodium (80 mg, 3.3 mmol) was added slowly at 0°C to dry methanol (4 mL). After completed reaction, 3-hydroxy-3-methyl-butan-2-one (650 μ L, 6.1 mmol) and methyl malonate (700 μ L, 6.1 mmol) were added at 0°C and then warmed up at room temperature. A saturated solution of ammonium chloride (10 mL) was added after 2 hours. Ethyl acetate (25 mL) was added and the organic phase was separated and dried on sodium sulfate. The solution was filtered and concentrated under reduced atmosphere. The crude product was purified by column chromatography on silica gel(3/7, eluting with ethyl acetate/petroleum ether (3/7, v/v) to give a white solid (710 mg, 59%).

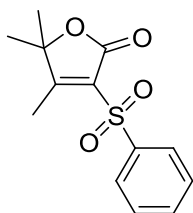
Melting point: 65 °C.

1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ (ppm) 3.88 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 1.48 (s, 6H).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ (ppm) 181.2, 167.2, 162.2, 118.0, 85.4, 52.1, 24.3 (2C), 13.0.

IR: ν (cm^{-1}) 1760, 1711, 1350, 1280, 1191, 1174, 1043, 969, 808.

4,5,5'-trimethyl-3-(phenylsulfonyl)furan-2(5H)-one.



Sodium (70 mg, 3.04 mmol) was added slowly at 0°C to dry methanol (5 mL) under nitrogen atmosphere. After completed reaction, 3-hydroxy-3-methyl-butan-2-one (1.05 ml, 10 mmol) and ethyl phenylsulfonylacetate (2.51 g, 11 mmol) were added at 0°C. The mixture was heated at 50°C overnight. The solution was then concentrated under reduced atmosphere. diethyl ether was added and the solid was filtered and washed with diethyl ether to obtain. After a recrystallization with a solution of diethyl ether (40 mL) and ethyl acetate (4 mL), the product was obtained as a white solid (1.5 g, 56%).

Melting point: 172 °C.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 8.08 (d, *J*= 7.5 Hz, 2H), 7.66 (t, *J*= 7.3 Hz, 1H), 7.56 (t, *J*= 7.2 Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 1.47 (s, 6H).

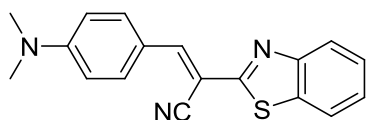
¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 179.1, 164.7, 139.4, 134.4, 129.3 (2C), 128.8 (2C), 126.9, 86.7, 24.3 (2C), 12.6.

IR: ν (cm⁻¹) 1746, 1320, 1311, 1266, 1149, 1084, 1029, 719, 685.

General Protocol 2: Knoevenagel Reaction.

Aldehyde (1 eq.) and acceptor compound (1.2 eq.) were dissolved in acetonitrile (100 mL for 14 mmol.). Piperidine (0.01 eq) was added and the solution was stirred at room temperature or at 40°C for 4 hours. The solution was concentrated under *vacuum* and the product purified by column chromatography on silica gel.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)acrylonitrile (**1**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(dimethylamino)benzaldehyde (1g, 6.7 mmol.) and 2-benzothiazoleacetonitrile (1.17 g, 6.7 mmol.) After concentration to *ca.* one third, the mixture was filtered and washed with cold acetonitrile to obtain a red solid (1.92 g, 94 %).

Melting point: 229°C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) 8.11 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7.87 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7.37 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 3.11 (s, 6H).

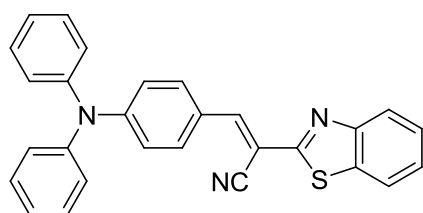
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ (ppm) 164.9, 153.9, 153.0, 147.1 (2C), 134.8, 133.2, 126.7, 125.2, 123.0 (2C), 121.6 (2C), 120.3, 111.8, 97.8, 40.2 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 2216, 1568, 1525, 1379.

HRMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 306.0980$ (calcd. 306.0987).

Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}$: C, 70.72; H, 4.95; N, 13.76. Found: C, 73.47; H, 4.81; N, 13.77.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-(diphenylamino)phenyl)acrylonitrile (**2**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-diphenylaminobenzaldehyde (700 mg, 2.5 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (520 mg, 3 mmol.) at 40°C for 4 hours. Purification by chromatography eluting with dichloromethane afforded the title compound as a red solid (840 mg, 79 %).

Melting point: 173°C .

$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.05 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 8.15$ Hz, 1H), 7.91 (2d, $J=8.25/8.95$ Hz, 2+1H), 7.52 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.37 (m, 4H), 7.22 (m, 4H), 7.1 (m, 2H), 7.02 (d, $J=8.9$ Hz, 2H).

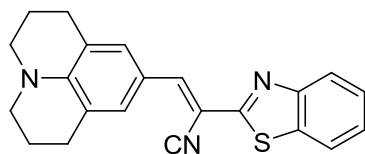
$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 164.5, 154.1, 152, 147.1, 146.7 (2C), 135, 132.5 (2C), 130.1 (4C), 127.1, 126.5 (4C), 125.9, 125.5 (2C), 124.7, 123.4, 122, 119.8 (2C), 117.6, 101.4.

IR: ν (cm^{-1}) 3056, 2210, 1570/1487/1506, 1430, 1174, 987.

HRMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 430.1357$ (calcd. 430.1372).

Anal. calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{S}$: C 78.29; H 4.46; N 9.78. Found: C 78.96; H 4.30; N 9.83.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(1,2,3,5,6,7-hexahydropyrido[3,2-*ij*]quinolin-9-yl)acrylonitrile (**3**).



Obtained according to *general protocol 2* from 1, 2, 3, 5, 6, 7-hexahydropyrido[3, 2, 1-ij]quinolone-9-carbaldehyde(500 mg, 2.4 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (520 mg, 3 mmol.) at 40°C for 17 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (735 mg, 86 %).

Melting point: 132°C.

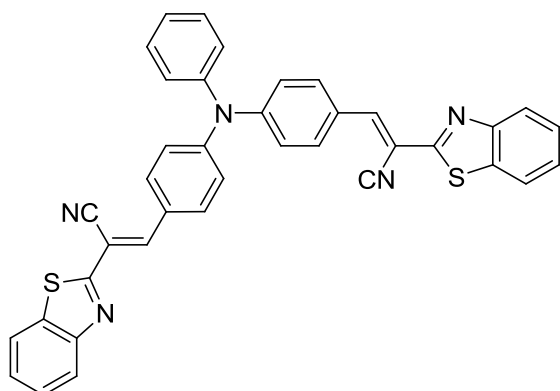
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 7.96 (m, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.86 (m, 1H), 7.53 (s, 2H), 7.19 (d, *J*=5.8 Hz, 2H), 7.48 (t, *J*=7.75 Hz, 1H), 7.36 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 3.33 (t, *J*=5.8 Hz, 4H), 2.77 (t, *J*=6.2 Hz, 4H), 1.98 (m, 4H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 165.7, 154.1 (2C), 147.2, 134.5, 130.7, 125, 123.4, 122.6, 122.0 (2C), 121.5, 121.2 (2C), 118.5, 95.8, 50.2 (2C), 27.8 (2C), 21.4 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 3057, 2920/2849, 2198, 1608, 1560/1511/1481, 1435, 1269, 1159, 1111.

Anal.calcd for C₂₂H₁₉N₃S: C 73.92; H 5.36; N 11.75. Found: C 72.85; H 5.28; N 12.07.

(2*E*,2'*E*)-3,3'-(4,4'-(phenylazanediyl)bis(4,1-phenylene))bis(2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)acrylonitrile) (**4**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4,4'-(phenylazanediyl)dibenzaldehyde (500 mg, 1.65 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (650 mg, 3.75 mmol.) at 40°C for 4 hours. Purification by chromatography eluting with dichloromethane afforded the title compound as a red solid (860 mg, 85 %).

Melting point: 242°C.

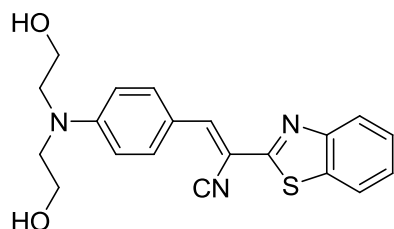
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.11 (s, 2H), 8.05 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.98 (d, *J*=8.75 Hz, 4H), 7.93 (d, *J*=7.95 Hz, 2H), 7.52 (td, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.45 (m, 2+2H), 7.31 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.26 (m, 2H), 7.22 (d, *J*=8.75 Hz, 4H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 163.8 (2C), 153.9 (2C), 150.1 (2C), 146.1 (2C), 145.4, 135 (2C), 132.2 (4C), 130.3 (2C), 127.0 (2C), 126.5, 126 (2C), 124.5 (2C), 123.4 (2C), 123.0 (2C), 121.8 (4C), 119.0 (2C), 117.0 (2C), 103.3 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 3057, 2210, 1571/1545/1502, 1425, 1174, 985.

Anal. calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{S}_2$: C 74.36; H 3.78; N 11.41. Found: C 74.35; H 3.68; N 11.23.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-(bis(2-hydroxyethyl) amino)phenyl)acrylonitrile (**5**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(bis(2-hydroxyethyl)amino)benzaldehyde (500 mg, 2.4 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (500 mg, 2.9 mmol.) at 50°C for 4 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (280 mg, 32 %).

Melting point: 148°C.

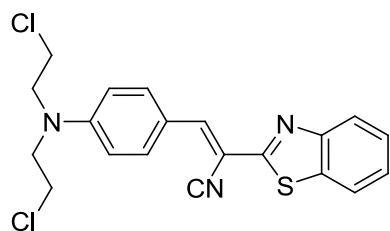
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO, 500 MHz): δ (ppm) 8.13 (s, 1H), 8.1 (d, $J=8$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=8.45$ Hz, 3H), 7.53 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.44 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 4.84 (m, 2H), 3.59 (m, 4H+4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, 125 MHz): δ (ppm) 164.7, 153.1, 151.8, 147.4 (2C), 133.8, 133, 126.8, 125.3, 122.2, 122, 118.9, 117.9, 111.8 (2C), 95.7, 58.1 (2C), 53.1 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 3394, 2924/2883, 2215, 1608, 1571/1517, 1434, 1189, 1047.

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}^+]$ = m/z = 366.1272 (calcd.366.1271).

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-(bis(2-chloroethyl) amino)phenyl)acrylonitrile (**6**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(bis(2-chloroethyl)amino)benzaldehyde (200 mg, 0.8 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (170 mg, 1.0 mmol.) at 40°C for 4 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (110 mg, 71 %).

Melting point: 172°C.

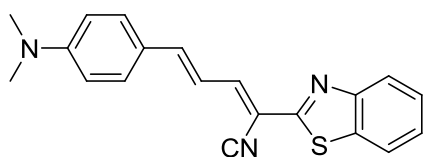
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.09 (s, 1H), 8.05 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J=8.5$ Hz, 3H), 7.55 (t, $J=8$ Hz, 1H), 7.45 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 3.91 (m, 4H), 3.77 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 164.6, 154.1, 150, 146.9, 134.9, 133.4 (2C), 127, 125.8, 123.3, 122.1, 121.9, 117.8, 112.3 (2C), 100.3, 40.6 (4C).

IR: ν (cm^{-1}) 2209, 1571/1518/1487, 1351, 1286, 1178.

HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}^+]$ = m/z = 402.0532 (calcd. 402.0520).

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-5-(4-(dimethylamino)phenyl)penta-2,4-dienitrile (**7**).



Obtained according to *general protocol 2* from (*E*)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)acrylaldehyde (500 mg, 2.9 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (600 mg, 3.5 mmol.) at 40°C for 4 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a red solid (570 mg, 60 %).

Melting point: 207°C.

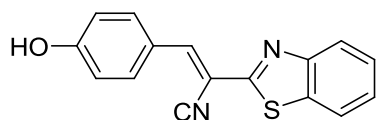
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500MHz): δ (ppm) 9.0 (d, $J=8.1$ Hz, 1H), 7.89 (m, 1H+1H), 7.53-7.49 (m, 1H+1H+1 H), 7.39 (t, $J=7.45$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J=5.8$ Hz, 2H), 6.71 (d, $J=8.85$ Hz, 2H), 5.33 (s, 1H), 3.05 (s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125MHz): δ (ppm) 163.6, 154.2, 152.5, 149.1, 147.5, 134.8, 130.6 (3C), 127, 125.7, 123.3, 121.8, 119.3, 116.3, 112.2 (2C), 103.4, 40.2 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 2898, 2218, 1583/1552/1479, 1379, 1159, 1066.

Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{S}$: C 72.48; H 5.17; N 12.68. Found: C 72.74; H 5.04; N 12.74.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-hydroxyphenyl)acrylonitrile (**8**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-hydroxybenzaldehyde(670 mg, 4.9 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (1020 mg, 5.9 mmol.) at 40°C for 7 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a orange solid (960 mg, 71 %).

Melting point: 222°C.

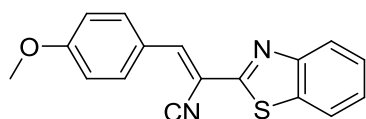
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.11 (s, 1H), 8.05(d, $J=8.15$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.55 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 7.46 (t, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=8.65$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 163.2, 154, 147.5, 134.9, 133.4 (2C), 126.9, 125.8, 123.6, 123.2, 121.8, 117.1 (2C), 101.2, 26.5, 24.7.

IR: ν (cm^{-1}) 3057, 2218, 1571/1547/1498, 1298, 1170, 943.

Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$: C 69.04; H 3.62; N 10.06. Found: C 69.25; H 3.71; N 10.09.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-methoxyphenyl)acrylonitrile (**9**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-methoxybenzaldehyde (660 mg, 4.8 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (1000 mg, 5.8 mmol.) at 40°C for 18 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a orange solid (1080 mg, 74 %).

Melting point: 140°C .

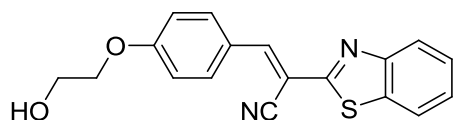
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.16 (s, 1H), 8.08(d, $J=7.8$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=8$ Hz, 2H), 7.57 (t, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.48 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J=8.65$ Hz, 2H), 3.95 (s, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 163.8, 163.2, 153.8, 146.9, 134.9, 132.8 (2C), 126.9, 125.9, 125.3, 123.4, 121.8, 117, 114.9 (2C), 103, 55.8.

IR: ν (cm^{-1}) 2935, 2221, 1587/1562/1513, 1270, 1180, 1022.

Anal. calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{OS}$: C 69.84; H 4.14; N 9.58. Found: C 69.67; H 4.10; N 9.91.

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(4-(2-hydroxyethoxy)phenyl)acrylonitrile (**10**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(2-hydroxyethoxy)benzaldehyde (460 mg, 2.8 mmol.) and 2-benzothiazoleacetonitrile (720 mg, 4.1 mmol.) at 40°C for 6 hours. The crude residue was recrystallized from acetone/water (1:1). The compound is a yellow solid (520mg, 63%).

Melting point: 141°C .

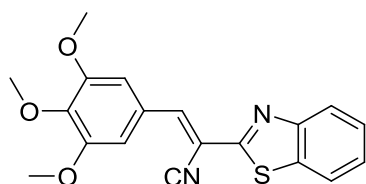
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): δ (ppm) 8.17 (s, 1H), 8.04 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 7.47 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J=8$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 4.22 (m, 2H), 4.01 (m, 1H+2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ (ppm) 164.2, 163.3, 153.6, 146.7, 134.9, 132.9 (2C), 127.1, 125.8, 125.1, 123.3, 121.9, 117.2, 114.9 (2C), 103, 69.8, 61.4.

IR: ν (cm^{-1}) 2212, 1577/1510/1428, 1270, 1169, 1042.

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 323.0779$ (calcd. 323.0776).

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylonitrile (**11**).



Obtained according to *general protocol 2* from 3, 4, 5-trimethoxybenzaldehyde (400 mg, 2 mmol.) and 2-(benzothiazol-2-yl)acetonitrile (420 mg, 2.4 mmol.) at 40°C for 18 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (540 mg, 75 %); Melting point: 128°C.

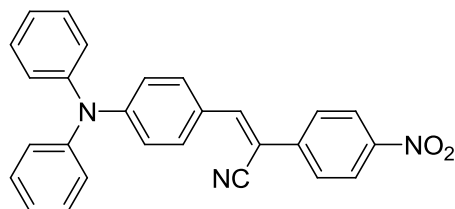
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.14 (s, 1H), 8.09 (d, $J=8.15$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.50 (t, $J=7.5$ Hz, 1H), 7.38 (s, 2H), 3.95 (m, 9H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 163.4, 153.8, 153.6, 147.2 (2C), 142, 134.9, 127.7, 127, 126.1, 123.5, 121.9, 116.8, 107.9, 104.6 (2C), 60.9, 56.3 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 2937, 2213, 1575/1506/1458, 1335, 1128, 1022.

Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: C 64.76; H 4.58; N 7.95. Found: C 64.84; H 4.52; N 8.02.

(*Z*)-3-(4-(diphenylamino)phenyl)-2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile (**12**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-diphenylaminobenzaldehyde (350 mg, 1.25 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (250 mg, 1.5 mmol.) at 45°C for 4 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a red solid (340 mg, 33 %).

Melting point: 145°C.

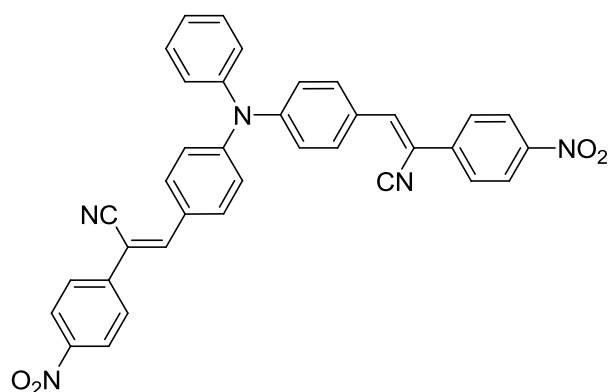
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.27 (d, $J=9.0$ Hz, 2H), 7.83 (dd, $J=12.5$ Hz, 4H), 7.61 (s, 1H), 7.36 (t, $J=8.5$ Hz, 4H), 7.19 (d, $J=8.5$ Hz, 4H), 7.17 (m, 2H), 7.03 (d, $J=8.5$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 151.3, 147.5, 146.6 (2C), 145.1, 141.9, 131.7 (2C), 130.0 (4C), 129.5, 126.5 (4C), 125.6 (2C), 125.2 (2C), 124.5 (2C), 120.2 (2C), 118.0, 105.0.

IR: ν (cm^{-1}) 3060, 2208, 1572/1490/1508, 1338, 1198, 700.

HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 418.1543$ (calcd. 418.1550).

(2Z,2'Z)-3,3'-(4,4'-(phenylazanediyl)bis(4,1-phenylene))bis(2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile)
(13).



Obtained according to *general protocol 2* from 4,4'-(phenylazanediyl)dibenzaldehyde (450 mg, 1.5 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (730 mg, 4.5 mmol.) at 40°C for 4 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a red solid (310 mg, 35 %).

Melting point: 217°C.

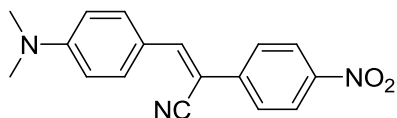
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.28 (d, $J=8.9$ Hz, 4H), 7.91 (d, $J=8.75$ Hz, 4H), 7.84 (d, $J=8.9$ Hz, 4H), 7.65 (s, 2H), 7.42 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 7.27 (t, $J=7.4$ Hz, 1H), 7.23 (m, 2H), 7.19 (d, $J=8.75$ Hz, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 149.9 (2C), 147.9 (2C), 145.8, 144.6 (2C), 141.4 (2C), 131.6 (4C), 130.3 (2C), 127.9 (2C), 127.2 (2C), 126.7 (4C), 126.3, 124.5 (4C), 123.1 (4C), 117.9 (2C), 106.9 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 2210, 1574/1506/1430, 1340, 1182, 854.

HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 590.1729$ (calcd. 590.1750).

(Z)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile (**14**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(dimethylamino)benzaldehyde (2 g, 13.4 mmol.) and 4-nitrophenylacetonitrile (2.17 g, 13.4 mmol.). After concentration to ca. one third, the mixture was filtered and washed with cold acetonitrile to obtain a red solid. Yield: 2.61 g (66 %).

Melting point: 249 °C.

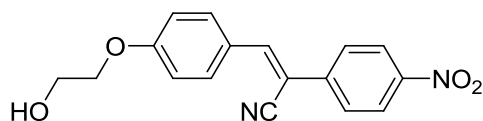
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 8.26 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.92 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.78 (d, *J*=8.0 Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 6.74 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 3.10 (s, 6H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 152.5, 146.8, 145.6, 142.1, 132.4 (2C), 130.1, 125.8 (2C), 124.4 (2C), 120.8, 111.8 (2C), 101.5, 40.2 (2C).

IR (KBr, cm⁻¹): 2210, 1527, 1375, 1329.

HRSM (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 294.1143 (calcd. 294.1158).

(Z)-3-(4-(2-hydroxyethoxy)phenyl)-2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile (**15**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(2-hydroxyethoxy)benzaldehyde (420 mg, 2.5 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (590 mg, 3.7 mmol.) at 40°C for 6 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a yellow solid (610mg, 80%).

Melting point: 164°C.

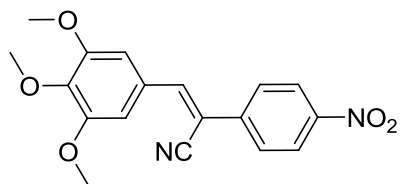
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 8.29 (d, *J*=6.25 Hz, 2H), 7.97 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.55 (d, *J*=6.25 Hz, 2H), 7.06 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 4.16 (m, 2H), 3.9 (m, 1H+2H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 161.9, 145.3, 141.5, 137.9, 132.2 (2C), 129.4 (2C), 126.7 (2C), 124.4 (2C), 117.9, 115.4, 106.9, 69.9, 61.5.

IR: ν (cm⁻¹) 2211, 1576/1509/1333, 1264, 1176, 1040.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 311.0948 (calcd.311.0954).

(Z)-2-(4-nitrophenyl)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acrylonitrile (**16**).



Obtained according to *general protocol 2* from 3, 4, 5-trimethoxybenzaldehyde (1 g, 5.1 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (1 g, 6.2 mmol.) at 40°C for 20 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (1.23 g, 71%).

Melting point: 161°C.

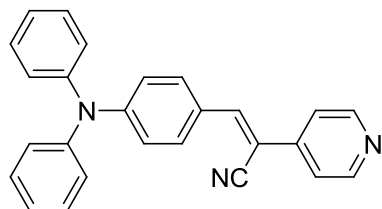
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.33 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.86 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.27 (s, 2H), 3.97 (m, 9H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 153.6, 147.9, 145.6, 141.4, 141, 128.4, 126.7 (2C), 124.4 (2C), 117.7, 108.2, 107.4 (2C), 60.8, 56.3 (3C).

IR: ν (cm⁻¹) 2213, 1572/1505/1456, 1330, 1252; 1125, 1022.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 341.1057 (calcd.341.1059).

(Z)-3-(4-(diphenylamino)phenyl)-2-(pyridine-4-yl)acrylonitrile (**17**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-diphenylaminobenzaldehyde (100 mg, 0.4 mmol.) and 2-(pyridin-4-yl)acetonitrile (70 mg, 0.45 mmol.) at 40°C for 4 hours. Purification by chromatography (dichloromethane/triethylamine: 95/5 then 92/8) afforded the title compound as an orange solid (90 mg, 60 %).

Melting point: 182°C.

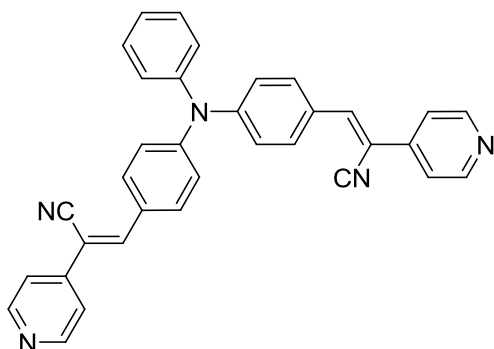
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.62 (d, *J*=4.5 Hz, 2H), 7.83 (d, *J*= 8.6 Hz, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.53 (d, *J*=4.5 Hz, 2H), 7.35 (m, 4H), 7.17 (d, *J*=7.8 Hz, 4H), 7.10 (m, 2H), 7.02 (d, *J*=8.95 Hz, 2H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 151.1, 150.6 (2C), 146.2 (2C), 144.4, 142.6, 131.5 (2C), 129.8 (4C), 126 (4C), 125, 123.4 (2C), 120 (2C), 119.6 (2C), 117.9, 104.7.

IR: ν (cm⁻¹) 3057, 2924, 2206, 1577/1557/1487, 1176, 756.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 374.1656 (calcd. 374.1652).

(2Z,2'Z)-3,3'-(4,4'-(phenylazanediyl)bis(4,1-phenylene))bis(2-(pyridine-4-yl)acrylonitrile)
(18).



Obtained according to *general protocol 2* from 4,4'-(phenylazanediyl)dibenzaldehyde (220 mg, 0.75 mmol.) and 2-(pyridin-4-yl)acetonitrile (250 mg, 1.5 mmol.) at 45°C for 5 hours. Purification by chromatography (dichloromethane/triethylamine: 95/5 then 92/8) afforded the title compound as a red solid (290 mg, 76 %)

Melting point: >250°C

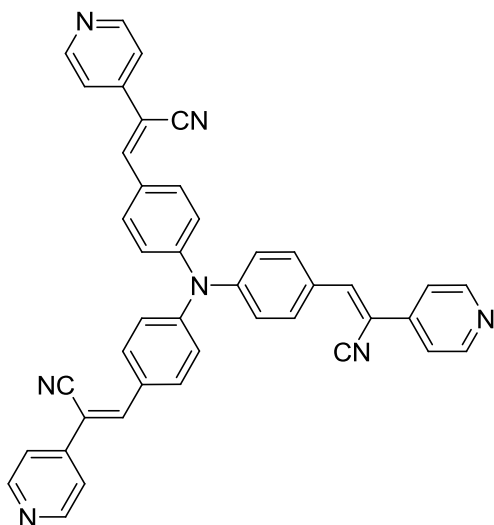
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.66 (d, *J*=6.2 Hz, 4H), 7.91 (d, *J*=8.7 Hz, 4H), 7.7 (s, 2H), 7.56 (d, *J*=6.2 Hz, 4H), 7.42 (t, *J*=7.85 Hz, 2H), 7.3 (m, 2H), 7.24 (m, 1H), 7.19 (d, *J*=8.75 Hz, 4H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 150.7 (4C), 149.6 (2C), 145.7, 144 (2C), 142.2 (2C), 131.5 (4C), 130.1 (2C), 127.6 (2C), 127 (2C), 126.1, 123 (4C), 119.8 (4C), 117.6 (2C), 106.6 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 3026, 2212, 1577/1543/1504, 1184, 819.

Anal. calcd for C₃₄H₂₃ N₅: C 81.42; H 4.62; N 13.96. Found: C 80.71; H 4.52; N 13.78.

(2*Z*,2'*Z*,2''*Z*)-3,3',3''-(4,4',4''-nitriлотris(benzene-4,1-diyl))tris(2-(pyridine-4-yl)acrylonitrile) (**19**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4,4',4''-nitriлотribenzaldehyde (200 mg, 0.6 mmol.) and 2-(pyridin-4-yl)acetonitrile (400 mg, 2.6 mmol.) at 50°C for 5 hours. Purification by chromatography (dichloromethane/triethylamine: 95/5 then 92/8) afforded the title compound as a red solid (120 mg, 65 %).

Melting point: >250°C

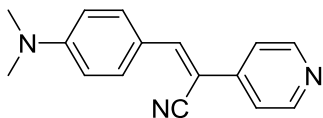
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.67 (d, *J*=6.2 Hz, 6H), 7.96 (d, *J*=8.7 Hz, 6H), 7.72 (s, 3H), 7.57 (d, *J*=6.25 Hz, 6H), 7.29 (d, *J*=8.75 Hz, 6H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 150.9 (6C), 149 (3C), 144 (3C), 142.2 (3C), 131.8 (6C), 129.2 (3C), 124.9 (6C), 124.6 (3C), 123.6 (3C), 120 (6C).

IR: ν (cm⁻¹) 3029, 2212, 1577/1525/15004, 1184, 829.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 630.2390 (calcd. 630.2401).

(*Z*)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-(pyridine-4-yl)acrylonitrile (**20**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-dimethylaminobenzaldehyde (250 mg, 1.65 mmol.) and 2-(pyridin-4-yl)acetonitrile (310 mg, 2.0 mmol.) at 45°C for 20 hours. Purification by chromatography (dichloromethane/triethylamine: 95/5 then 92/8) afforded the title compound as an orange solid (350 mg, 85 %).

Melting point: 173°C.

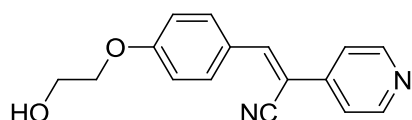
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.59 (d, 5.5Hz, 2H), 7.91 (d, *J*= 8.85 Hz, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.51 (d, *J*=5.5 Hz, 2H), 6.75 (d, *J*=8.85 Hz, 2H), 3.08 (s, 6H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 152.9, 150.6 (2C), 145.2, 143.4, 132.4 (2C), 120.9, 119.5 (2C), 118.8, 111.5 (2C), 101.3 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 3037, 2206, 1577/1557/1487, 1176.

Anal. calcd for C₁₆H₁₅N₃: C 76.08; H 6.06; N 16.36. Found: C 76.01; H 6.17; N 16.85.

(*Z*)-3-(4-(2-hydroxyethoxy)phenyl)-2-(pyridine-4-yl)acrylonitrile (**21**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(2-hydroxyethoxy)benzaldehyde (420 mg, 2.5 mmol.) and 2-(pyridin-4-yl)acetonitrile (476 mg, 3.1 mmol.) at 45°C for 36 hours. Purification by chromatography (dichloromethane/triethylamine: 95/5 then 92/8) afforded the title compound as a yellow solid (340mg, 45%).

Melting point: 152°C.

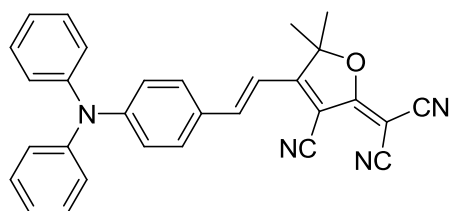
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 8.67 (d, *J*=6.2 Hz, 2H), 7.94 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.54 (d, *J*=6.2 Hz, 2H), 7.03 (d, *J*=8.9 Hz, 2H), 4.15 (m, 2H), 4.02 (m, 1H+2H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 161.6, 150.7 (2C), 144.8, 142.4, 132.2 (2C), 126.2, 119.9 (2C), 117.7, 115.2 (2C), 106.2, 69.9, 61.3.

IR: ν (cm⁻¹) 2211, 1584/1514/1420, 1264, 1181, 1044.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 267.1042 (calcd. 267.1055).

(*E*)-2-(3-cyano-4-(diphenylamino)styryl)-5,5'-dimethylfuran-2(5*H*)-ylidene)malononitrile (**22**)



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(diphenylamino)benzaldehyde (546 mg, 2 mmol.) and **TCF** (318 mg, 1.6 mmol.) in acetonitrile (10 mL) and toluene (2 mL) with 3 drops of piperidine at 80 °C for 24 hours. The mixture was concentrated under *vacuum* and 10 ml of ethylique ether was added. The mixture was filtered and was washed with ethylique ether (10 mL × 2) and with ethanol (10 mL × 2) to obtain a green solid (380 mg, 53%).

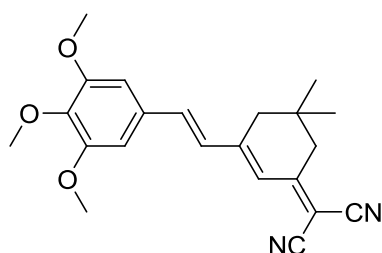
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 7.58 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 7.46 (t, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.36 (t, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J=7.7$ Hz, 4H), 6.98 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 1.76 (s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 175.9, 174.1, 152.6 (2C), 147.4, 145.8, 131.3 (2C), 130.0 (4C), 126.5 (2C), 126.0 (4C), 125.8 (2C), 120.0 (2C), 112.3 (2C), 111.5, 111.3, 111.0, 97.2, 26.8 (2C).

IR: ν (cm^{-1}) 2223, 1560, 1545, 1528, 1488, 1330, 1283, 1266, 1168, 758.

HRMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 455.1863$ (calcd. 455.1872).

(*E*)-2-(5,5'-dimethyl-3-(3,4,5-trimethoxystyryl)cyclohex-2-enylidene)malononitrile (**23**).



Obtained according to *general protocol 2* from 3, 4, 5-trimethoxybenzaldehyde (600 mg, 3.1 mmol.) and 2-(3,5,5-trimethylcyclohex-2-enylidene)malononitrile (700 mg, 3.75 mmol.) at 40°C for 48 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a red solid (300 mg, 27%).

Melting point: 202°C .

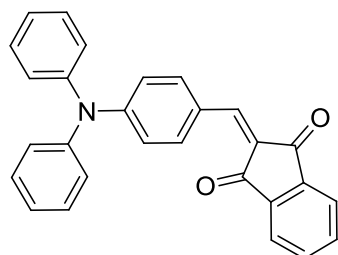
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 7.28 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.88 (s, 2H), 6.76 (s, 1H), 3.91 (m, 9H), 2.65 (s, 2H), 2.52 (s, 2H), 1.12 (s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 169.5, 153.8, 139.9, 137 (2C), 131.5, 128.7 (2C), 123.5, 120.6, 113.7, 104.8 (2C), 78.4, 60.7, 56.2 (3C), 43, 39.2, 32, 27.7.

IR: ν (cm^{-1}) 2219, 1556/1503/1454, 1324, 1122

HRMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 365.1858$ (calcd. 365.1860).

2-(4-(diphenylamino)benzylidene)-1*H*-indene-1,3(2*H*)-dione (**24**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-diphenylaminobenzaldehyde (400 mg, 1.45 mmol.) and 1,3-indandione (255 mg, 1.75 mmol.) at 40°C for 18 hours. Purification by chromatography (Petroleum ether, ethyl acetate: 9/1) afforded the title compound as a red solid (230 mg, 33 %).

Melting point: 214°C.

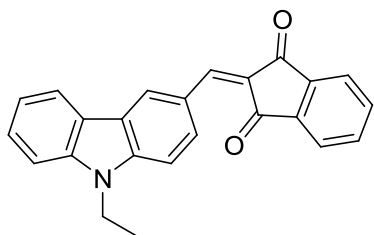
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500MHz): δ (ppm) 8.46 (d, *J*=8.8 Hz, 2H), 7.97 (m, 2H), 7.82 (m, 2H), 7.79 (s, 1H), 7.43 (t, *J*=7.6 Hz, 4H), 7.27 (m, 4H+2H), 7.04 (d, *J*=8.8 Hz, 2H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125MHz): δ (ppm) 191.2 (2C), 153.2, 146.4, 146.3, 140.4, 137 (2C), 135.2, 135 (2C), 130.2 (4C), 129.6, 127.1 (4C), 126 (2C), 124.5, 123.4, 123.1, 122.9, 119 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 3062, 1680, 1570/1542/1487, 1265, 1154.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 402.1482 (calcd.402.1489).

2-((9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)methylene)-1*H*-indene-1,3(2*H*)-dione (**25**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (340 mg, 1.5 mmol.) and 1,3indandione (175 mg, 1.2 mmol.) at 45°C for 26 hours. Purification by chromatography (petroleum ether/ethyl acetate: 3/1) afforded the title compound as an orange solid (330 mg, 78%).

Melting point: 230°C.

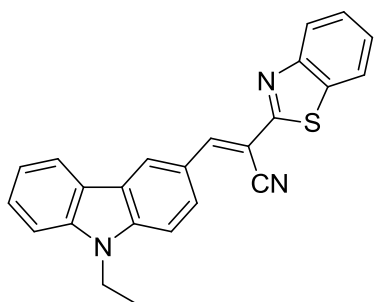
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 9.47 (s, 1H), 8.72 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 8.24 (d, *J*=7.75 Hz, 1H), 8.08 (s, 1H), 8.02-7.96 (m, 2H), 7.81 (m, 2H), 7.57-7.5 (m, 3H), 7.35 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 4.43 (q, *J*=7.25 Hz, 2H), 1.48 (t, *J*=7.3 Hz, 3H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 190.9, 189.7, 148.4, 143.4, 142.6, 140.9, 140.1, 135, 134.8, 133.2, 128.6, 126.8, 125.8, 125, 123.7, 123.3, 122.9, 122.8, 121, 120.6, 109.5, 109, 38.2, 13.8.

IR: ν (cm⁻¹) 3059, 1665, 1571/1553/1471, 1129.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 352.1328 (calcd.352.1332).

(*E*)-2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)acrylonitrile (**26**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (400 mg, 1.8 mmol.) and 2-benzothiazoleacetonitrile (375 mg, 2.5 mmol.) at 40°C for 18 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (680 mg, 57%).

Melting point: 230°C.

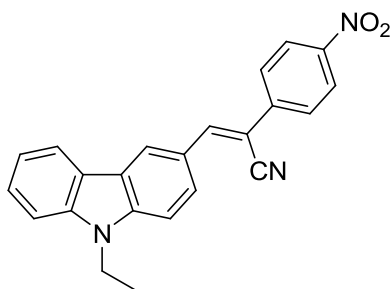
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.81 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 8.28 (d, *J*=8.6 Hz, 1H), 8.20 (d, *J*=7.75 Hz, 1H), 8.07 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.95 (d, *J*=7.95 Hz, 1H), 7.58-7.51 (m, 4H), 7.44 (t, *J*=7.25 Hz, 1H), 7.34 (t, *J*=7.0 Hz, 1H), 4.44 (q, *J*=7.25 Hz, 2H), 1.48 (t, *J*=7.25 Hz, 3H);

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 164.6, 148.7, 141.1, 138.7, 135, 128.7, 128.5, 127.7, 127.1, 127.0, 125.9, 124.5, 123.8 (2C), 123.4, 123.1, 121.9, 121.1, 120.6, 117.7, 109.7, 101.8, 38.4, 14.0.

IR: ν (cm⁻¹) 2361, 1576/1559/1469, 1233, 1128.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 380.1207 (calcd.380.1216).

(*Z*)-3-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)-2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile (**27**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (450 mg, 2 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (400 mg, 2.5 mmol.) at 45°C for 18 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (240 mg, 33%).

Melting point: 244°C.

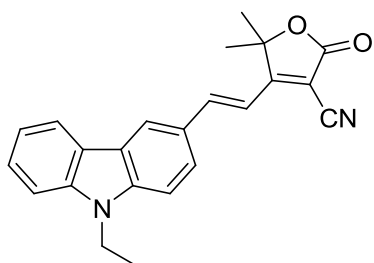
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.72 (s, 1H), 8.3 (d, $J=8.85$ Hz, 2H), 8.22 (dd, $J=8.75$, $J=1.7$ Hz, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.91 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.57-7.50 (m, 3H), 7.31 (t, $J=7.1$ Hz, 1H), 4.45 (q, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.51 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 147.5, 146.8, 141.9, 140.9, 130.4, 127.7, 126.9, 126.4 (2C), 124.4 (2C), 124.3, 123.5 (2C), 122.9, 120.8, 120.2, 118.5, 109.4, 109.3, 105.1, 38.1, 13.8.

IR: ν (cm^{-1}) 2208, 1576/1515/1472, 1334, 1231, 1159.

HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}^+]$ = m/z = 368.1318 (calcd.368.1321).

(*E*)-4-(2-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)vinyl)-5,5'-dimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carbonitrile (**28**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (470 mg, 2.1 mmol.) and 4,5,5-trimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carbonitrile (270 mg, 1.8 mmol.) at 50°C for 72 hours. Purification by chromatography (Petroleum ether, ethyl acetate: 9/1) afforded the title compound as an orange solid (160 mg, 26%).

Melting point: 203°C.

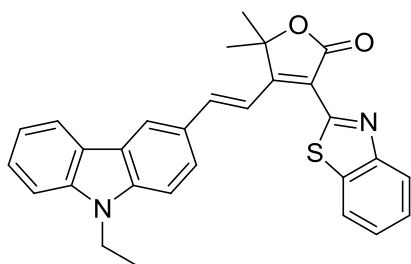
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.42 (s, 1H), 8.17 (d, $J=7.75$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J=16.25$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J=8.6$, $J=1.5$ Hz, 1H), 7.56-7.49 (m, 3H), 7.33 (t, $J=7.1$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J=16.25$ Hz, 1H), 4.42 (q, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.73 (s, 6H), 1.44 (t, $J=7.25$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 177.1, 168.0, 147.7, 142.6, 141, 127.1, 126.7, 125.6, 124.1, 123.1, 122.5, 121, 120.5, 113.2, 112.2, 109.8, 109.6, 96.3, 87.3, 38.3, 26.3 (2C), 14.0.

IR: ν (cm^{-1}) 2220, 1752, 1571/1494/1443, 1336, 1233, 1123.

HRMS (ESI $^+$): $[\text{M}+\text{H}^+]$ = m/z = 357.1519 (calcd.357.1525).

(*E*)-3-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-4-(2-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)vinyl)-5,5'-dimethylfuran-2(5*H*)-one (**29**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (300 mg, 1.3 mmol.) and 3-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-4,5,5-trimethylfuran-2(5*H*)-one (420 mg, 1.6 mmol.) at 70°C for 48 hours. Purification by chromatography (Petroleum ether, ethyl acetate: 6/1) afforded the title compound as an orange solid (240 mg, 78%).

Melting point: 223°C.

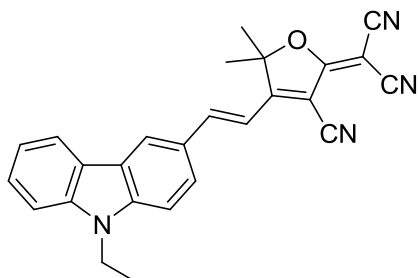
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 9.0 (d, *J*=16.95 Hz, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.25 (d, *J*=8.15 Hz, 1H), 8.19 (d, *J*=7.75 Hz, 1H), 8.03 (d, *J*=7.95 Hz, 1H), 7.94 (d, *J*=8.6 Hz, 1H), 7.62-7.46 (m, 6H), 7.33 (t, *J*=7.65 Hz, 1H), 4.43 (q, *J*=7.3 Hz, 2H), 1.76 (s, 6H), 1.47 (t, *J*=7.25 Hz, 3H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 170.5, 165.7, 159, 153.4, 144.1, 141.7, 140.8, 135.2, 127.2, 126.6, 126.4, 126.1, 125.5, 123.7, 123.2, 123, 121.8, 121.6, 120.6, 120, 116.7, 115.6, 109.5, 109.3, 85.5, 38.1, 27.5 (2C), 13.8.

IR: ν (cm⁻¹) 2364, 1748, 1559/1471/1457, 1233, 1122.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 465.1553 (calcd.465.1558).

(*E*)-2-(3-cyano-4-(2-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)vinyl)-5,5'-dimethylfuran-2(5*H*)-ylidene)malononitrile (**30**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (340 mg, 1.5 mmol.) and 2-(3-cyano-4,5,5-trimethylfuran-2(5*H*)-ylidene)malononitrile (380 mg, 1.9 mmol.) at 45°C for 48 hours. Purification by chromatography (dichloromethane, pentane: 1/1 then 2/1) afforded the title compound as a red solid (180 mg, 30%).

Melting point: 230°C.

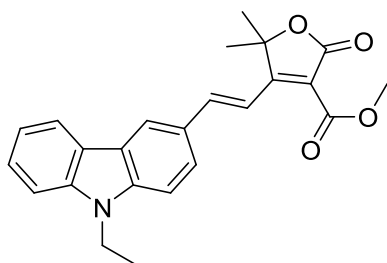
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.45 (s, 1H), 8.18 (d, *J*=7.75 Hz, 1H), 7.94 (d, *J*=16.2 Hz, 1H), 7.85 (d, *J*=8.6 Hz, 1H), 7.58-7.49 (m, 3H), 7.34 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.12 (d, *J*=16.2 Hz, 1H), 4.42 (q, *J*=7.3 Hz, 2H), 1.8 (s, 6H), 1.46 (t, *J*=7.25 Hz, 3H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 176.5, 175.0, 149.7, 143.3, 141.1, 127.4 (2C), 127.3, 125.5, 123.5, 123.0 (2C), 121.1 (2C), 120.9 (2C), 112.0 (2C), 110.1, 109.8 (2C), 98, 38.4, 26.8 (2C), 14.0.

IR: ν (cm⁻¹) 2219, 1542/1508/1490, 1394, 1106.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 405.1631 (calcd.405.1637).

(*E*)-methyl-4-(2-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)vinyl)-5,5'-dimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**31**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (470 mg, 2.1 mmol.) and methyl 4,5,5-trimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carboxylate (330 mg, 1.8 mmol.) at 50°C for 48 hours. Purification by chromatography (Petroleum ether, ethyl acetate: 6/1) afforded the title compound as an orange solid (450 mg, 65%).

Melting point: 218°C.

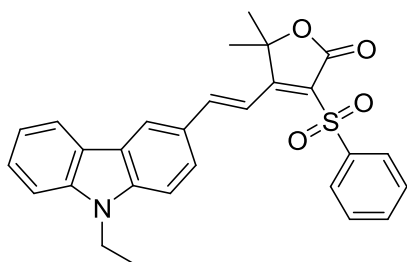
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.35 (s, 1H), 8.16 (d, *J*=7.7 Hz, 1H), 7.99 (d, *J*=9.95 Hz, 1H), 7.8 (d, *J*=7.4 Hz, 1H), 7.54-7.42 (m, 4H), 7.3 (t, *J*=6.9 Hz, 1H), 4.41 (q, *J*=7.15 Hz, 2H), 3.94 (s, 3H), 1.63 (s, 6H), 1.44 (t, *J*=7.15 Hz, 3H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 173.7, 167.6, 163.4, 145, 142, 140.9, 126.8, 126.6 (2C), 126.1, 125.9, 123.8, 123.1, 121.9, 120.8, 120.7, 120.2, 115, 114.4, 109.6, 109.5, 109.1, 84.3, 52.3, 38.2, 27.4 (2C), 14.0.

IR: ν (cm⁻¹) 2364, 1759, 1572/1542/1490, 1333, 1213, 1123.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 390.1621 (calcd.390.1627).

(*E*)-4-(2-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)vinyl)-5,5'-dimethyl-3-(phenylsulfonyl)furan-2(5*H*)-one (32).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (320 mg, 1.4 mmol.) and 4,5,5-trimethyl-3-(phenylsulfonyl)furan-2(5*H*)-one (320 mg, 1.2 mmol.) at 50°C for 48 hours. Purification by chromatography (petroleum ether, ethyl acetate: 6/1) afforded the title compound as an orange solid (165 mg, 29%).

Melting point: 224°C.

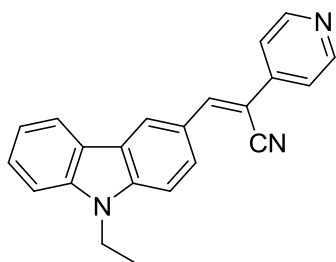
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.4 (s, 1H), 8.35 (d, *J*=16.75 Hz, 1H), 8.18 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 8.10 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.91 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 7.67 (t, *J*=7.25 Hz, 1H), 7.60-7.52 (m, 6H), 7.32 (t, *J*=7.25 Hz, 1H), 4.43 (q, *J*=7.15 Hz, 2H), 1.77 (s, 6H), 1.48 (t, *J*=7.15 Hz, 3H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 172.0, 165.4, 147.1, 142.4, 141.0, 140.7, 134.2, 129.4, 128.9 (2C), 128.7 (2C), 127.0, 126.4, 123.9, 123.1, 122.7, 121.4, 120.9, 120.4, 112.9, 109.8, 109.6, 85.4, 38.3 (2C), 27.6, 14.0.

IR: ν (cm⁻¹) 1748, 1583/1529/1472, 1330, 1234, 1148.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 472.1499 (calcd.472.1504).

(*Z*)-3-(9-ethyl-9*H*-carbazol-3-yl)-2-(pyridine-4-yl)acrylonitrile (33).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3-carbaldehyde (300 mg, 1.35 mmol.) and 2-(pyridin-4-yl)acetonitrile (250 mg, 1.5 mmol.) at 60°C for 48 hours. Purification by chromatography (petroleum ether, ethyl acetate: 6/1) afforded the title compound as an orange solid (130 mg, 30%).

Melting point: 216°C.

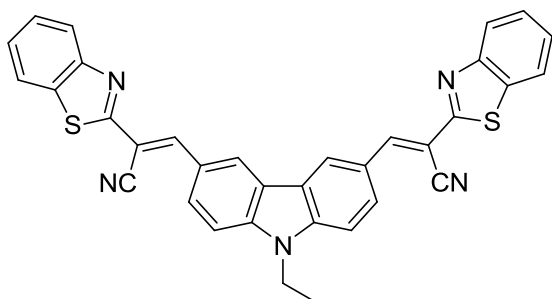
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.81 (s, 1H), 8.77 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 8.58(s, 1H), 8.26 (d, $J=8.6$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J=7.95$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J=8.25$ Hz, 2H), 7.83 (d, $J=8.25$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J=8.05$ Hz, 1H), 7.55-7.32 (m, 2H), 4.48 (q, $J=7.15$ Hz, 2H), 1.41 (t, $J=7.15$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 149.4 (2C), 144.9, 141.5, 140.6, 131.1, 127.4, 126.8 (2C), 124.4, 123.8, 123.5, 123.1, 122.1, 121 (2C), 120.2, 118.4, 109.2, 104.3, 38.5, 14.0.

IR: ν (cm^{-1}) 2926, 2214, 1628, 1573/1492, 1234.

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 324.1432$ (calcd.324.1422).

(2*E*,2'*E*)-3,3'-(9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-diyl)bis(2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)acrylonitrile) (**34**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-dicarbaldehyde (100 mg, 0.4 mmol.) and 2-benzothiazoleacetonitrile (210 mg, 1.2 mmol.) at 40°C for 18 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a red solid (125 mg, 56%).

Melting point: >250°C

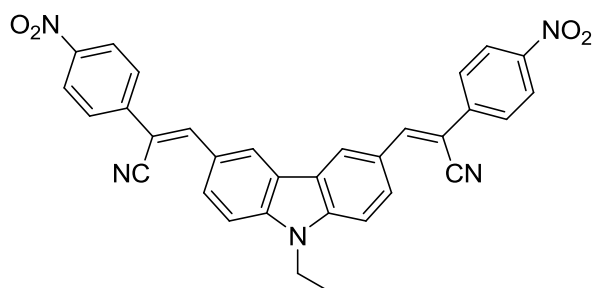
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.86 (s, 2H), 8.38 (m, 4H), 8.12 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J=8.5$ Hz, 2H), 7.55 (t, $J=7.4$ Hz, 2H), 7.49 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 4.51 (q, $J=7.4$ Hz, 2H), 1.51 (t, $J=7.3$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 164 (2C), 153.9 (2C), 147.9 (2C), 143 (2C), 134.9 (2C), 128.9 (2C), 126.9 (2C), 125.9 (2C), 125 (2C), 124.6 (2C), 123.5 (2C), 123.4 (2C), 121.8 (2C), 117.3 (2C), 110.3 (2C), 102.9 (2C), 38.6, 13.9.

IR: ν (cm^{-1}) 2213, 1568/1557/1489, 1242, 1161.

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 564.1233$ (calcd.564.1238).

(2*Z*,2'*Z*)-3,3'-(9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-diyl)bis(2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile) (**35**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-dicarbaldehyde (100 mg, 0.4 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (195 mg, 1.2 mmol.) at 40°C for 72 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as an orange solid (150 mg, 69%).

Melting point: >250°C

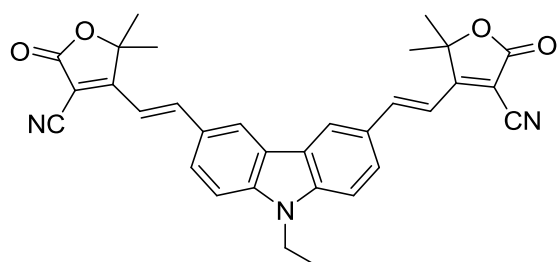
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.86 (s, 2H), 8.37 (d, *J*=8.8 Hz, 4H), 8.30 (m, 2H), 8.00 (s, 2H), 7.96(d, *J*=8.85 Hz, 2H), 7.66 (d, *J*=8.65 Hz, 4H), 4.49 (q, *J*=7.3 Hz, 2H), 1.54 (t, *J*=7.4Hz, 3H);

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 147.5 (2C), 145.1 (2C), 141.5 (2C), 140.9 (2C), 130.5 (2C), 129.4 (2C), 128.1 (2C), 126.7 (4C), 124.4 (4C), 120.6 (2C), 117.9 (2C), 109.2 (2C), 103.9 (2C), 38.1, 13.8.

IR: ν (cm⁻¹) : 2213, 1575/1562/1488, 1337, 1241, 1131.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 540.1601(calcd.540.1594).

4,4'-(1*E*,1'*E*)-2,2'-(9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-diyl)bis(5,5'-dimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carbonitrile) (**36**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-dicarbaldehyde (150 mg, 0.6 mmol.) and **MCF** (180 mg, 1.2 mmol.) at 50°C for 20 hours. Purification by chromatography (dichloromethane) afforded the title compound as a red solid (50 mg, 16%).

Melting point: >250°C

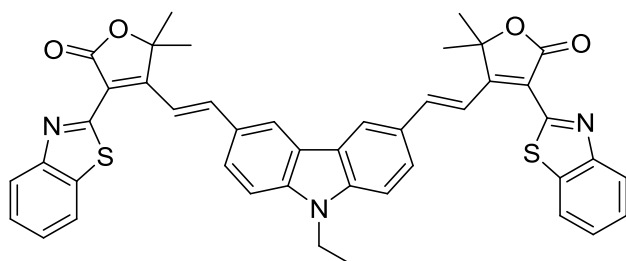
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 8.50 (s, 2H), 7.97 (d, $J=16.55$ Hz, 2H), 7.86 (d, $J=8.65$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J=8.6$ Hz, 2H), 7.03 (d, $J=16.3$ Hz, 2H), 4.44 (q, $J= 7.3$ Hz, 2H), 1.73 (s, 12H), 1.5 (t, $J=7.3$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 176.9 (2C), 166.8 (2C), 147.0 (2C), 143.2 (2C), 127.8 (2C), 126.9 (2C), 123.9 (2C), 122.4 (2C), 113.1 (4C), 110.5 (2C), 97.3 (2C), 87.3 (2C), 38.8, 26.2 (4C), 14.0.

IR: ν (cm^{-1}) 2228, 1747, 1558/1542/1457, 1233, 1121.

HRMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 518.2062$ (calcd.518.2074).

4,4'-(1*E*,1'*E*)-2,2'-(9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-diyl)bis(3-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-5,5'-dimethylfuran-2(5*H*)-one) (**37**).



Obtained according to *general protocol 2* from 9-ethyl-9*H*-carbazole-3,6-dicarbaldehyde (90 mg, 0.4 mmol.) and 3-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-4,5,5-trimethylfuran-2(5*H*)-one (280 mg, 1.1 mmol.) at 60°C for 20 hours. Purification by chromatography (Petroleum ether, ethyl acetate: 6/1) afforded the title compound as a red solid (105 mg, 40%).

Melting point: >250°C

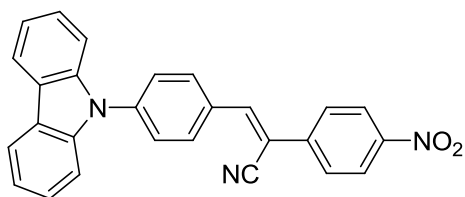
$^1\text{H-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 500 MHz): δ (ppm) 9.03 (d, $J=17.0$ Hz, 2H), 8.50 (s, 2H), 8.18 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.99 (t, $J=7.3$ Hz, 4H), 7.67-7.59 (m, 4H), 7.48-7.38 (m, 4H), 4.49 (q, $J=7.25$ Hz, 2H), 1.92 (s, 12H), 1.58 (t, $J=7.25$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_2Cl_2 , 125 MHz): δ (ppm) 170.6 (2C), 165.4 (2C), 160.1 (2C), 153.6 (2C), 144.1 (2C), 143.6 (2C), 142.3 (2C), 135.1 (2C), 132.7 (2C), 128.5 (2C), 126.6 (2C), 126.4 (2C), 125.7 (2C), 123.4 (2C), 122 (2C), 117.8 (2C), 110.3 (2C), 109.9 (2C), 85.5 (2C), 38.1, 27.6 (4C), 13.8.

IR: ν (cm^{-1}) 1718, 1584/1558/1489, 1232, 1123.

HRMS (ESI^+): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 734.2063$ (calcd.734.2069).

(Z)-3-(4-(9H-carbazol-9-yl)phenyl)-2-(4-nitrophenyl)acrylonitrile (**38**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(9H-carbazol-9-yl)benzaldehyde (500 mg, 1.85 mmol.) and 2-(4-nitrophenyl)acetonitrile (450 mg, 2.78 mmol.) at 40°C for 18 hours. Purification by chromatography (Ethyl acetate/Petroleum ether: 1/6) afforded the title compound as an orange solid (430 mg, 56 %).

Melting point: 223°C.

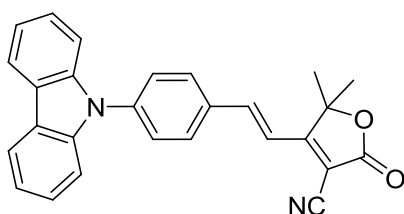
¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.33 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 8.22 (d, *J* = 7.85 Hz, 2H), 8.15 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.81 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.25 Hz, 2H), 7.45 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.33 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H)

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 148.4, 144.6 (2C), 141.0, 140.9, 140.6 (2C), 132.0, 131.8 (2C), 127.3 (2C), 127.2 (2C), 126.6 (2C), 124.7 (2C), 124.2 (2C), 121 (2C), 120.8 (2C), 117.6, 110.3 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 2219, 1588/1511/1448, 1220, 1170.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 416.1388 (calcd. 416.1394).

(E)-4-(4-(9H-carbazol-9-yl)styryl)-5,5'-dimethyl-2-oxo-2,5 dihydrofuran-3-carbonitrile (**39**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(9H-carbazol-9-yl)-benzaldehyde (270 mg, 1 mmol.) and 3-(cyano)-4-methyl-5,5-dimethyl-2-butenolide (150 mg, 1 mmol.) at 70°C for 4 hours. Purification by chromatography (EtOAc/Pentane: 30/70) afforded the title compound as a yellow solid (290 mg, 72%).

Melting point: 203°C.

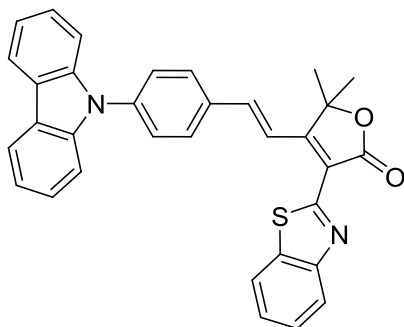
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 8.16 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 7.73 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.45 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 6.98 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 1.74 (s, 6H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 176.1, 166.0, 144.5, 141.1, 140.3, 132.7, 130.2, 127.3, 126.4, 124.0, 120.9, 120.7, 115.4, 112.2, 109.8, 99.4, 87.1, 26.1.

IR: ν (cm^{-1}) 1763, 1585, 1516, 1449, 1334, 1276, 1231, 1219, 1172, 1069, 750, 723.

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 405.1515$ (calcd. 405.1519).

(*E*)-4-(4-(9*H*-carbazol-9-yl)styryl)-3-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)-5, 5'- dimethylfuran-2(5*H*)-one (40).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(9*H*-carbazol-9-yl)-benzaldehyde (270 mg, 1 mmol.) and 3-(2-benzothiazolyl)-4-methyl-5,5-dimethyl-2-butenolide (260 mg, 1 mmol.) at 80°C for 24 hours. Purification by chromatography (EtOAc/Pentane: 10/90) afforded the title compound as an orange solid (445 mg, 86%).

Melting point: 142°C

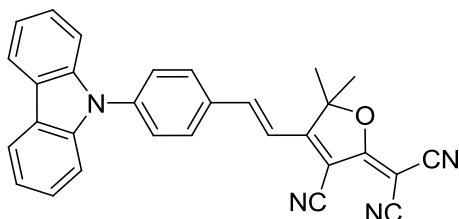
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ (ppm) 8.97 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 8.17 (d, $J=7.9$ Hz, 2H), 8.01 (d, $J=7.9$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.72 (d, $J=8.1$ Hz, 2H), 7.56 (t, $J=8.17$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.42-7.38 (m, 4H), 7.34 (t, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.90 (s, 6H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ (ppm) 170.2, 164.3, 158.3, 153.3, 140.7, 140.6, 139.7, 135.4, 134.8, 129.7, 127.4, 126.5, 126.3, 125.9, 123.9, 123.5, 121.9, 120.6, 120.5, 109.9, 85.6, 27.6.

IR: ν (cm^{-1}) 1736, 1595, 1574, 1513, 1448, 1333, 1313, 1269, 1226, 1170, 1143, 1026, 748, 723.

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}^+] = m/z = 513.1631$ (calcd. 513.1631).

(*E*)-2-(4-(4-(9*H*-carbazol-9-yl)styryl)-3-cyano-5,5'-dimethylfuran-2(5*H*)-ylidene)malononitrile (41).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(9*H*-carbazol-9-yl)-benzaldehyde (270 mg, 1 mmol.) and TCF (240 mg, 1,2 mmol.) at 50°C for 18 hours. Purification by

chromatography (EtOAc/Pentane: 30/70) afforded the title compound as a black solid (175 mg, 39%).

Melting point > 260°C.

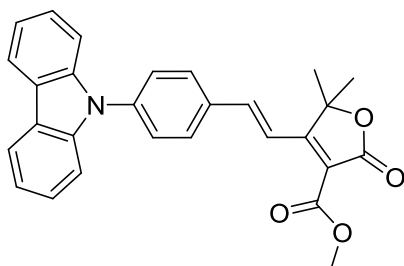
¹H-NMR (DMSO, 500 MHz): δ (ppm) 8.28 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 8.23 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 8.08 (d, *J*=16.4 Hz, 1H), 7.83 (d, *J*=8.5 Hz, 2H), 7.53 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.49 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.36 (d, *J*=16.4 Hz, 1H), 7.34 (t, *J*=8.2 Hz, 1H), 1.87 (s, 6H).

¹³C-NMR (DMSO, 125 MHz): δ (ppm) 177, 175, 146.1, 140, 139.5 (2C), 133, 131.2 (2C), 126.7 (2C), 126.4 (2C), 123.1 (2C), 120.6 (4C), 115.8, 112.6, 111.8, 110.8 (2C), 109.8, 99.7, 99.4, 54.5, 25.1 (2C).

IR: ν (cm⁻¹) 2989, 2223, 2202, 1567, 1553, 1165, 745.

Anal. calcd for C₃₀H₂₀N₄O: C 79.63; H 4.45; N 12.38. Found: C 79.89; H 4.39; N 12.10.

(*E*)-methyl-4-(4-(9*H*-carbazol-9-yl)styryl)-5,5'-dimethyl-2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-carboxylate (**42**).



Obtained according to *general protocol 2* from 4-(9*H*-carbazol-9-yl)-benzaldehyde (270 mg, 1 mmol.) and 3-(methyl ester)-4-methyl-5,5-dimethyl-2-butenolide (200 mg, 1 mmol.) at 80°C for 12 hours. Purification by chromatography (EtOAc/Cyclohexane: 20/80) afforded the title compound as a yellow solid (330 mg, 78 %).

Melting point: 174°C.

¹H-NMR (CD₂Cl₂, 500 MHz): δ (ppm) 8.16 (d, *J*=7.7 Hz, 2H), 8.04 (d, *J*=17.0 Hz, 1H), 7.85 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.68 (d, *J*=8.2 Hz, 2H), 7.50-7.40 (m, 4H), 7.38-7.28 (m, 3H), 3.97 (s, 3H), 1.79 (s, 6H).

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 125 MHz): δ (ppm) 172.5, 167.2, 163.1, 141.9, 140.8, 140.1, 134.5, 130.0, 127.5, 126.5, 124.1, 120.8, 120.7, 118.6, 117.2, 110.2, 84.6, 52.6, 27.3.

IR: ν (cm⁻¹) 1748, 1587, 1515, 1450, 1230, 1215, 1049, 746, 723.

HRMS (ESI⁺): [M+H⁺] = *m/z* = 438.1638 (calcd. 438.1627).

Spectroscopy

Absorption and fluorescence spectra of fluorophores were obtained using a JASCO V670 spectrophotometer and a Horiba-Jobin Yvon Fluorolog-3 spectrofluorimeter, equipped with a red-sensitive Hamamatsu R928 photomultiplier tube. Spectra were reference corrected for both the excitation source light intensity variation (lamp and grating) and the emission spectral response (detector and grating). All solvents used were of spectrophotometric grade.

For solid-state fluorescence, emission spectra were recorded using an integrating sphere (model F-3018) in combination with the Horiba-Jobin Yvon Fluorolog-3 spectrofluorimeter. A specific sample holder was used that can be used for solid and solution. The quantity required for a measurement was around 100 mg of compounds (powder). Accuracy of the spectral correction was previously controlled by comparison of the corrected emission spectra of a set of emission standards determined with the integrating sphere setup with the corresponding spectra obtained with a calibrated spectrofluorometer. The absolute fluorescence quantum yields in solid were using the same integrating sphere.

Determination of quantum yields in solution

The standard reference is chosen to ensure its absorption matches the absorption of the sample so that standard and sample can be excited at the same wavelength (λ_{exc}) and in the ideal case, with a quantum yield and an emission range as close as possible to the sample quantum yield and emission. Fluorescence quantum yields were measured using Coumarine 153 ($\Phi_F = 43\%$ in methanol) and Erythrosin B ($\Phi_F = 9\%$ in methanol). Both products were purchased from Acros.

A diluted solution of standard in the appropriate solvent and a diluted solution of sample are prepared in 10 mm fluorescence cells. The absorbance of each solution at the excitation wavelength is measured A_{ref} and A_s for standard and sample respectively. Fluorescence spectra are recorded exciting both sample and standard at λ_{exc} and using the same instrument configuration (excitation and emission slits, integration time and emission step). The integrated fluorescence intensity F_{ref} and F_s from the fully corrected fluorescence spectra are calculated (integrated area of the fluorescence spectrum). This is repeated for five solutions with increasing or decreasing concentrations for standard and sample. In order to

minimize re-absorption effects, absorbance in the 10 mm fluorescence cell should never exceed 0.1 at and above the excitation wavelength. Finally, blank spectra corresponding to the solvent(s) used is recorded in absorption and fluorescence.

A graph of the integrated fluorescence intensity F vs the absorbance A is plotted including points for the blanks. Straight lines with gradients $Grad_{ref}$ and $Grad_x$ and intercepts = 0 are obtained for the standard and the sample respectively. The sample quantum yield is then calculated according to the following equation:

$$\Phi_{Fx} = \Phi_{Fref} \times \frac{Grad_x \times n_x^2}{Grad_{ref} \times n_{ref}^2}$$

Where n are the refractive indexes of the solvent used for the reference (n_{ref}) or the sample (n_x). Good linearity with zero intercept is usually obtained and the estimated error is within $\pm 10\%$.

Determination of quantum yields in solid (suspension and powder)

Preparation of suspension

Firstly, stock THF solutions of the compounds with a concentration of 5×10^{-3} M were prepared. 50 μ L aliquots of the stock solution were transferred to 5 mL volumetric flasks. After the appropriate amount of THF was added, water was added one shot under vigorous stirring to furnish 5×10^{-5} M solutions with different water content ($f_w = 0$ to 95 %).

f_w	0 %	50 %	60 %	65 %	70 %	75 %	80 %	85 %	90 %	95 %	99 %
$V_{stock}(\mu\text{L})$	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
$V_{THF}(\mu\text{L})$	4950	2450	1950	1700	1450	1200	950	700	450	200	0
$V_{H_2O}(\mu\text{L})$	0	2500	3000	3250	3500	3750	4000	4250	4500	4750	4950

Then, for each solution, absorption and fluorescence spectra were recorded. The fluorescence quantum yields were measured after determination of the ratio water / THF giving the higher intensity fluorescence.

Quantum yields in suspension and in solid state

The photoluminescence quantum yield is determined using a method based upon that originally developed by de Mello *and al.*

For each sample, 4 measurements were made, all spectra recorded with the same excitation and emission monochromatic band-pass (slits opening) to give four integrated intensities needed for the determination of quantum yield with the equation:

$$\Phi_F = \frac{E_c - E_a}{\text{Filter density} \times (L_a - L_c)}$$

Where

- E_c is the integrated fluorescence as a result of direct excitation of the sample in the beam
- E_a is the integrated fluorescence without any sample (the background of the sphere).
- L_a is the integrated excitation profile with the empty sphere
- L_c is the integrated excitation profile with the sample inside the sphere in the beam

L_a and L_c are obtained by measuring the integrated excitation band, *i.e.* the emission signal measured across the excitation wavelength λ_{exc} . The signal is measured from $\lambda_{exc}-10$ nm to $\lambda_{exc}+10$ nm with an increment reduced to 0.1 nm to ensure a proper integration is obtained on the excitation profile. A neutral density filter of 0.5% was used to reduce the intensity without changing the excitation profile and ensure that the maximal intensity stays below 2×10^6 CPS, the limit of linearity for the R928 detector when recording the L_a and L_c signals.

Annexes

X-Ray Crystallography

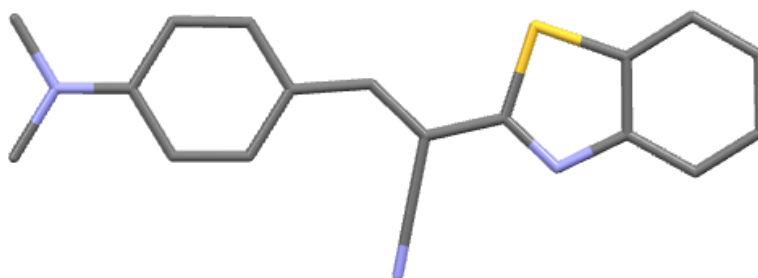
Single crystals of compounds **1**, **3**, **4**, **12**, **14**, **28**, **29** and **32** suitable for X-ray crystallographic analysis were obtained by slow diffusion of cyclohexane, heptane or isopropyl ether into concentrated chloroform or DCM solution of the compounds at ambient temperature or VAPOR. Data collection was done on a Kappa CCD diffractometer with Mo K α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$), Cu K α radiation ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) and Ag K α ($\lambda = 0.5609 \text{ \AA}$).

Each system was attributed according to the observed systematic extinctions and the structures have been solved in the appropriate space group. The structure was solved by direct methods using the SIR97 [1] program combined to Fourier difference syntheses and refined against F using reflections with $[I / \sigma(I) > 2]$ with the CRYSTALS program [2], for all compounds. All atomic displacements parameters for non-hydrogen atoms have been refined with anisotropic terms. After anisotropic refinement, all the hydrogen atoms are found with a Fourier Difference. We have summarized the crystallographic data and refinement details for all compounds.

[1]: G. Cascarano, A. Altomare, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A.G.G. Moliterni, D. Siliqi, M.C. Burla, G. Polidori, M. Camalli, *Acta Crystallogr.*, **1996**, A52, C79.

[2]: D.J. Watkin, C.K. Prout, J.R. Carruthers, P.W. Betteridge, **1999**, CRISTAL Issue 11, Chem. Crystallogr. Lab., Oxford, UK.

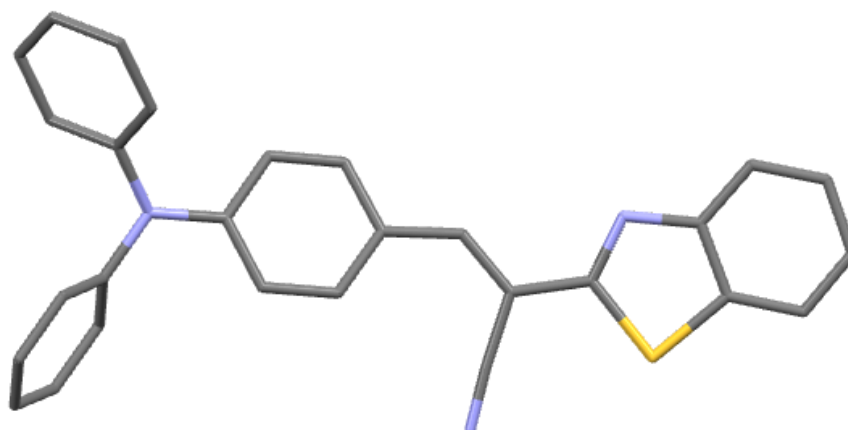
Compound 1



Formula	C ₁₈ H ₁₅ N ₃ S
f.w. (g.mol⁻¹)	305.40
Crystal System	Triclinic
Space group	P-1
a (Å)	7.4192 (8)
b (Å)	10.291 (2)
c (Å)	11.012 (2)
α (°)	67.26 (2)
β (°)	80.890 (10)
γ (°)	70.300 (10)
V (Å³)	729.7 (2)
Z	2
T (K)	100
λ(MoKα) (Å)	0.7107
D (g.cm⁻³)	1.390
μ (mm⁻¹)	0.22
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.055
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.119
S	0.99
R_{int}	0.044
θ_{max} (°)	29.6
h	-8 → 10
k	-12 → 13
l	-13 → 14
Parameters	200
Measured reflections	5 984
Independent reflections	3 410
Reflections with I > 2.0 σ (I)	2 921
Δρ_{min}	-0.63 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.63 e Å ⁻¹

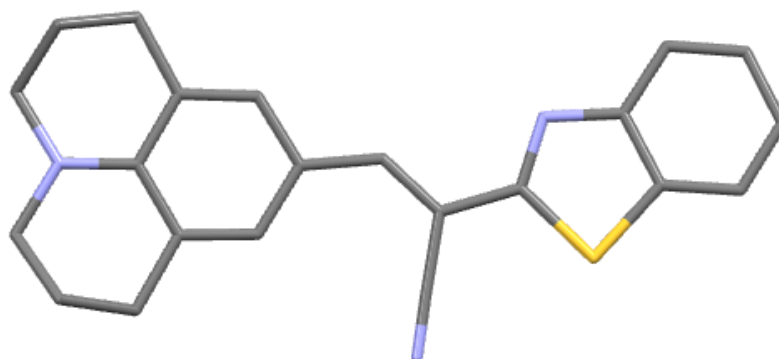
^aR(F)=Σ ||Fo|- |Fc||/Σ |Fo|, ^bR_w(F)= Σ[w ((Fo²-Fc²)²/Σ wFo⁴]^{1/2})

Compound 2



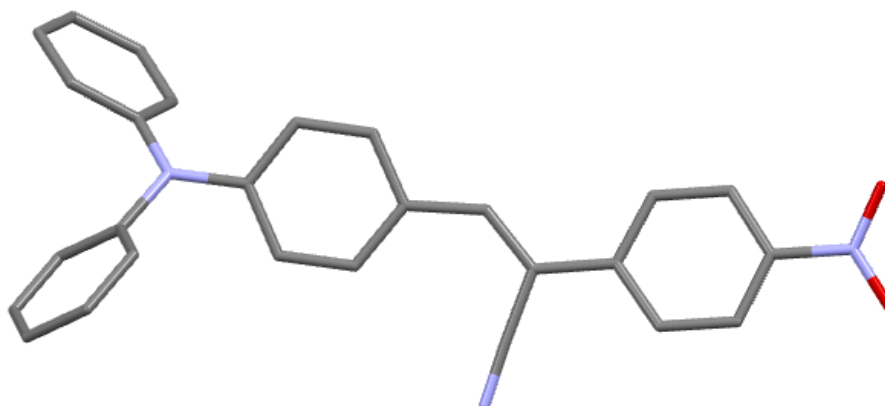
Formula	C ₂₈ H ₁₉ N ₃ S
f.w. (g.mol⁻¹)	429.52
Crystal System	triclinic
Space group	P-1
a (Å)	10.7820 (10)
b (Å)	14.020 (4)
c (Å)	16.248 (2)
α (°)	73.790 (10)
β (°)	81.800 (10)
γ (°)	72.340 (10)
V (Å³)	2242.87
Z	4
T (K)	293
λ(AgKα) (Å)	0.5609
D (g.cm⁻³)	1.272
μ (mm⁻¹)	0.093
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.080
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.114
S	1.182
R_{int}	0.119
θ_{max} (°)	18
h	-11 → 11
k	-15 → 15
l	-17 → 17
Parameters	567
Measured reflections	34220
Independent reflections	6226
Reflections with I > 2.0 σ (I)	3740
Δρ_{min}	-0.33 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.28 e Å ⁻¹

Compound 3



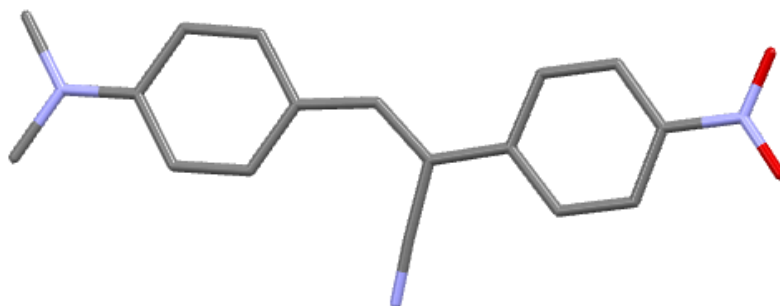
Formula	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ S
f.w. (g.mol⁻¹)	357.46
Crystal System	triclinic
Space group	P-1
a (Å)	8.719 (2)
b (Å)	8.8250 (10)
c (Å)	11.8440 (10)
α (°)	90.480 (10)
β (°)	96.630 (10)
γ (°)	102.470 (10)
V (Å³)	883.37
Z	2
T (K)	293
λ(AgKα) (Å)	0.5609
D (g.cm⁻³)	1.344
μ (mm⁻¹)	0.108
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.077
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.114
S	1.2
R_{int}	0.066
θ_{max} (°)	21.4
h	-11 → 11
k	-11 → 9
l	-15 → 15
Parameters	235
Measured reflections	13538
Independent reflections	3983
Reflections with I > 2.0 σ (I)	2444
Δρ_{min}	-0.30 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.28 e Å ⁻¹

Compound 12



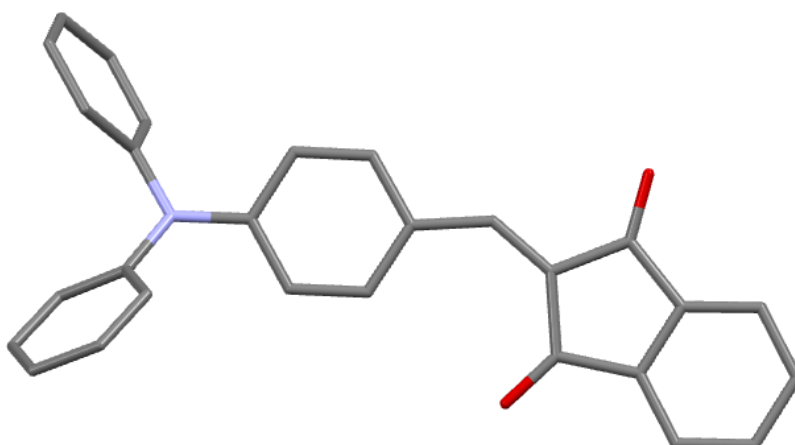
Formula	C ₂₇ H ₁₉ N ₃ O ₂
f.w. (g.mol⁻¹)	471.47
Crystal System	monoclinic
Space group	P2 ₁ /c
a (Å)	11.1416 (9)
b (Å)	7.5222 (7)
c (Å)	25.148 (2)
α (°)	90
β (°)	97.129 (8)
γ (°)	90
V (Å³)	2091.34
Z	4
T (K)	150
λ(CuKα) (Å)	1.5418
D (g.cm⁻³)	1.326
μ (mm⁻¹)	0.682
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.050
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.085
S	0.98
R_{int}	0.063
θ_{max} (°)	67.1
h	-12 → 13
k	-7 → 8
l	-29 → 29
Parameters	290
Measured reflections	14637
Independent reflections	3665
Reflections with I > 2.0 σ (I)	3231
Δρ_{min}	-0.20 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.21 e Å ⁻¹

Compound 14



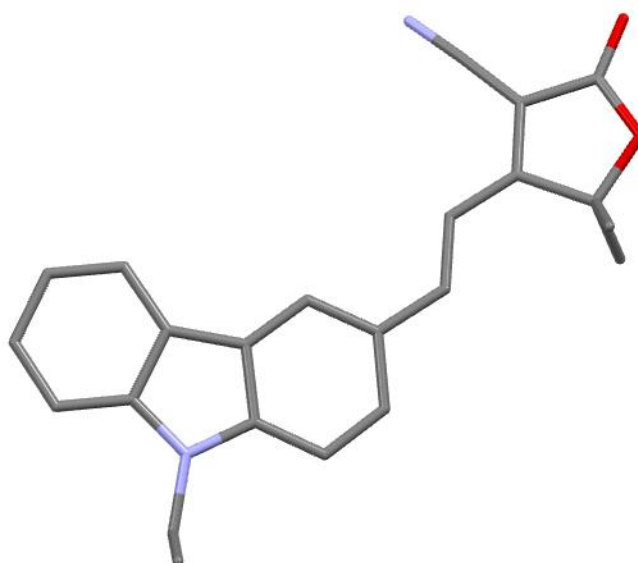
Formula	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂
f.w. (g.mol⁻¹)	293.33
Crystal System	Monoclinic
Space group	Pn
a (Å)	6.7650 (10)
b (Å)	17.0820 (10)
c (Å)	7.0310 (10)
α (°)	90
β (°)	116.89 (2)
γ (°)	90
V (Å³)	724.7 (2)
Z	2
T (K)	100
λ(CuKα) (Å)	1.5418
D (g.cm⁻³)	1.344
μ (mm⁻¹)	0.74
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.034
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.034
S	1.00
R_{int}	0.043
θ_{max} (°)	66.6
h	-8 → 7
k	-20 → 20
l	-8 → 7
Parameters	201
Measured reflections	6 906
Independent reflections	2 357
Reflections with I > 2.0 σ (I)	2 311
Δρ_{min}	-0.21 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.24 e Å ⁻¹

Compound 24



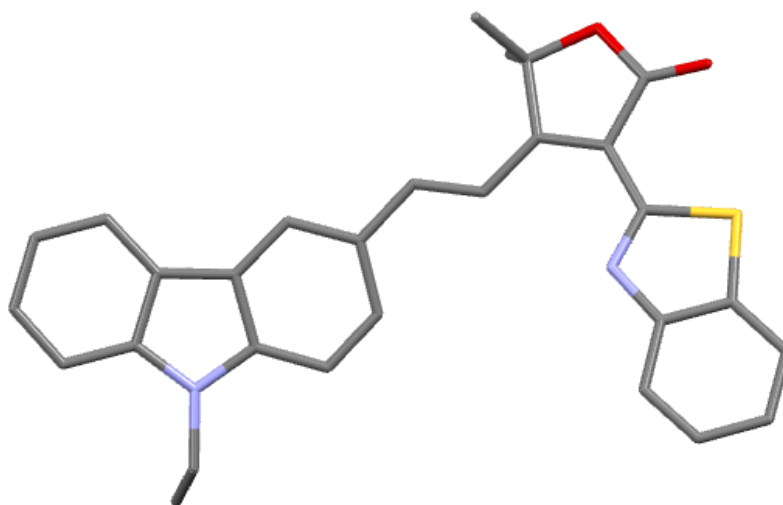
Formula	C ₂₈ H ₁₉ NO ₂
f.w. (g.mol⁻¹)	401.46
Crystal System	triclinic
Space group	P-1
a (Å)	6.8190 (10)
b (Å)	8.1613 (9)
c (Å)	18.129 (2)
α (°)	81.279 (9)
β (°)	86.530 (10)
γ (°)	86.000 (10)
V (Å³)	993.54
Z	2
T (K)	150
λ(MoKα) (Å)	0.7107
D (g.cm⁻³)	1.342
μ (mm⁻¹)	0.084
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.054
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.080
S	0.98
R_{int}	0.055
θ_{max} (°)	29.6
h	-9 → 9
k	-11 → 10
l	-25 → 24
Parameters	281
Measured reflections	18156
Independent reflections	4937
Reflections with I > 2.0 σ (I)	3602
Δρ_{min}	-0.44 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.44 e Å ⁻¹

Compound 28



Formula	C ₂₃ H ₂₀ N ₂ O ₂
f.w. (g.mol⁻¹)	356.42
Crystal System	triclinic
Space group	P-1
a (Å)	7.0860 (10)
b (Å)	8.8110 (10)
c (Å)	15.6400 (10)
α (°)	89.596 (8)
β (°)	84.320 (9)
γ (°)	68.330 (10)
V (Å³)	902.55
Z	2
T (K)	150
λ(MoKα) (Å)	0.7107
D (g.cm⁻³)	1.311
μ (mm⁻¹)	0.084
R(F)^a, I>2σ(Fo)	0.061
R_w(F²)^b, I>2σ(Fo)	0.123
S	1.00
R_{int}	0.078
θ_{max} (°)	29.7
h	-9 → 9
k	-12 → 12
l	-21 → 20
Parameters	245
Measured reflections	22568
Independent reflections	4636
Reflections with I > 2.0 σ (I)	3452
Δρ_{min}	-0.35 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.39 e Å ⁻¹

Compound 29



Formula	C ₂₉ H ₂₄ N ₂ O ₂ S
f.w. (g.mol⁻¹)	464.56
Crystal System	monoclinic
Space group	P2 ₁ /c
a (Å)	16.006 (3)
b (Å)	18.053 (3)
c (Å)	8.2330 (10)
α (°)	90
β (°)	18.053 (3)
γ (°)	90
V (Å³)	2359.91
Z	4
T (K)	293
λ(AgKα) (Å)	0.5609
D (g.cm⁻³)	1.308
μ (mm⁻¹)	0.095
R(F)^a, I>2σ(F_o)	0.058
R_w(F²)^b, I>2σ(F_o)	0.097
S	1.147
R_{int}	0.053
θ_{max} (°)	21.4
h	-20 → 20
k	-22 → 23
l	-10 → 10
Parameters	403
Measured reflections	36679
Independent reflections	5328
Reflections with I > 2.0 σ (I)	3371
Δρ_{min}	-0.25 e Å ⁻¹
Δρ_{max}	0.24 e Å ⁻¹

Quantités de précurseurs, chromophores, eau, acide chlorhydrique pour un volume de solution de 60 mL :

Calcul de la masse de chromophore à introduire (matrice TMOS + MTMOS) :

[Si] : Concentration molaire en alcoxyde de silicium

$$[\text{Chromophore}] = d * [\text{Si}] \quad \leftrightarrow \quad m_{\text{chromophore}} = d * M_{\text{chromophore}} * n_{\text{Si}}$$

$$\text{Or } n_{\text{Si}} = n_{\text{TMOS}} + n_{\text{MTMOS}} \text{ et } n_{\text{TMOS}} = n_{\text{MTMOS}} \text{ d'où } n_{\text{Si}} = 2 * n_{\text{TMOS}}$$

D'où
$$m_{\text{chromophore}} = 2 * d * M_{\text{chromophore}} * n_{\text{TMOS}} = 2 * d * \frac{V_{\text{TMOS}} * \rho_{\text{TMOS}}}{M_{\text{TMOS}}} * M_{\text{chromophore}}$$

Calcul du volume de MTMOS :

$$n_{\text{TMOS}} = n_{\text{MTMOS}} \quad \leftrightarrow \quad V_{\text{MTMOS}} = \frac{V_{\text{TMOS}} * \rho_{\text{TMOS}}}{M_{\text{TMOS}}} * \frac{M_{\text{MTMOS}}}{\rho_{\text{MTMOS}}}$$

Calcul du volume de solvant (THF) :

$$[\text{THF}] = s * [\text{Si}] \quad \leftrightarrow \quad V_{\text{THF}} = 2 * s * \frac{V_{\text{TMOS}} * \rho_{\text{TMOS}}}{M_{\text{TMOS}}} * \frac{M_{\text{THF}}}{\rho_{\text{THF}}}$$

Calcul du volume d'eau:

[-OR]: Concentration molaire en fonctions alcoxyde dans la solution de départ

$$[\text{H}_2\text{O}] = h * [-\text{OR}] \quad \leftrightarrow \quad n_{\text{H}_2\text{O}} = h * n_{-\text{OR}} \quad \text{or} \quad n_{-\text{OR}} = 4 * n_{\text{TMOS}} + 3 * n_{\text{MTMOS}} = 7 * n_{\text{TMOS}}$$

Et donc
$$V_{\text{H}_2\text{O}} = 7 * h * \frac{V_{\text{TMOS}} * \rho_{\text{TMOS}}}{M_{\text{TMOS}}} * \frac{M_{\text{H}_2\text{O}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}}$$

Les quantités de chromophores, précurseurs, solvant et eau ont été calculés pour un volume total de 60 mL. Le taux de molécules organiques est fixé entre 0.02 et 0.1 en fonction de la solubilité du chromophore étudié. Le taux de solvant *s* est fixé entre 20 et 30 pour la méthode de *spin coating* et de 500 à 750 pour le *spray drying*. Le taux d'hydrolyse est fixé à 1. On fixe

le volume du TMOS à 0.222 mL (réactif limitant des réactions d'hydrolyse et de condensation du réseau silicaté).

- Solutions sol-gel pour le *spin coating*, volume total de 20 mL : **TMOS + MTMOS**

	Comp. 16	MTMOS	TMOS	THF	HCl 1 M
M (g/mol)	340,1	136,22	152,22	72,11	18
ρ (g/cm³)		0,955	1,032	0,88	1
volume fixé (cm³)		0,222			
nombre de moles		1	1		
h					1
s				30	
d	0,05				
volume intermédiaire (cm³)		0,222	0,230	7,652	0,196
On veut V_{total} = 20 cm³	20	20	20	20	20
Volumes à prélever (mL)		0,534	0,553	18,439	0,472
masse à peser (mg)	127,552				

- Solutions sol-gel pour le *spray drying*, volume total de 60 mL: **TMOS + C₃O₄**

	Comp. 16	BTP	TMOS	THF	HCl 1 M
M (g/mol)	340,1	474	152,22	72,11	18
ρ (g/cm³)		1,06	1,032	0,88	1
volume fixé (cm³)		0,222			
Nombre de moles		1	8		
h					1
s				500	
d	0,04				
volume intermédiaire (cm³)		0,222	0,586	203,406	0,340
On veut V_{total} = 60 cm³	60	60	60	60	60
Volumes à prélever (mL)		0,065	0,172	59,663	0,010
Masse à peser (mg)	19,810				

Protocole du *spin coating*

La méthode du *spin coating* consiste à centrifuger une solution déposée en excès sur un substrat (lame de verre). Pour cela les lames de verre sont préalablement nettoyées afin d'obtenir une surface parfaitement propre, ce qui permet d'éviter la formation de défauts provoquées par des poussières (dégraissage dans une solution commerciale basique de TFD4 concentrée à 5% volumique dans l'eau et sous ultrasons pendant 15 minutes, puis rinçage à l'eau désionisée et à l'éthanol, séchage sous jet d'azote gazeux). De plus, elles subissent un traitement de surface par plasma froid à pression atmosphérique, grâce à l'appareillage 3D-BOX (puissance 1000 W, N₂ : 50 L/min, O₂ :100 mL/min, pendant 30 s). Une fois les lames parfaitement propres et sèches, elles sont posées au centre de la platine de rotation et sont fixées au moyen de cales latérales.

Les paramètres pour le *spin coating* ont été fixés et sont rappelés ci-après :

- Vitesse de rotation $v = 4000$ tr/min
- Accélération $a = 3000$ tr/min/s
- Durée de la rotation $t = 10$ s.

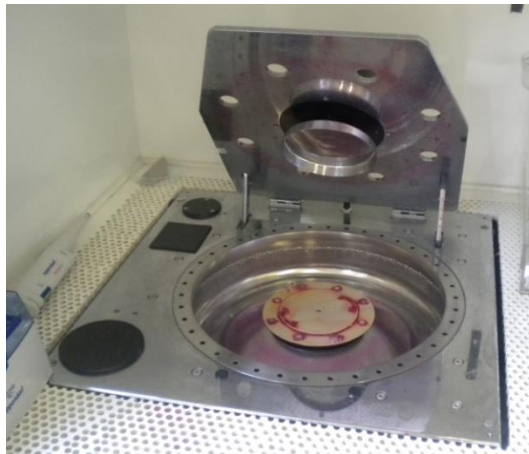


Figure 1: Photographie du *spin coating* utilisée à l'Institut Néel

On dépose la solution, à l'aide d'une micropipette un volume de 300 μ L au centre de la lame de verre. Puis on enclenche rapidement le *spin coating*. Une fois les couches minces obtenues, on les met à l'étuve pendant trente minutes, à 100 °C. Le recuit final permet d'évaporer le solvant résiduel et donc de stabiliser la couche mince sol-gel.

Protocole du spray drying

Cette méthode consiste à synthétiser des nanoparticules cœur-coquilles par *spray drying* (séchage par spray). Le four tubulaire et le filtre électrostatique sont préalablement mis en température (environ une heure avant la synthèse des nanoparticules afin que les températures du four et du filtre se stabilisent). Puis, on introduit dans une bouteille, la quantité de chromophore souhaitée et la solution de 60 mL (on mélange jusqu'à parfaite dilution des composés organiques). Ensuite, on ferme hermétiquement le flacon et on enclenche les débits d'azote et d'air comprimé afin que le sol soit fragmenté et soit séché dans le four tubulaire. Pour être le plus rigoureux possible les deux débits sont contrôlés par un débitmètre. Finalement, lorsque la synthèse est terminée, le four et le filtre électrostatique sont refroidies jusqu'à température ambiante. On récolte alors, à l'aide d'un pinceau parfaitement propre, les nanoparticules. Elles sont ensuite mises dans de l'eau distillée afin d'être ensuite stabilisée par un protocole de dissolution contrôlée (description ci-après).

Paramètres	Valeurs
Débit d'azote	1 L/min
Débit air comprimé	0,025 L/min
Température du four	150 – 175 °C
Température du filtre	120 °C

Protocole de dissolution contrôlée

Une fois les nanoparticules recueillies dans de l'eau distillée, elles s'agrègent. Un protocole de dissolution contrôlée a donc été mis au point afin de stabiliser ces solutions. Un traitement basique en solution est appliqué (solution de soude à 0,01 M : pour $s = 500$, pendant 48 h à l'abri de la lumière et pour $s = 750$, pendant 6 h). Grâce à ce traitement, les coquilles silicatées sont légèrement dissoutes et séparées les unes des autres. Ensuite, lorsque la dissolution est suffisante, on ajoute une solution d'acide chlorhydrique 0,1 M afin de la neutraliser. Puis, les solutions sont centrifugées pour éliminer les plus grosses particules (8000 tr/min pendant 5 minutes). Ensuite, le surnageant est filtré plusieurs fois, avec des filtres à porosité variable de 1 μm à 100 nm. Finalement, on recueille les nanoparticules de tailles inférieures à 100 nm et qui sont stabilisées colloïdalement dans l'eau.

Microscopie électronique à balayage (MEB, Carl Zeiss Ultra Plus)

Principe :

Il permet d'analyser la surface d'un échantillon afin d'obtenir des informations topographiques et/ou chimique. Un faisceau électronique très fin (sonde), pratiquement monocinétique, balaie la surface d'un échantillon, point par point, où des interactions électrons-matières sont détectées par un capteur qui contrôle la brillance de l'oscilloscope cathodique. Le signal réfléchi, résultant de l'interaction faisceau-matière, est détecté et convertis en un signal électrique, puis, transmis à un écran dont le balayage est synchronisé avec celui du faisceau incident. Certaines de ces interactions entre les électrons incidents (primaires) et la matière génèrent des signaux selon les couches excitées, et dont certains sont utilisés pour construire des images (par exemple électrons secondaires) et d'autres pour la microanalyse chimique (par exemple les électrons rétrodiffusés).

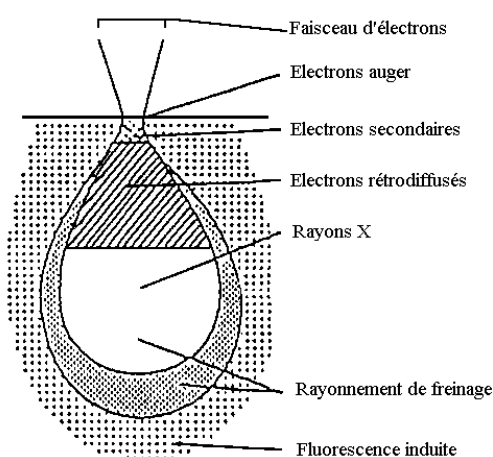


Figure 1: Schéma de la poire d'excitation induit par l'impact d'un faisceau d'électrons primaires sur la surface de l'échantillon

Le MEB utilisé est un Carl Zeiss Ultra Plus à canon à émission de champ : 1 nm à 2 kV sous 10^{-6} mbar environ. Il est équipé d'un EDS Bruker SDD. On place un peu de poudre de nanoparticules, grâce à un pinceau, sur un wafer de silicium (bon contraste avec les nanoparticules) et on collecte les images des nanoparticules cœur-coquille.

Microscopie optique confocale (Carl Zeiss LSM 510)

Principe :

Un rayon laser excitateur, dans le domaine du visible, pénètre dans l'échantillon. La fluorescence de l'échantillon (présence de chromophores sur l'échantillon) est alors générée sur la totalité du trajet du faisceau. La lumière émise par un fluorophore située en dessous ou au-dessus de ce point est floue et perturbe l'analyse des échantillons. C'est pourquoi, un diaphragme est placé devant le détecteur dans le plan focal image de l'objectif du microscope et permet de ne détecter que la lumière émise par ce point. La fluorescence émise est par conséquent mesurée point par point et le faisceau laser incident se déplace sur l'échantillon balayant une surface allant jusqu'à $200\ \mu\text{m} * 200\ \mu\text{m}$. La résolution maximale du microscope optique confocal utilisé est de l'ordre de $200\ \text{nm}$ (environ la moitié de la longueur d'onde utilisée). On travaille à des longueurs d'onde d'excitation compris entre $460\ \text{nm}$ et $600\ \text{nm}$ (balayage). On place un filtre HFT 458/514, c'est-à-dire qu'il supprime toutes les longueurs d'ondes en dessous de $458\ \text{nm}$ et la bande à $514\ \text{nm}$.

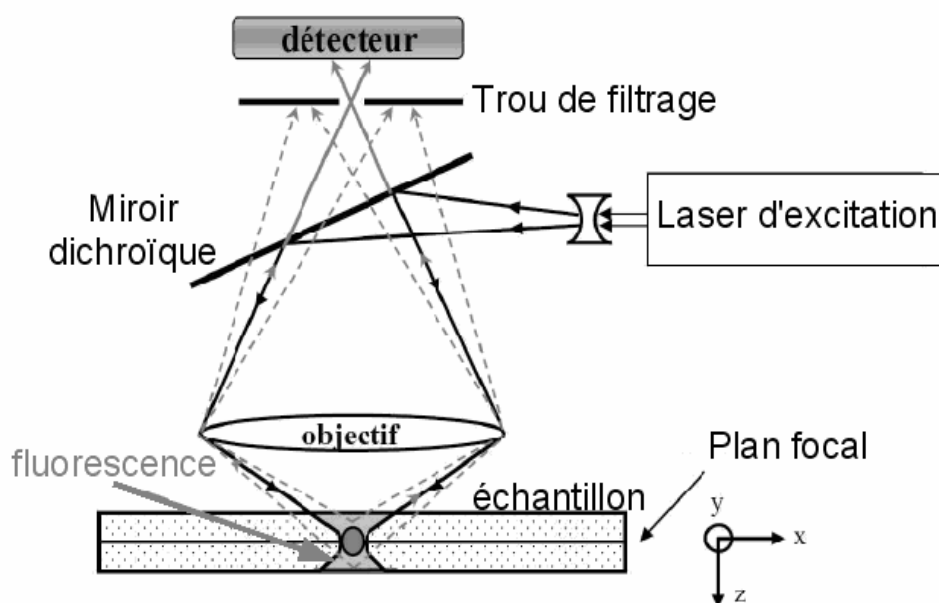


Figure 2: Schéma du microscope optique confocal

Résumé:

Une ingénierie moléculaire a été menée. On a ainsi obtenu des fluorophores émettant, à l'état solide, dans le rouge et le proche infrarouge avec des rendements quantiques performants. Nous nous sommes particulièrement intéressés à des petites molécules de type push-pull, facile à synthétiser, permettant ainsi d'obtenir un grand nombre de molécules indispensable pour cette ingénierie moléculaire. Il a notamment été constaté que certaines règles établies en solution sont également valables à l'état solide. Ensuite, les chromophores répondant au cahier des charges fixé par la méthode de séchage par spray ont été sélectionnés et encapsulés, d'une part, en couche mince sol-gel afin d'observer leur comportement en milieu confinée. D'autre part, pour ceux ayant un bon comportement en matrice sol-gel (contrôlé par spectroscopie de fluorescence à un photon), ils ont été insérés dans une coquille du même type. Les conditions d'élaboration pour chaque chromophore ont été optimisées en se basant, essentiellement, sur la technique de microscopie électronique à balayage. Nous avons, en particulier, pu démontrer que l'étape d'encapsulation en couche mince sol-gel, était une très bonne technique, rapide et facile à mettre en œuvre, pour s'assurer que les composés ne souffraient ni de polymorphisme ni de protonation dans une matrice sol-gel avant la synthèse de nanoparticules cœur-coquille. Enfin, une étape de fonctionnalisation et d'ajout d'agent de ciblage permettra d'effectuer des premiers tests *in vivo* des nanoparticules comme agents imageant.

Mots clés :

Ingénierie moléculaire, molécule push-pull, fluorescence à l'état solide, méthode de séchage par spray, sol-gel, agents imageant

Summary:

A molecular engineering was led. We obtained fluorophores emitting, in the solid state, in the red and the near infrared with efficient quantum yields. We were particularly interested in small push-pull molecules, easy to synthesize, to obtain a large number of molecules essential for this molecular engineering. Especially, it was noticed that certain rules established in solution are also valid in the solid state. Then, chromophores which correspond to the specifications fixed by the spray drying method was selected and encapsulated, on one hand, in a sol-gel thin-layer to observe their behavior in an environment confined. On the other hand, for those having a good behavior in the sol-gel matrix (controlled by one photon fluorescence spectroscopy), they were confined in a sol-gel shell of the same type. Elaboration's conditions for every compound were optimized, essentially, with the technique of scanning electron microscopy. We demonstrated that the encapsulation step in a sol-gel thin-layer was a very good technique, fast and easy to operate, to make sure that compounds had neither polymorphism nor protonation in a sol-gel matrix before the synthesis of the nanoparticles. Finally, a functionalization step and addition of new targeting functions will allow making first *in vivo* tests of nanoparticles as biological labels.

Keywords:

Molecular engineering, push-pull molecule, fluorescence in the solid state, spray drying method, sol-gel, biological labels