



HAL
open science

Nouvelles sondes moléculaires photo-activées pour la délivrance de principes actifs : de la conception aux applications biologiques

Maxime Klausen

► **To cite this version:**

Maxime Klausen. Nouvelles sondes moléculaires photo-activées pour la délivrance de principes actifs : de la conception aux applications biologiques. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2018. Français. NNT : 2018BORD0077 . tel-02826802

HAL Id: tel-02826802

<https://theses.hal.science/tel-02826802>

Submitted on 7 Jun 2020

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES
SPÉCIALITÉ : CHIMIE ORGANIQUE

Par Maxime KLAUSEN

**NOUVELLES SONDES MOLÉCULAIRES PHOTO-ACTIVÉES
POUR LA DÉLIVRANCE DE PRINCIPES ACTIFS**

De la conception aux applications biologiques

Sous la direction de : Mireille BLANCHARD-DESCE

Soutenue le 5 Juin 2018

Membres du jury :

M. TOULLEC, Patrick
Mme ACHER, Francine
M. LEMERCIER, Gilles
M. AITKEN, David
Mme BLANCHARD-DESCE Mireille

Prof., Univ. Bordeaux
DR CNRS, Univ. Paris Descartes
Prof., Univ. Reims
Prof., Univ. Paris Sud
DR CNRS, Univ. Bordeaux

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Directrice de thèse

Nouvelles sondes moléculaires photo-activées pour la délivrance de principes actifs

La photolibération d'agents biologiques cagés par des groupements protecteurs photolabiles (PPGs) a récemment attiré un intérêt croissant en thérapie et physiologie. La combinaison de cet outil avec les avantages de l'absorption à deux photons (2PA) dans le proche IR est cependant un défi. Dans ces travaux, nous présentons deux voies différentes vers de nouveaux décageurs efficaces en 2PA.

Nous élaborons d'abord une série de systèmes tandem basés sur le FRET, combinant des antennes quadrupolaires 2PA avec des modules PPGs appropriés. La modification des blocs constitutifs de ces composés nous a permis de moduler les paramètres clés tels que les propriétés photophysiques, l'efficacité de FRET et la cinétique de photolibération. Les systèmes synergiques à base de coumarines, dans lesquels la paire donneur-accepteur est la plus adaptée, ont finalement conduit à des valeurs de δ_0 record pour la libération d'acides carboxyliques.

La problématique critique de solubilité en milieu biologique a ensuite été étudiée en incorporant des motifs hydrosolubilisants dans nos systèmes coopératifs. De nouveaux outils hydrophiles et amphiphiles, adaptés respectivement à la délivrance de neurotransmetteurs et la thérapie anticancéreuse, ont ainsi été développés à partir de nos systèmes tandem.

Enfin, pour mieux comprendre les relations structure-propriétés dans les PPGs de la famille des coumarines, nous avons synthétisé une série de cages DEAC π -étendues portant différents groupements électroattracteurs, et évalué leur efficacité pour la libération de glycine. Cette étude nous a permis de faire un pas vers la rationalisation du rendement quantique de photolibération chez les PPGs de ce type.

Mots clés : Photolibération, Absorption à deux photons, Photochimie, Délivrance de médicaments, Nanosciences, Coumarine.

Design of new molecular tools for light-induced delivery of bioactive compounds

Photolabile protecting groups (PPGs) have attracted growing interests in many fields of chemistry and biology. Light-induced release of biological agents, commonly known as “uncaging”, has thus emerged as an interesting process for drug delivery or investigation of biological phenomena. Combining this tool with the intrinsic advantages of two-photon (2P) excitation (2PE) in the NIR is however a challenge. In this work, we use different engineering routes towards new efficient 2P uncagers.

First we demonstrate that combining quadrupolar 2P light harvesting antennas with suitable uncaging subunits leads to efficient release of active molecules upon 2PE. In these FRET-based systems, gradual adjustments of the constitutive building blocks allowed us to tune key parameters such as photophysical properties, FRET efficiency, and kinetics of photorelease. In particular, coumarin-based tandem systems, in which absorption and emission of the donor-acceptor pair best match, eventually led to record δ_0 values for uncaging of carboxylic acids.

We then assessed the critical water-solubility issue by introducing hydrophilic units onto our cooperative PPGs. New hydrophilic and amphiphilic systems, suited for controlled release of neurotransmitters or anti-cancer agents, were designed from our multi-chromophoric systems.

Finally, in our effort towards better understanding of the structure-properties relationships in coumarin PPGs, we synthesized a small library of π -extended DEAC cages bearing strong electron-withdrawing moieties, and assessed their efficacy for 2P uncaging of glycine. With this study, a step was made towards rationalization of the uncaging quantum yield in coumarin cages.

Keywords: Uncaging, Two-photon, Photochemistry, Drug-delivery, Nanoscience, Coumarin.

UMR 5255

Institut des Sciences Moléculaires, équipe IPM,
351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France

« Rien ne s'est fait de grand qui ne soit une espérance exagérée »

Jules Verne

Remerciements

Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein de l'Institut des Sciences Moléculaires, sur le campus sciences et technologies de l'Université de Bordeaux. Je souhaiterais dans un premier temps remercier ma directrice de thèse, Dr. Mireille Blanchard-Desce, pour m'avoir accueilli au sein de l'équipe en me confiant ce sujet qui me tenait à cœur ; mais aussi de m'avoir offert une extraordinaire autonomie dans mes recherches, et différentes responsabilités de laboratoire qui m'ont fait grandir tant humainement que professionnellement.

Je voudrais également remercier les membres de mon jury, Dr. Francine Acher et Pr. Gilles Lemerrier qui ont accepté d'évaluer mon manuscrit, ainsi que Pr. David Aitken et Pr. Patrick Toullec qui ont accepté d'évaluer mon travail de recherche. Je me permets d'adresser une petite pensée particulière à Patrick, puisque nos chemins n'ont cessé de se croiser de Paris à Bordeaux. C'est un privilège et un plaisir qu'ils se croisent à nouveau en ce jour si spécial.

Ces travaux touchant à leur fin, il est temps de jeter un coup d'œil dans le rétroviseur, et d'exprimer ma gratitude aux personnes qui m'ont tant apporté au cours de ces années semées d'embuches et de belles aventures. Je tiens en premier lieu à remercier chaleureusement tous les membres passés et présents de l'équipe IPM et de (feu) l'équipe Phoenix.

Je souhaiterais d'abord remercier les personnes qui m'ont encadré au cours de ces années, le Dr. Mireille Blanchard-Desce et le Dr. Isabelle Gosse, qui n'ont pas hésité à me prodiguer leurs conseils lorsque je les sollicitais. Je souhaite aussi remercier le Pr. Jean-Baptiste Verlhac et le Dr. Michel Vaultier, deux chimistes d'exception dans leur style chacun si singulier, pour leur immense savoir, pour nos discussions constructives comme improbables (pas toujours dans cet ordre), le tout souvent partagés autour d'un bon verre de vin.

J'adresse des remerciements tout particuliers au Dr. Émilie Genin, qui m'a recruté dans l'équipe jadis, quand je n'étais encore qu'un bébé chimiste, et qui m'a fait basculer du côté organique de la force. Il est clair que je n'en serais pas où j'en suis aujourd'hui sans toi, sans ton immense gentillesse, et ton talent d'enseignante.

Et puisque l'on parle de ces temps reculés, je remercie aussi le Dr. Sébastien Picard, mon tout premier tuteur, qui m'a montré les bons gestes et inculqué l'essentiel de mes techniques de paillasse. Merci pour nos discussions autour de tant d'énigmes de synthèse. Je te souhaite le meilleur pour ta nouvelle vie, « *et bon week-end* » comme dirait l'autre.

Je remercie très chaleureusement Guillaume, pour son aide ô combien précieuse dans la toute dernière ligne droite, mais aussi et surtout pour nos moments Bialettiⁱⁱⁱ 🙌, nos séquences jeux de mots où quelqu'un finit toujours par être perdu (Coraline ?), nos dialogues de sourds entre la salle spectro et le placard la salle noire... « *qu'est-ce qu'y dit l'monsieur ?* »

Je souhaite adresser une pensée à tous les étudiants qui se sont succédés dans le groupe depuis ces jours, de Monsieur Ludo et sa raclette à notre indéboulonnable Jonathan, en passant par Talia, Imanol, Bastien, Jeanne, Tim ou Jessica (reviens quand tu veux !).

Partout où l'homme apporte son travail, il laisse aussi quelque chose de son cœur ; et dans ce laboratoire où j'ai tant mis mon cœur à l'ouvrage, il gardera aussi de nombreuses personnes auprès de lui. Aussi je souhaite remercier ces belles rencontres faites sur le chemin. Grandissimo Paolo, merci mon ami pour ton support et tes high-fives, pour toutes ces aventures culinaires et bièrologues, pour ce voyage gastronomique congrès à Parme qui restera gravé dans mon estomac ma mémoire. Thanks to you, I didn't explode! Merci à mon compère de voyage lors de ce congrès, *mais bien sûr* mon cher Cristiano, pour ta sagesse, pour nos discussions sur la vie ou la chimie à la lueur d'une étoile ou d'une cigarette. Je te souhaite tout le bonheur du monde à toi et ta famille. Merci Edu « *iron balls* » « *breakman* » Cueto Diaz d'avoir partagé tant de... *sh**ty coffee* avec moi. Mais aussi pour les soirées (rares mais précieuses) au bowling ou au régent, pour notre escapade Montpelliéraine, et surtout pour avoir dit du mal de la chimie des coumarines avec moi quand j'en avais besoin. Merci Tio Nino pour ta perpétuelle bonne humeur, pour nos samedi marché, et au plaisir de nombreux *aperitivos* ensemble. Un immense merci à toi aussi Petra, qui auras accompagné cette aventure du tout début à la toute fin (et c'est pas fini !). De nos galères de labo en bières au bord des quais, à nous deux bien des épreuves se sont transformées en grands sourires. Je n'oublierai pas non plus Adina, sa ptite famille et son excellent barbecue, et my dear Judith, nos conversations en franglallemand (*oh die Kuh !*) et tous les bons moments partagés sur ces quelques mois.

Je remercierai aussi mes ex-collègues (mais toujours amis) de « l'autre côté de la rue », qui ont partagé tant de péripéties avec nous, pour le pire et pour le meilleur. Merci à petit J-B, mon collègue de galère jusque dans la toute dernière seconde, et pardon de t'avoir doublé de quelques jours dans la dernière ligne droite ! Merci à Thibault, Virginie, Marine pour ces bons moments passés à table autour de sushis et autres tartiflettes. Mélo, meine liebe Freundin, merci pour ces improbables aventures linguistiques et musicales, et pour ces petits moments qui

Capitaine Benjamin, et mon homonyme eurasien. Professeur Jean, Gélou depuis ton île lointaine (et pas que, lorsque tu débarques à l'improviste !), Séb, toi qui attends toujours que je monte mon équipe, Amélie toujours partante pour un bon resto, Manon et nos sessions Life is strange... Je te remercierai aussi Léa, ma loutre, pour avoir été ma lumière, et pour ces innombrables instants qui resteront quoiqu'il arrive gravés en moi.

Enfin je remercierai toute ma famille, et en particulier mes parents, ma seule constante depuis toujours. Merci de m'avoir supporté (dans tous les sens du terme) dans cette aventure, d'avoir toujours été là même quand les circonstances ne l'étaient pas, mais surtout d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Ce manuscrit vous est dédié.

Liste des abréviations

| | |
|----------|--|
| 1PA | Absorption à un photon |
| 2PA | Absorption à deux photons |
| 2PU | Photolibération à deux photons (<i>2-photon uncaging</i>) |
| A | Accepteur |
| Ac | Acétyle |
| AcOEt | Acétate d'éthyle |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| AMPc | Adénosine monophosphate cyclique |
| Asp | Aspartate |
| ATP | Adénosine 5'-triphosphate |
| Bhc | 6-bromo-7-hydroxycoumarin-4-ylméthyle |
| BIST | Bisstirylthiophène |
| BHQ | 8-bromo-7-hydroxyquinoléine |
| BHT | "Butylated hydroxytoluene" (2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-méthylphénol) |
| BNSF | (2,7-bis-{4-nitro-8-[3-(2-propyl)-styryl]})-9,9-bis-[1-(3,6-dioxaheptyl)]-fluorène |
| Boc | <i>tert</i> -butoxycarbonyl |
| BODIPY | Bore-dipyrrrométhène |
| Bu | Butyle |
| <i>c</i> | Célérité de la lumière dans le vide |
| C | Concentration |
| cat. | Quantité catalytique |
| Cbz | Carboxybenzyle |
| CCM | Chromatographie sur couche mince |
| CDNI | 4-carboxyméthoxy-5,7-dinitro-indolinyle |
| CLB | Chlorambucil |
| CNB | α -carboxy- <i>ortho</i> -nitrobenzyle |
| CPT | Camptothécine |
| CuAAC | <i>Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition</i> |
| D | Donneur |
| DCMAC | 7-Di(carboxylméthyl)aminocoumarin-4-ylméthyle |
| DEAC | 7-Diéthylaminocoumarin-4-ylméthyle |
| DEATC | 7-Diéthylaminothiocoumarin-4-ylméthyle |
| DIAD | Diisopropyl azodicarboxylate |
| DIBAL-H | Hydruure de diisobutylaluminium |
| DMAP | 4-(diméthylamino)pyridine |
| DMAQ | 5- <i>N,N</i> -diméthylaminoquinoléine |
| DMF | <i>N,N</i> -diméthylformamide |
| DMFDMA | Diméthyl acétal de <i>N,N</i> -diméthylformamide |
| DMNP | 2-nitro-4,5-diméthoxyphényle |
| DMNPB | 3-(4,5-diméthoxy-2-nitrophényl)-2-butyle |

| | |
|-----------------|--|
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| DO | Densité optique |
| Dopa | Dopamine |
| DOX | Doxorubicine |
| dppf | Diphénylphosphinoferrocène |
| DRX | Diffraction des rayons X |
| DTXL | Docétaxel |
| \vec{E} | Champ électromagnétique |
| EANBP | 2-(4'-{bis[2-(2-methoxyethoxy)ethyl]amino}-4-nitro-[1,1'-biphényl]-3-yl)propan-1-ol |
| EAC | Ethylaminocoumarine |
| EATC | Ethylaminothiocoumarine |
| EDC | <i>N</i> -(3-diméthylaminopropyl)- <i>N'</i> -éthylcarbodiimide |
| EDG | Groupe électrodonneur (<i>Electron donating group</i>) |
| eq. | Équivalent |
| EPR | <i>Enhanced permeability and retention</i> |
| ESPT | <i>Excited State Proton Transfer</i> (transfert de proton à l'état excité) |
| Et | Éthyle |
| ETO | Etoposide |
| EWG | Groupe électroattracteur (<i>Electron withdrawing group</i>) |
| FLSCN | Fluorescéine |
| Fmoc | Fluorénylméthoxycarbone |
| FRET | Förster Resonance Energy Transfer (transfert d'énergie de Förster par résonance) |
| GABA | Acide γ -aminobutyrique |
| GFP | <i>Green fluorescent protein</i> |
| Gib | Acide gibbérellique |
| Glu | L-glutamate |
| Gly | Glycine |
| GM | Göppert-Mayer |
| GMPc | Guanosine monophosphate cyclique |
| GSH | Génération de seconde harmonique |
| Hex | Hexyle |
| HOMO | <i>Highest occupied molecular orbital</i> (orbitale moléculaire occupée de plus haute énergie) |
| HPLC | <i>High pressure liquid chromatography</i> (chromatographie liquide à haute pression) |
| HQ | Hydroquinone |
| HRMS | <i>High-resolution mass spectrometry</i> (spectrométrie de masse de haute résolution) |
| Hz | Hertz |
| I_0 | Intensité incidente |
| IP ₃ | Inositol triphosphate |
| <i>iPr</i> | <i>isopropyle</i> |

| | |
|-----------------------|---|
| IR | Infrarouge |
| ISC | Croisement inter-systèmes (<i>intersystem crossing</i>) |
| ISRE | <i>Intermediate state resonance enhancement</i> |
| I_T | Intensité transmise |
| J | Constante de couplage (en RMN) |
| k | Constante de vitesse |
| LC-MS | <i>Liquid chromatography – mass spectrometer</i> (chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse) |
| LR | Réactif de Lawesson (<i>Lawesson's reagent</i>) |
| LUMO | <i>Lowest unoccupied molecular orbital</i> (orbitale moléculaire occupée de plus basse énergie) |
| M | Molaire (moles par litre) |
| m/z | Ratio masse sur charge |
| MALDI | Matrix-assisted laser desorption/ionization |
| MDNI | 4-Méthoxy-5,7-dinitroindolinyle |
| Me | Méthyle |
| MLCT | Metal-Ligand Charge Transfer |
| MMH-PSCl ₂ | Dichlorure de Monométhylhydrazinylphosphonothioyle |
| MNI | 4-Méthoxynitroindoline |
| Ms | Mésyle |
| MS | Spectrométrie de masse (<i>mass spectrometry</i>) |
| MTX | Méthotrexate |
| n | Indice de réfraction du milieu |
| NBS | <i>N</i> -bromosuccinimide |
| NBP | Nitrobiphényle |
| NDBF | Nitrodibenzofurane |
| NDPA | Nitrodiphénylacétylène |
| NI | Nitroindoline |
| Non | Nonyle |
| NPE | <i>ortho</i> -Nitrophényléthyle |
| NPPOC | (2-Nitrophényl)propoxycarbone |
| Nu | Nucléophile |
| NV | Nitrovératryle |
| <i>o</i> HC | <i>ortho</i> -Hydroxycinnamate |
| <i>o</i> NB | <i>ortho</i> -Nitrobenzyle |
| ONL | Optique non linéaire |
| <i>o</i> NV | <i>ortho</i> -Nitrovératryle |
| \vec{P} | Vecteur polarisation de la molécule à l'échelle macroscopique |
| PBS | Tampon phosphate salin (<i>phosphate-buffered saline</i>) |
| PDC | Pyrido-2,6-dicarboxamide |
| PDT | Thérapie photodynamique (<i>photodynamic therapy</i>) |
| PEG | Poly éthylène glycol |
| PENB | 3-(2-propyl-1-ol)-4'-tris-éthoxy(méthoxy)-4-nitrobiphényle |
| Ph | Phényle |

| | |
|--------------|---|
| pH | Potentiel hydrogène |
| <i>p</i> HP | <i>para</i> -hydroxyphénacyle |
| PIR | Proche infrarouge |
| pKa | Constante d'acidité |
| PMNB | 3-(2-Propyl)-4'-méthoxy-4-nitrobiphényle |
| PPG | Groupe protecteur photolabile (<i>photolabile protecting group</i>) |
| ppm | Parties par million |
| PTXL | Paclitaxel |
| quant. | Rendement quantitatif |
| QBS | Quinine Bisulfate |
| QDs | Quantum Dots |
| Q_u | Rendement quantique de photolyse comparative à un photon |
| RuBi | Ruthénium bipyridyle |
| R6G | Rhodamine 6G |
| <i>s</i> Bu | <i>sec</i> -butyle |
| S_N1 | Substitution nucléophile d'ordre 1 |
| S_N2 | Substitution nucléophile d'ordre 2 |
| <i>T</i> | Transmission |
| TBAF | Fluorure de tétra- <i>n</i> -butylammonium |
| TBDMS | <i>tert</i> -Butyldiméthylsilyle |
| <i>t</i> Bu | <i>tert</i> -Butyle |
| TEG | tri éthylène glycol |
| TFA | Acide trifluoroacétique |
| THF | Tétrahydrofurane |
| TiS | Titane-saphire |
| TMS | Triméthylsilyle |
| TMSA | Triméthylsilylacétylène |
| TPEF | <i>Two-photon excited fluorescence</i> |
| TRIS | tris(hydroxyméthyl)méthylamine |
| Ts | Tosyle |
| Ty | Tyramine |
| UV | Ultraviolet |
| UV/Vis | Spectroscopie ultraviolet-visible |
| vT | 2-vinylthiazole |
| vBO | 2-vinylbenzo[<i>d</i>]oxazole |
| vBT | 2-vinylbenzo[<i>d</i>]thiazole |
| vBTD | 4-vinylbenzo[<i>c</i>][1,2,5]thiadiazole |
| Z | Molécule biologique protégée par un groupe protecteur photolabile |
| δ_u | Section efficace de photolibération (photosensibilité) à deux photons |
| ϵ | Coefficient d'extinction molaire |
| ϵ_u | Efficacité de photolibération (photosensibilité) à un photon |
| ϵ_0 | Permittivité diélectrique du vide |
| λ | Longueur d'onde |

| | |
|------------|---|
| σ | Section efficace d'absorption à un photon |
| σ_2 | Section efficace d'absorption à deux photon |
| Φ_f | Rendement quantique de fluorescence |
| Φ_u | Rendement quantique de photolibération |

Table des matières

| | |
|---|-----|
| Remerciements | 1 |
| Liste des abréviations | 5 |
| Chapitre I..... | 17 |
| I. Principes fondamentaux de photophysique..... | 21 |
| I.1. Phénomène d'absorption monophotonique et spectroscopie UV-Vis | 22 |
| I.1.1. Transitions électroniques et approche quantique..... | 22 |
| I.1.2. Loi de Beer-Lambert et section efficace d'absorption | 27 |
| I.2. Optique non linéaire et excitation biphotonique..... | 31 |
| I.2.1. Fondements physiques et mathématiques..... | 33 |
| I.2.2. Ingénierie de chromophores 2PA et relations structure-propriétés | 39 |
| II. Processus de retour à l'état fondamental..... | 47 |
| II.1. Processus de désexcitation non radiative | 47 |
| II.2. Désexcitation radiative : fluorescence et phosphorescence | 49 |
| II.2.1. Rendement quantique et temps de vie de fluorescence | 51 |
| II.2.2. Effet d'environnement et solvatochromie | 54 |
| II.3. Quenching d'état excité et transfert d'énergie | 55 |
| II.3.1. Quenching et interactions à courte distance | 56 |
| II.3.2. Transfert d'énergie résonant à longue distance | 58 |
| II.4. Photochimie | 61 |
| III. Groupements Protecteurs Photolabiles..... | 64 |
| III.1. Les « décapeurs », de la déprotection chimique à la stimulation biologique | 64 |
| III.2. Décapeurs et excitation biphotonique : principes et enjeux..... | 68 |
| III.3. Structures, stratégies et état de l'art | 72 |
| III.3.1. Modifications structurelles et nouvelles générations de cages..... | 72 |
| III.3.2. Photosensibilisateurs et « effet d'antenne » | 98 |
| IV. Cadre des recherches et hypothèses de travail..... | 101 |
| Chapitre II. | 105 |
| I. Design et préparation des systèmes coopératifs..... | 107 |
| I.1. Approche rétrosynthétique..... | 108 |
| I.2. Synthèse de la plateforme thiophosphorylée | 109 |
| I.3. Synthèse des modules quadrupolaires greffables | 110 |
| I.4. Assemblage des modules : synthèse des dyades..... | 114 |

| | | |
|-------------------|--|-----|
| II. | Études photophysiques et photolyses | 117 |
| II.1. | Propriétés d'absorption et d'émission..... | 117 |
| II.2. | Absorption à deux photons | 120 |
| II.3. | Expériences de photolyse..... | 122 |
| II.3.1. | Photosensibilité à un photon..... | 125 |
| II.3.2. | Photosensibilité à deux photons | 127 |
| III. | Systèmes coopératifs assistés par interactions supramoléculaires | 128 |
| III.1. | Synthèse de la plateforme PDC | 129 |
| III.2. | Modification de la fonction de greffage de l'antenne | 130 |
| III.3. | Assemblage des modules par chimie click | 132 |
| IV. | Conclusions | 134 |
| Chapitre III..... | | 137 |
| I. | Préambule, design et analyses rétrosynthétiques | 139 |
| I.1. | Choix des cages..... | 139 |
| I.2. | Rétrosynthèse des modules ciblés..... | 141 |
| II. | Synthèse de dyades basées sur la DEAC450 | 143 |
| II.1. | Synthèse d'intermédiaires 3-halogénocoumarines | 143 |
| II.1.1. | Synthèse de l'intermédiaire 7-diéthylamino-4-hydroxyméthylcoumarine... 143 | |
| II.1.2. | Acétylation et protection de l'alcool | 145 |
| II.1.3. | Halogénéation de la position 3-..... | 146 |
| II.2. | Couplage de Heck | 148 |
| II.3. | Introduction de l'espaceur tyramine | 151 |
| II.3.1. | Formation de la liaison amide par couplage peptidique | 151 |
| II.3.2. | Synthèse d'un synthon acrylamide et voie de synthèse convergente | 152 |
| II.4. | Tentative d'assemblage des modules..... | 154 |
| III. | Synthèse de dyades basées sur la DEAC..... | 158 |
| III.1. | Design et stratégie de synthèse | 158 |
| III.2. | Synthèse des modules | 158 |
| III.3. | Tentative d'assemblage des modules..... | 161 |
| IV. | Modification de la fonction de greffage et structures synergiques alternatives | 163 |
| IV.1. | DEAC450 greffable par une fonction azoture | 163 |
| IV.2. | DEAC450 et quadrupôles greffables par une fonction amine | 165 |
| IV.3. | DEAC450 greffable par fonction aldéhyde et triades coopératives..... | 167 |
| IV.3.1. | Synthèse d'un module DEAC450 greffable par une fonction aldéhyde | 168 |

| | |
|--|-----|
| IV.3.2. Assemblage des modules..... | 169 |
| V. Études photophysiques et photolyses des triades coopératives..... | 170 |
| V.1. Propriétés d'absorption et d'émission..... | 171 |
| V.1.1. Effets coopératifs sur l'absorption à un photon..... | 171 |
| V.1.2. Extinction de fluorescence et transfert d'énergie | 172 |
| V.2. Propriétés de photolibération par excitation mono- et biphotonique..... | 175 |
| VI. Conclusions | 178 |
| Chapitre IV..... | 181 |
| I. Design d'architectures coopératives à forte affinité pour l'eau | 183 |
| I.1. Stratégies générales d'élaboration d'outils moléculaires hydrophiles..... | 183 |
| I.1.1. Ajout de motifs hydrophiles par stratégie de synthèse..... | 184 |
| I.1.2. Élaboration de systèmes auto-assemblés et nanoparticulaires | 185 |
| I.2. Structures ciblées et approches rétrosynthétiques..... | 187 |
| I.2.1. Élaboration de triades pour les neurosciences | 188 |
| I.2.1. Élaboration de tétrades amphiphiles pour applications thérapeutiques..... | 189 |
| II. Synthèse d'une triade pour la libération de GABA..... | 191 |
| II.1. Triade lipophile..... | 191 |
| II.2. Synthèse d'une version hydrophile | 193 |
| II.2.1. Synthèse de l'antenne quadrupolaire à caractère hydrophile | 194 |
| II.2.2. Assemblage des modules..... | 195 |
| II.3. Tests de solubilité et propriétés optiques | 196 |
| III. Synthèse de tétrades pour la libération d'agents anticancéreux | 200 |
| III.1. Synthèse d'un module décageur diphenylacétylène greffable..... | 201 |
| III.1.1. Préparation du synthon aromatique attracteur | 201 |
| III.1.2. Préparation du synthon aromatique donneur avec espaceur greffable | 203 |
| III.1.3. Assemblage du module décageur par couplages de Sonogashira..... | 204 |
| III.1.4. Protection des agents anticancéreux CLB et CPT | 205 |
| III.1.5. Synthèse d'une référence PMNB pour la photolyse..... | 206 |
| III.2. Synthèse de l'antenne quadrupolaire | 207 |
| III.3. Assemblage des modules | 209 |
| III.4. Caractérisation photophysique..... | 211 |
| III.4.1. Propriétés d'optique linéaire et solvatochromie | 212 |
| III.4.2. Recouvrement spectral et transfert d'énergie | 213 |
| III.4.3. Propriétés d'optique non-linéaire | 214 |

| | |
|--|-----|
| IV. Conclusions | 215 |
| Chapitre V. | 219 |
| I. Optimisation de la photosensibilité des cages de la famille des coumarines : hypothèses et cibles | 221 |
| II. Synthèse des nouvelles coumarines π -étendues ciblées | 222 |
| II.1. Effet du transfert de charge : synthèse de dipôles vinyliques | 223 |
| II.1.1. Préparation des synthons vinyl-accepteurs | 223 |
| II.1.2. Couplage de Heck et synthèse des décageurs correspondants | 225 |
| II.2. Effet de la conjugaison : synthèse des dipôles acétylénique et sans pont π -intermédiaire correspondants | 227 |
| II.2.1. Synthèse de dipôles par réaction de Sonogashira | 227 |
| II.2.2. Suppression du pont π intermédiaire | 229 |
| II.3. Effet de la symétrie : synthèse de quadrupôles à base de coumarines | 231 |
| II.4. Effet de la thionation : synthèse de thiocoumarines étendues | 233 |
| III. Études photophysiques et photochimiques | 234 |
| III.1. Caractérisation photophysique | 235 |
| III.1.1. Propriétés d'optique linéaire | 235 |
| III.1.2. Propriétés d'optique non linéaire | 236 |
| III.2. Expériences de cinétiques comparatives | 238 |
| IV. Conclusions | 241 |
| Conclusions générales | 243 |
| Bibliographie | 245 |
| Annexes | 255 |
| I. Table des composés | 255 |
| II. Materials and methods | 261 |
| II.1. Photophysical characterization | 261 |
| II.2. 2PA cross-section measurements | 261 |
| II.3. One- and two-photon photolysis experiments | 263 |
| II.4. Synthesis and characterization | 265 |
| III. Experimental procedures | 266 |
| III.1. General procedures | 266 |
| III.2. Chapter II: compounds and procedures | 268 |
| III.3. Chapter III: compounds and procedures | 283 |
| III.4. Chapter IV: compounds and procedures | 305 |

| | |
|--|-----|
| III.5. Chapter V: compounds and procedures | 324 |
| IV. Publications | 335 |

Chapitre I.

Introduction et état de l'art

La lumière est sans doute la source d'énergie à la fois la plus omniprésente et la plus douce qui existe. Lorsque les photons entrent en interaction avec la matière, les électrons sont promus à des niveaux énergétiques supérieurs appelés états excités, d'où peut avoir lieu tout un éventail de phénomènes. Au niveau moléculaire, on appelle ces composés capables d'absorber les rayonnements lumineux des chromophores.

Si les molécules répondant à la lumière ont attiré les scientifiques depuis toujours, c'est que la nature a elle-même créé de formidables systèmes photoactivés. La matière organique dont est fait ce papier a été créée grâce au processus de photosynthèse. Les pigments contenus dans l'encre absorbent la lumière pour permettre de distinguer le texte. Finalement, la lumière réfléchiée par ces pages provoque dans la rétine du lecteur une réaction de photoisomérisation responsable du phénomène de vision. Au sein même des éléments de base de la vie, les bases azotées de l'ADN ou les acides aminés aromatiques contiennent des chromophores qui absorbent les rayonnements lumineux. Parfois, ces briques se combinent de façon à donner naissance à des architectures macromoléculaires complexes, telles que les protéines luminescentes responsables de la fluorescence naturellement observée chez certaines espèces de méduses^[1] ou de grenouilles.^[2] Pour le chimiste, cette complexité représente parfois un obstacle ; parfois une inépuisable source d'inspiration et d'innovation. Ainsi, depuis les travaux précurseurs de G. Ciamician sur l'utilisation de lumière comme stimulus énergétique à l'aube du XX^{ème} siècle, un immense panel d'applications vu le jour. L'énergie photovoltaïque, la détection de polluants, ou bien les agents fluorescents de diagnostic et de thérapie sont autant de technologies issues de l'absorption des photons et des phénomènes qui en découlent.

La lumière étant un stimulus particulièrement doux, notamment en comparaison avec l'addition de réactifs chimiques, elle a naturellement inspiré les chimistes à l'interface avec la biologie. Les dernières décennies ont ainsi vu se multiplier les travaux sur des sondes chromophoriques à visée biologique, permettant de recueillir de précieuses informations sur les tissus (imagerie), de contrôler les signaux physiologiques (études neurologiques), ou de délivrer des principes actifs (thérapie). L'engouement de la recherche sur ces chromophores a ainsi donné lieu à l'attribution de plusieurs prix Nobel, notamment à O. Shimomura, M. Chalfie et R. Y. Tsien en 2008 pour la découverte de la « *green fluorescent protein* » (GFP) et son utilisation pour l'observation de phénomènes biologiques, puis à E. Betzig, S. W. Hell et W. E. Moerner pour leurs travaux sur la microscopie de fluorescence à très haute résolution en 2014.

Parmi ces outils répondant à un signal lumineux, les groupements protecteurs photolabiles (PPGs), aussi appelés cages ou décageurs, détiennent un potentiel intéressant pour la délivrance contrôlée de molécules biologiques. En effet, ces molécules sont composées d'un chromophore qui, en absorbant la lumière, entraîne une cascade photochimique aboutissant au clivage d'une liaison covalente. La molécule dite « cagée » par cette liaison est par conséquent libérée et peut à nouveau exercer sa fonction, comme après une réaction classique de déprotection en chimie de synthèse. Naturellement, cette stratégie de « protection-déprotection », adaptée pour le masquage de fonctions non plus chimiques mais biologiques dans des molécules bioactives, ouvre la possibilité de déclencher une réponse physiologique dans les tissus par l'utilisation de lumière.

Les critères d'utilisation de ces cages en milieu biologique, et notamment la nécessité d'une résolution spatiale accrue et la toxicité des rayonnements UV, ont progressivement conduit les groupes de recherche à se tourner vers une technique alternative prometteuse : l'excitation à deux photons. Ce procédé permet en effet d'atteindre l'état excité par absorption simultanée de deux photons d'énergie réduite de moitié. L'irradiation a alors généralement lieu avec un rayonnement rouge ou proche infra-rouge (PIR), dont la longueur d'onde pénètre mieux dans les tissus et diminue le risque de photodommages. Cependant, la capacité d'une molécule à absorber deux photons est dictée par des règles différentes de la traditionnelle irradiation monophotonique, et dans le cas des cages décrites dans la littérature, l'efficacité de photolibération par excitation à deux photons reste encore aujourd'hui un facteur limitant.

La problématique de ces travaux de thèse s'inscrit dans le cadre du développement de nouvelles cages présentant une sensibilité accrue à l'excitation biphotonique. Dans cette optique, et afin de définir les termes et les stratégies abordés dans ce manuscrit, ce premier chapitre comprendra d'abord une introduction générale sur le phénomène d'absorption de la lumière, puis sur le phénomène non-linéaire d'absorption à deux photons. Dans un second temps, l'état de l'art passé et actuel sur les groupements protecteurs photolabiles et leurs applications en irradiation mono- et biphotonique sera présenté. Cette dernière partie permettra également d'appréhender les différentes stratégies d'ingénierie moléculaires mises en application dans les travaux présentés par la suite.

I. Principes fondamentaux de photophysique

Le rayonnement lumineux est une onde électromagnétique régie par les équations de Maxwell. Lorsque cette onde entre en interaction avec la matière, le champ électrique \vec{E} qui lui est associé est responsable d'un déplacement des charges au sein du matériau, et de la création de dipôles. Le domaine de l'optique linéaire traite du cas où le champ de polarisation \vec{P} macroscopique résultant de cette interaction est directement relié au rayon incident par la relation linéaire :

$$\vec{P} = \varepsilon_0 \chi \vec{E} \quad (\text{Eq. I.1})$$

où ε_0 est la constante de permittivité diélectrique du vide, et χ est un tenseur correspondant à la susceptibilité électrique du matériau.

Dans ce cadre, le terme de « chromophore » désigne une molécule (ou partie de molécule) capable d'absorber les photons d'un rayonnement lumineux incident de façon à engendrer une transition électronique entre son état fondamental de plus basse énergie et un état excité, c'est-à-dire une orbitale moléculaire vacante d'énergie supérieure. Les différentes transitions énergétiques entre niveaux électroniques issues de l'absorption d'un photon sont illustrées sur le diagramme de Jablonski-Perrin ci-après (figure I.1).

Les lignes directrices d'un diagramme de Jablonski-Perrin sont les suivantes :

- (i) Les niveaux d'énergie électronique quantifiés sont représentés par des lignes horizontales, selon leur multiplicité de spin ($2S + 1$). Lorsque les spins sont antiparallèles ($S = 0$) la multiplicité est égale à 1, et on parlera d'états singulets noté S_x . Si les spins sont parallèles ($S = 1$), la multiplicité sera cette fois de 3, et l'état sera par conséquent appelé triplet et noté T_x .
- (ii) À chacun de ces niveaux d'énergie électronique correspond ensuite un certain nombre de niveaux d'énergie vibrationnelle quantifiés, notés v_x . L'écart d'énergie entre niveaux v_x est bien moindre. On considère qu'à température ambiante, la population des états vibrationnels supérieurs, régie par la distribution de Boltzmann, n'est pas significative. Il est également impossible de provoquer une transition S_0-S_1 par voie thermique. Les niveaux d'énergie rotationnelle et

translationnelle, encore plus faibles et n'ayant pas d'impact sur les propriétés photophysiques d'un composé en solution, ne sont pas représentés.

- (iii) Les transitions induites par l'absorption de lumière sont représentées par des flèches verticales. La verticalité traduit le fait que, selon le principe de Franck-Condon, une transition électronique doit avoir lieu sans modifications des positions des noyaux dans l'entité moléculaire et son environnement. En effet, l'absorption de lumière s'effectue sur une échelle de temps de 10^{-15} s, ce qui est considéré comme instantané en comparaison avec l'échelle de temps du mouvement nucléaire.

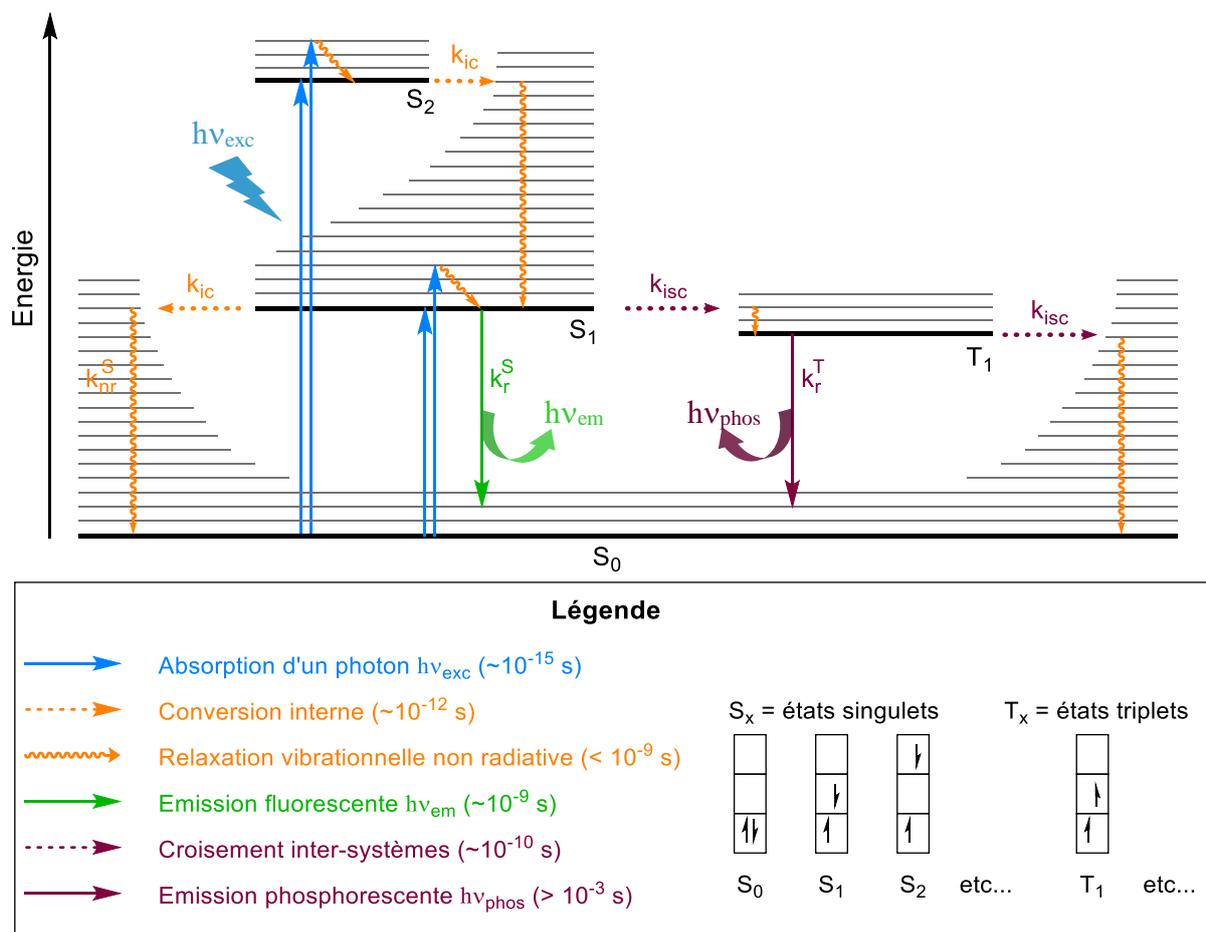


Figure I.1 : Diagramme de Jablonski-Perrin pour l'absorption d'un photon, et processus consécutifs de retour à l'état fondamental.

I.1. Phénomène d'absorption monophotonique et spectroscopie UV-Vis ^[3-6]

I.1.1. Transitions électroniques et approche quantique

Un chromophore dans son état fondamental S_0 mis en présence d'un rayon lumineux d'énergie $h\nu_{exc}$ peut subir la promotion d'un de ses électrons dans un état excité S_x d'énergie

supérieure si l'énergie du photon est au moins égale à l'écart énergétique entre ces deux niveaux. Cette condition se traduit par l'équation suivante :

$$E_x - E_0 = \Delta E = h\nu_{\text{exc}} = hc/\lambda_{\text{exc}} \quad (\text{Eq. 1.2})$$

où E_x est l'énergie de l'état excité S_x , E_0 l'énergie de l'état fondamental S_0 , ΔE l'écart énergétique entre ces deux niveaux, h la constante de Planck, c la vitesse de la lumière dans le vide, ν_{exc} la fréquence du photon incident et λ_{exc} sa longueur d'onde correspondante. Si cette condition n'est pas remplie, l'énergie ne sera pas absorbée, mais transmise, diffusée etc... Dans le cas contraire, la transition observée dépendra de l'énergie, et donc de la longueur d'onde du photon incident absorbé.

Cette condition est nécessaire mais non suffisante. Pour que la transition électronique se produise, il faut qu'un mécanisme de couplage entre l'onde électromagnétique et les deux états électroniques soit mis en jeu. Pour appréhender cette condition, il est utile de visualiser l'électron dans sa dualité onde-particule.

En effet, à l'échelle moléculaire, l'interaction entre la matière et le champ électrique associé à un rayon lumineux va engendrer une action sur les charges de l'atome et de l'électron, et donc causer une oscillation du dipôle de la molécule. Pour que la transition électronique puisse avoir lieu, il faut que cette oscillation soit suffisamment efficace pour « pousser » l'électron vers une orbitale moléculaire d'énergie supérieure ; autrement dit il faut que le recouvrement entre les deux orbitales mises en jeu en présence du champ électrique de la lumière soit non nul. Dans cette optique, le recouvrement est déterminé par l'intégrale spatiale des fonctions d'onde associées à ces deux orbitales auxquelles s'ajoute un terme associé à la radiation électromagnétique. Cette intégrale peut être calculée à partir du moment dipolaire de transition μ_{0-x} :

$$\mu_{0-x} = \int_{-\infty}^{\infty} \Psi_0 \hat{\mu} \Psi_x^* d^3r \quad (\text{Eq. 1.3})$$

Où Ψ_x^* est la fonction d'onde associée à l'orbitale moléculaire de l'état excité S_x , Ψ_0 est la fonction d'onde associée à l'orbitale moléculaire de l'état fondamental S_0 , $\hat{\mu}$ est l'opérateur moment dipolaire qui est ici égal à la charge de l'électron multiplié par son vecteur position, et d^3r indique que l'intégrale est effectuée sur tout l'espace. La probabilité de la transition est

alors proportionnelle au carré de la norme du vecteur $|\mu_{0-x}|^2$. Si cette probabilité est forte, la transition sera dite autorisée. Si elle est nulle, elle sera interdite.

Les cas pour lesquels l'intégrale est nulle seront dictés par les règles de sélection, mathématiquement déduites des propriétés des fonctions d'ondes. Il existe ainsi deux conditions principales, liées à la symétrie (c'est-à-dire le comportement de la fonction d'onde par réflexion vis-à-vis de l'origine des coordonnées), et au spin :

- (i) Pour l'absorption d'un photon, l'intégrale sera nulle si les deux fonctions d'onde des deux orbitales mises en jeu sont de même parité. Cette règle est connue comme règle de Laporte et théorise quelles transitions sont autorisées par des considérations de groupes de symétrie.
- (ii) Les transitions entre états électroniques de différentes multiplicités de spin sont interdites ($\Delta S = 0$).

Ces règles peuvent cependant être assouplies par plusieurs phénomènes, et rendre visibles sur un spectre d'absorption certaines transitions interdites. Les transitions interdites de symétrie par la règle de Laporte peuvent par exemple être rendue partiellement autorisées par les déformations structurelles de la molécule liées aux états vibrationnels. On parlera alors de couplage « vibronique ».

Selon l'énergie du photon incident et de la configuration nucléaire du chromophore lors du processus d'excitation, en plus de la transition électronique pure, il est en effet possible d'observer sur un spectre d'absorption une structure vibratoire qui dépend des niveaux d'énergie vibrationnels de l'état excité. La transition majoritaire vibronique observée sera dictée par le principe de Franck-Condon, qui peut être illustré par la figure I.2.

Dans une approche classique, le principe Franck-Condon est l'approximation stipulant que, de par la différence de masse entre noyaux et électrons, une transition électronique est plus susceptible de se produire sans modifications des positions (coordonnées nucléaires) à l'équilibre des noyaux dans l'entité moléculaire et son environnement, représentées par les puits de potentiels de Morse respectivement à l'état fondamental S_0 et à l'état excité S_1 . La transition électronique, se produisant sur une durée de l'ordre de la femtoseconde, est alors une transition verticale. À ceci s'ajoute une formulation quantique de ce principe indiquant que l'intensité d'une transition vibronique entre $\{S_0 ; v_0\}$ et $\{S_1 ; v_x\}$ sera proportionnelle au recouvrement

entre les fonctions d'ondes vibrationnelles des deux états impliqués dans la transition. Ainsi, si la configuration nucléaire des deux états est proche, la transition électronique pure sera la plus probable et la plus intense (figure I.2, diagramme de gauche). Si en revanche il existe une certaine différence entre les coordonnées nucléaires à l'équilibre des deux états, la transition la plus probable pourra être différente, et se produire par exemple entre $\{S_0 ; v_0\}$ et $\{S_1 ; v_2\}$ (figure I.2, diagramme de droite).

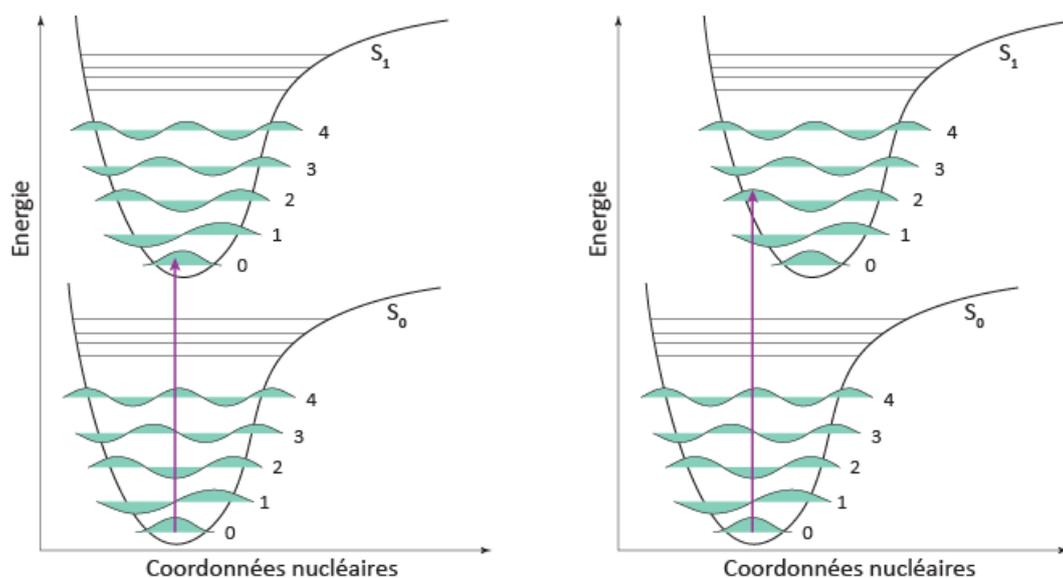


Figure I.2 : Diagramme d'énergie illustrant le principe de Franck-Condon pour une transition électronique (à gauche) ou vibronique (à droite).

L'allure d'un spectre d'absorption et la largeur des bandes observées correspondent ainsi théoriquement à la juxtaposition des sous-niveaux vibrationnels $\{S_1 ; v_x\}$, plus ou moins intenses selon leur probabilité, atteints lors de l'excitation. En pratique, cette structure en fines raies n'est observable qu'en phase gazeuse ou à très basse température. Le comportement des composés en solution ou suspension colloïdale (effets d'environnement, collisions etc...) ne permettent généralement pas d'observer cette structure de bandes. La résolution des raies vibroniques est rapidement perdue lors des interactions avec l'environnement, comme l'illustre les spectres d'absorptions de la 1,2,4,5-tétrazine (cf. figure I.3)^[3] en phase gazeuse, dans un solvant avec peu d'interactions (cyclohexane), et dans un solvant avec liaisons hydrogène (eau).

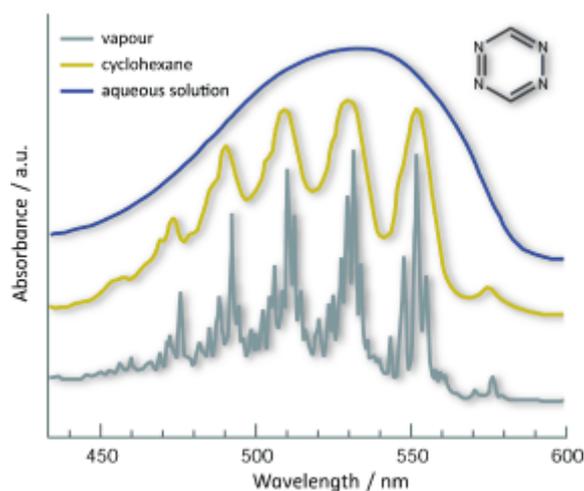


Figure I.3 : Spectre d'absorption de la 1,2,4,5-tétrazine en phase gazeuse, en solution dans le cyclohexane, et en solution dans l'eau. Figure reproduite de la référence [3].

Sur un spectre d'absorption en solution sont donc observées généralement, selon les composés, une ou deux bandes que l'on appellera par simplification « électroniques », et correspondant aux transitions de $S_0 \rightarrow S_1$ et parfois $S_0 \rightarrow S_2$ aux plus hautes énergies. Ces transitions sont déterminées par la répartition énergétique des orbitales moléculaires du composé (cf. figure I.4). Dans le cadre de composés purement organiques, l'électron sera promu entre une orbitale liante de symétrie σ ou π , ou bien une orbitale non liante n liée à la présence d'hétéroatomes, et une orbitale antiliante de symétrie σ^* ou π^* . Pour des composés insaturés comportant des électrons π , la transition de plus faible énergie (entre HOMO et LUMO) sera généralement de nature $\pi \rightarrow \pi^*$ ou $n \rightarrow \pi^*$. Il est également possible aux plus hautes énergies d'engendrer des transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ou $n \rightarrow \sigma^*$, cependant ces transitions sont généralement localisées dans l'UV lointain et donc rarement observables, et ne présentent que peu d'intérêt dans le cadre de travaux sur des chromophores conjugués.

D'après la théorie des orbitales moléculaire, si une double liaison n'est pas isolée mais fait partie d'un système π -conjugué, alors les orbitales correspondantes seront plus proches en énergie. La HOMO sera alors plus haute, et la LUMO plus basse en énergie, ce qui diminue le ΔE de la transition électronique. Il en résulte que les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ ou $n \rightarrow \pi^*$ mises en jeu sont décalées vers de plus hautes longueurs d'onde avec l'extension du système π -conjugué. On parle d'un effet bathochrome pour un décalage vers le rouge ; l'effet contraire étant appelé hypsochrome.

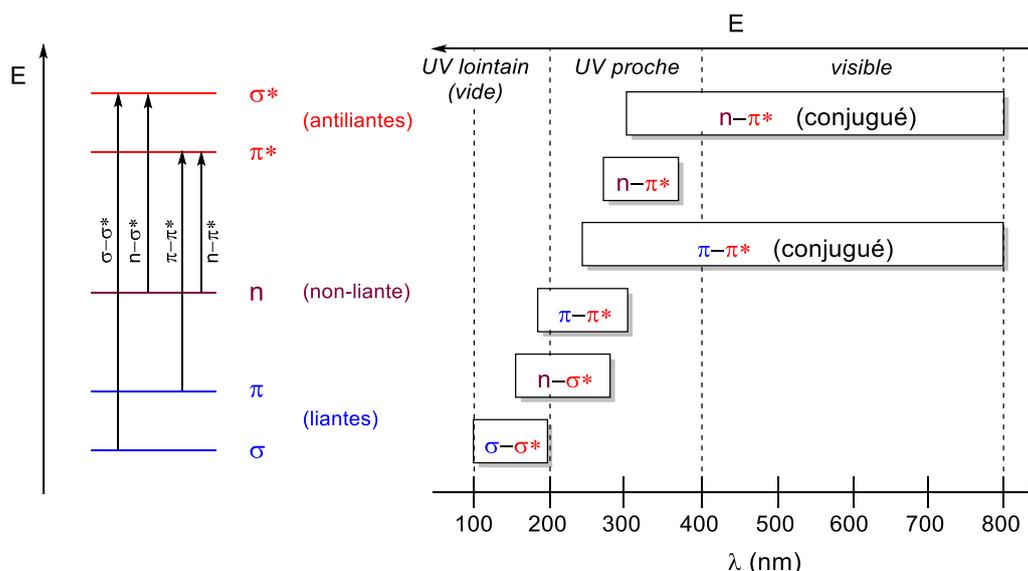


Figure I.4 : Estimation de la répartition énergétique des orbitales moléculaires d'un chromophore, et des énergies des transitions électroniques associées.

Ces règles tirées de la théorie quantique de l'absorption photonique permettent ainsi d'évaluer l'énergie et l'intensité des transitions mises en jeu. Les transitions autorisées à la fois en symétrie et en spin auront généralement des intensités supérieures de plusieurs ordres de grandeurs par rapport aux transitions interdites. Ainsi, si une transition $n \rightarrow \pi^*$ dans un chromophore conjugué peut être localisée dans les hautes longueurs d'onde du visible (figure I.4), son caractère interdit de symétrie la rendra généralement 10 à 100 fois moins intense qu'une $\pi \rightarrow \pi^*$ autorisée.

1.1.2. Loi de Beer-Lambert et section efficace d'absorption

Le phénomène d'absorption de lumière par un composé peut être quantifié et mesuré. En pratique, lorsqu'un faisceau lumineux incident d'intensité I_0 est envoyé sur un échantillon en solution, typiquement dans une cuvette parallélépipédique de longueur ℓ (figure I.5), plusieurs phénomènes vont diminuer l'intensité lumineuse tout le long du trajet optique, jusqu'à donner un faisceau d'intensité I_T en sortie de l'échantillon.

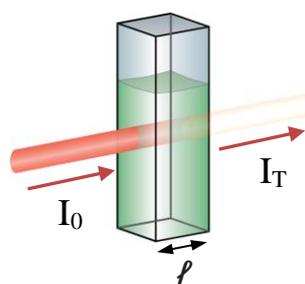


Figure I.5: Représentation d'un échantillon en solution irradié par un faisceau incident monochromatique dans une cuvette de longueur ℓ .

La différence entre intensité incidente initiale et l'intensité transmise ΔI correspond au phénomène d'absorption, mais aussi à la réflexion de la lumière aux interfaces, aux interférences lumineuses, à la diffusion de la lumière etc...

$$I_0 - I_T = \Delta I = I_{\text{absorption}} + I_{\text{réflexion}} + I_{\text{diffusion}} + I_{\text{interférences}} + \dots \quad (\text{Eq. 1.4})$$

Afin de s'affranchir de ces phénomènes parasites lors des mesures, et de se limiter à la mesure de $I_{\text{absorption}}$, il est nécessaire d'utiliser en tant que référence une cuve de solvant identique. En outre, une attention particulière doit être apportée à la solubilité du composé dans le solvant utilisé, puisqu'une mauvaise solubilité est susceptible d'augmenter le phénomène de diffusion. Dans ces conditions, le ratio de l'intensité mesurée I_T par rapport à l'intensité incidente I_0 permet de définir la transmittance T :

$$T = \frac{I_T}{I_0} \quad (\text{Eq. 1.5})$$

En ce sens, dès 1760, J. H. Lambert démontre que la diminution d'intensité lumineuse consécutive à l'absorption est proportionnelle à la longueur du trajet optique ℓ , ce qui peut s'exprimer de la sorte :

$$-\frac{dI}{I} = \alpha d\ell \quad (\text{Eq. 1.6})$$

où α est une constante de proportionnalité.

Cette relation différentielle, une fois intégrée sur la longueur finie du trajet optique, montre que l'intensité du rayon électromagnétique traversant l'échantillon subit une décroissance exponentielle du type :

$$I_T = I_0 e^{-\alpha\ell} \quad (\text{Eq. 1.7})$$

dans laquelle la constante de proportionnalité α est dépendante d'un coefficient d'atténuation de l'énergie k , de la pulsation angulaire du rayonnement électromagnétique ω et de la vitesse de la lumière c ; et par extension de la longueur d'onde λ :

$$\alpha = \frac{2\omega k}{c} = \frac{4\pi k}{\lambda} \quad (\text{Eq. I.8})$$

Cette loi est le plus souvent présentée sous forme de logarithme décimal, faisant alors intervenir la transmittance :

$$\log \frac{I_0}{I_T} = \log \frac{1}{T} = \frac{\alpha \ell}{\ln(10)} = \alpha' \ell \quad (\text{Eq. I.9})$$

L'absorbance A est alors introduite en tant que logarithme décimal négatif de la transmittance, et définie comme étant la quantité de lumière absorbée par la substance :

$$A = \alpha' \ell \quad (\text{Eq. I.10})$$

Cette relation appelée loi de Lambert fut complétée par la suite par A. Beer qui montra de façon analogue que l'absorbance est dépendante du nombre de chromophores sur le trajet, et donc de la concentration C de l'échantillon. Ces dérivations ont abouti à la version moderne de la loi de Beer-Lambert, qui montre finalement que l'absorbance d'un échantillon à une longueur d'onde donnée est directement proportionnelle au trajet optique ℓ , à la concentration en composé C , et à sa capacité à absorber les photons. Cette propriété est introduite à travers une notion primordiale des mesures photophysiques : la section efficace d'absorption σ .

En considérant le même faisceau incident d'intensité I_0 et d'intensité I_T en sortie de l'échantillon, il est possible de décomposer le trajet optique total, de longueur ℓ , en une infinité de sections de surface lumineuse S et de longueur infinitésimale $d\ell$. À chaque position du trajet optique, l'intensité lumineuse sera appelée I_x en entrée de cette section, et $I_x - dI$ en sortie (figure I.6).

À l'échelle moléculaire, on considère que chaque chromophore possède une surface (ou section) dite « efficace » sur laquelle les photons pourront être absorbés au passage de la lumière (sphères vertes sur la figure I.6), autrement dit une aire de capture des photons. Ce paramètre clé appelé section efficace d'absorption σ est un paramètre général traduisant l'efficacité d'absorption de la lumière qui peut être exprimé pour l'absorption mono- ou multiphotonique (cf. paragraphe I.2).

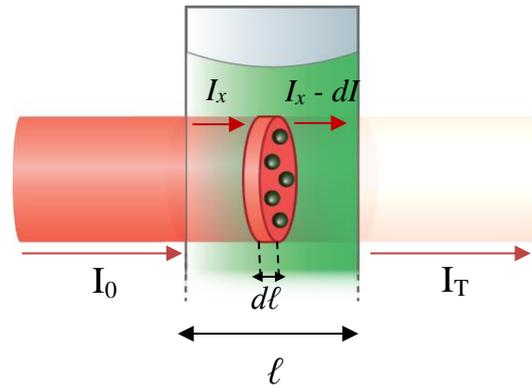


Figure I.6 : Représentation en coupe d'un échantillon en solution irradié par un faisceau incident monochromatique, et de la section efficace d'absorption.

Ainsi, lorsque la lumière traverse l'échantillon, chaque molécule absorbera sur une fraction σ/S du faisceau de surface S . Sur la totalité de la section infinitésimale considérée, la surface totale absorbée Σ sera donc égale à cette fraction multipliée par le nombre de chromophores N_x dans le volume correspondant, soit :

$$\begin{aligned}\Sigma &= \frac{\sigma}{S} N_x \\ &= \frac{\sigma}{S} C_N S d\ell \\ &= \sigma C_N d\ell\end{aligned}\tag{Eq. I.11}$$

où C_N est la concentration de l'échantillon en nombre de molécules.cm⁻³.

En appliquant le raisonnement de la loi de Lambert, la diminution d'intensité lumineuse dI consécutive à l'absorption d'intensité I_x sur cette section infinitésimale, et dépendante de la section efficace d'absorption, peut être exprimée par :

$$-\frac{dI}{I_x} = \sigma C_N d\ell\tag{Eq. I.12}$$

L'intégration de cette relation sur l'intégralité du trajet optique entre 0 et ℓ donne alors l'équation I.13 :

$$\int_0^\ell -\frac{dI}{I_x} = \int_0^\ell \sigma C_N d\ell \quad (\text{Eq. I.13})$$

$$\Leftrightarrow \ln \frac{I_0}{I_T} = \sigma C_N \ell$$

En introduisant dans cette relation la concentration molaire C grâce au nombre d'Avogadro, et en passant en base décimale de façon à retrouver l'absorbance A , il en découle la forme moderne de la loi de Beer-Lambert :

$$A = \varepsilon \ell C \quad (\text{Eq. I.14})$$

Dans laquelle le paramètre ε , appelé coefficient d'extinction molaire et directement lié à la section efficace d'absorption à un photon, est le paramètre communément mesuré lors des études photophysiques afin d'évaluer la capacité d'absorption d'un chromophore :

$$\varepsilon = \frac{\sigma}{\ln(10)} \times N_A \times 10^{-3} \quad (\text{Eq. I.15})$$

Le coefficient d'extinction molaire ε représente finalement la probabilité de provoquer une transition électronique pour le composé étudié, et à une longueur d'onde donnée.

I.2. Optique non linéaire et excitation biphotonique

Comme vu précédemment, lorsqu'une onde électromagnétique lumineuse interagit avec la densité électronique de la matière, et particulièrement les électrons π , le champ électrique associé induit une polarisation qui dépend de son amplitude. Dans le cas où ce champ électrique est très intense, l'approximation de linéarité décrite dans l'équation I.1 n'est plus valable, et des phénomènes d'optique non-linéaire (ONL) peuvent apparaître. En fonction de la longueur d'onde du faisceau incident les phénomènes d'ONL peuvent être résonants ou non résonants.

Les phénomènes non résonants perturbent l'état électronique fondamental sans promouvoir un électron dans un état électronique excité. En ONL, on observera des harmoniques de second ordre et de troisième génération, ou bien des effets Pockels ou Kerr.

Les phénomènes d'ONL résonants se produiront lorsque l'énergie incidente est un multiple du gap énergétique entre l'état fondamental et l'état excité. L'absorption simultanée

de deux photons (ou plus^[4]) combinant leurs énergies peut alors avoir lieu pour combler ce gap. On appelle cette technique l'excitation biphotonique (ou multiphotonique). Ce phénomène fut théorisé pour la première fois par Maria Göppert-Mayer en 1931 durant sa thèse de doctorat^[5] et démontré expérimentalement en 1961 par Kaiser et Garrett^[6] après le développement des premiers lasers pulsés.

Lors du phénomène d'absorption à deux photons (2PA), l'absorption d'un premier photon engendre la création d'un état d'excitation virtuel possédant une durée de vie de l'ordre de 10^{-15} secondes et ne correspondant à aucune résonnance. La probabilité qu'un chromophore absorbe un second photon est ensuite fonction du recouvrement spatial et temporel entre les photons incidents. L'absorption du second photon doit se produire sur une durée de 10^{-18} secondes^[7] pendant la durée de vie de l'état virtuel afin de promouvoir l'électron sur un niveau électronique réel, ce qui explique l'emploi de laser pulsés. L'état excité atteint par cette double absorption quasi-simultanée peut être différent de celui obtenu avec l'absorption monophotonique de par la différence des règles de sélection, cependant la règle de Kasha reste valable et l'émission s'effectuera toujours depuis S_1 .

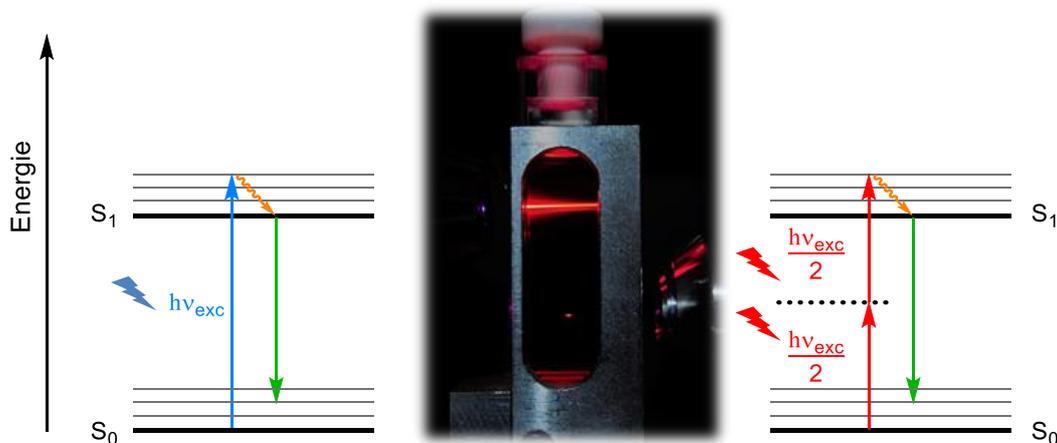


Figure 1.7 : Diagramme de Jablonski-Perrin simplifié illustrant l'absorption à un photon (à gauche), et à deux photons (à droite), et le retour à l'état fondamental par fluorescence. La photo montre le volume d'excitation correspondant (1PA en haut de la cuvette, 2PA en bas).

Bien qu'il soit théoriquement possible d'utiliser deux photons d'énergie différente pour combler le gap ΔE , les montages de 2PA envoient généralement deux photons d'énergie $h\nu_{exc}/2$ identique. La longueur d'onde nécessaire pour l'excitation est par conséquent deux fois supérieure à celle utilisée en excitation monophotonique, et se situe dans le rouge ou proche infrarouge (NIR). Ce type de 2PA est dit « dégénéré » de par l'égalité énergétique des deux photons envoyés, et c'est sur ce phénomène que se focaliseront les paragraphes suivants.

L'absorption à deux photons « non-dégénérée »,^[8-10] aussi appelée absorption à deux couleurs, ne sera pas étudiée ici.

Contrairement à la 1PA, la 2PA dépend quadratiquement de l'intensité lumineuse (voir ci-après), ce qui confine l'excitation uniquement au point focal. Le volume d'excitation étant de l'ordre du femtolitre, la résolution spatiale 3D est alors extrêmement forte (cf. photo, figure I.7), ce qui rend cette technique particulièrement intéressante pour des applications biologiques. La gamme de longueurs d'ondes utilisée est en outre bien moins photo-toxique que les rayonnements UV et pénètre bien les tissus. Les rayonnements rouges et NIR ne sont en effet que peu altérés par l'absorption de chromophores du milieu biologique, et peuvent pénétrer les tissus jusqu'à 10 cm sans dommages particuliers.^[11] Cette gamme de longueur d'onde est appelée la « fenêtre de transparence biologique » (figure I.8).

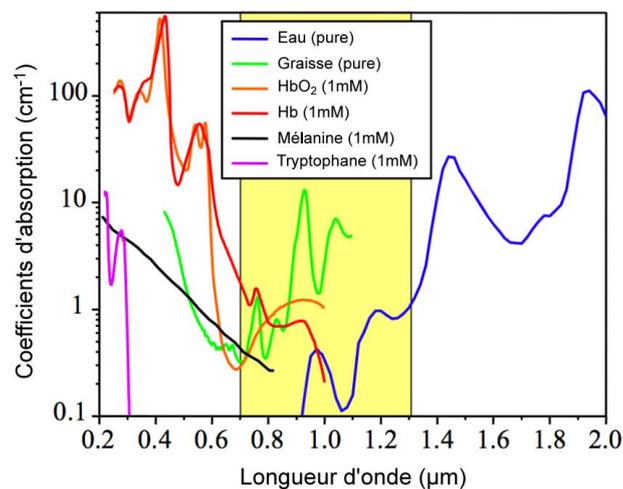


Figure I.8 : Spectres d'absorption des principaux chromophores présents dans les tissus biologiques. La zone colorée en jaune correspond à la fenêtre de « transparence » des tissus vis-à-vis de l'irradiation lumineuse.

Comme en absorption monophotonique (σ , directement lié à ϵ), on peut définir pour la 2PA une section efficace d'absorption traduisant la capacité d'un chromophore à absorber deux photons. En hommage à sa première théoricienne, cette section efficace d'absorption à deux photons σ_2 est exprimée en Göppert-Mayer ($1 \text{ GM} = 10^{-50} \text{ cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photon}^{-1}$).

1.2.1. Fondements physiques et mathématiques

Dans le cas d'un champ électrique \vec{E} intense, par exemple lors d'une irradiation à l'aide d'une source laser, la polarisation \vec{P} du matériau sature et sort du cadre de la linéarité. Elle peut alors se décomposer sous la forme d'un polynôme de Taylor :

$$\vec{P} = \vec{P}_0 + \varepsilon_0 \chi^{(1)} \vec{E} + \varepsilon_0 \chi^{(2)} \vec{E}^2 + \varepsilon_0 \chi^{(3)} \vec{E}^3 + \dots \quad (\text{Eq. I.16})$$

Dans lequel $\chi^{(n)}$ est un tenseur d'ordre $n+1$ décrivant la susceptibilité électrique du $n^{\text{ème}}$ ordre ; le terme du premier ordre étant la susceptibilité électrique linéaire rencontrée dans l'équation I.1.

À l'échelle moléculaire, une expression analogue peut être retrouvée pour le moment dipolaire $\vec{\mu}$ exprimé en fonction du champ \vec{E} .

$$\vec{\mu} = \vec{\mu}_0 + \alpha \vec{E} + \beta \vec{E}^2 + \gamma \vec{E}^3 + \dots \quad (\text{Eq. I.17})$$

Dans cette expression, $\vec{\mu}_0$ est le moment dipolaire permanent de la molécule, α est la polarisabilité, β l'hyperpolarisabilité quadratique, et γ l'hyperpolarisabilité cubique.

En optique linéaire, seule la polarisabilité d'ordre 1 intervient. La partie réelle de cette grandeur rentre en compte dans la détermination de l'indice de réfraction du milieu, et sa partie imaginaire dans la section efficace d'absorption σ , et donc dans le coefficient d'extinction molaire ε .

Lorsque le champ \vec{E} est plus intense, les termes non linéaires d'ordre supérieur à 2 rentrent en ligne de compte. L'hyperpolarisabilité quadratique β gouverne les phénomènes d'ONL du second ordre comme la génération de second harmonique (GSH) ou l'effet Pockels. L'hyperpolarisabilité cubique γ reflète quant à elle les phénomènes du troisième ordre, tels que l'absorption à deux photons sur laquelle se focalisera cette étude. Par analogie avec la polarisabilité α , la partie réelle de γ interviendra dans l'indice de réfraction non linéaire du milieu, alors que sa partie imaginaire rentrera en compte dans la section efficace d'absorption à deux photons σ_2 .^[12,13] Des restrictions de symétrie s'appliquent sur certains termes d'hyperpolarisabilité. Ainsi pour des raisons de parité, les termes d'ordre pair tels que β seront toujours nuls dans le cas de molécules centrosymétriques. Aucune restriction de symétrie n'existe cependant pour les termes impairs, et le phénomène de 2PA peut donc potentiellement être observé sur tous types de chromophores indépendamment de leur symétrie.

Le caractère non-linéaire de la 2PA lui confère une dépendance quadratique vis-à-vis de l'intensité lumineuse. Ainsi, en appliquant des hypothèses équivalentes à celle de la loi de Beer-

Lambert,^[14] et de façon analogue à l'équation I.12 il est possible de décrire l'atténuation lumineuse consécutive à la 2PA par l'équation suivante :

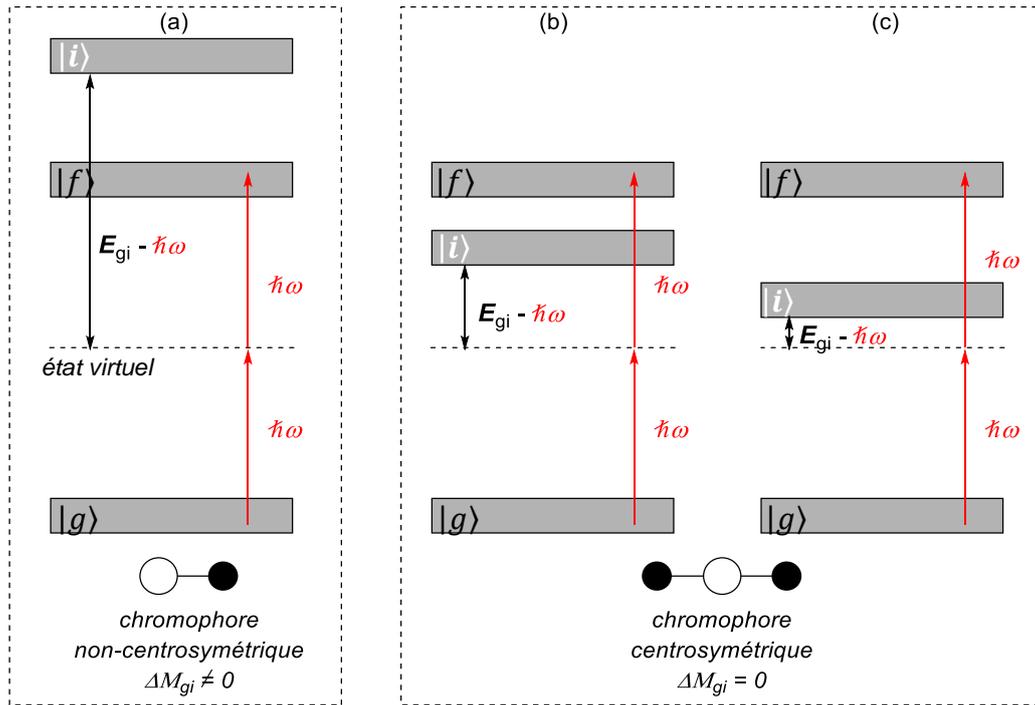
$$\frac{\partial I}{\partial \ell} = - C_N \sigma I - C_N \sigma_2 I^2 \quad (\text{Eq. I.18})$$

Où I est l'intensité, ℓ le trajet optique, C_N le nombre de molécule par cm^3 , et σ et σ_2 les sections efficaces d'absorption respectivement à un et deux photons à une longueur d'onde donnée. En considérant que l'énergie des photons utilisés pour la 2PA soit largement insuffisante pour rentrer seule en résonance avec un état excité de la molécule et causer l'absorption monophotonique, seul le second terme quadratique sera considéré dans l'équation I.18. Cette quadraticité confère à la 2PA son importante résolution spatiale.

Il existe principalement trois approches quantiques^[15-18] permettant d'estimer mathématiquement la section efficace d'absorption à deux-photons σ_2 à partir de l'expression complexe de l'hyperpolarisabilité microscopique γ . Afin d'appréhender les paramètres et les relations structure-propriétés régissant l'efficacité de la 2PA, il est possible d'obtenir une expression approximée de γ (et par extension de σ_2) en raisonnant sur le « modèle des états essentiels ».^[19-22] Le modèle à trois états^[20,21] est basé sur le postulat que les sections efficaces d'absorption à deux photons sont dictées par l'interaction entre l'état fondamental $|g\rangle$ et au maximum deux états électroniques excités. Les règles de sélections imposées par la symétrie du chromophore indiquent alors les états électroniques à prendre en compte. Dans les composés centrosymétriques on considèrera l'interaction entre l'état fondamental $|g\rangle$, l'état final visé $|f\rangle$ autorisé à deux photons ; et un second état $|i\rangle$ autorisé à un photon, fortement couplé avec $|f\rangle$ par dipôle de transition, dont le positionnement énergétique dépendra de la symétrie de la molécule (cf. figure I.9). Dans le cas de systèmes non-centrosymétriques, seule la transition avec $|f\rangle$, autorisée à un et deux photons, peut être considérée ; $|i\rangle$ alors un état aussi étant alors supérieur ou égal à $|f\rangle$.

Pour appréhender ce modèle de façon plus intuitive, particulièrement dans le cas des systèmes centrosymétriques, il faut visualiser un premier photon subissant une transition virtuelle vers l'état autorisé à un photon $|i\rangle$ le plus proche. Dans le cas d'une onde lumineuse plane polarisée de pulsation $\omega = 2\pi\nu$, pour laquelle les photons sont de même énergie (2PA dégénérée), ce photon $\hbar\omega$ aura une durée de vie Δt dans l'état intermédiaire, déterminée selon

le principe d'incertitude $\Delta t > \hbar/\Delta E$, où $\Delta E = E_{gi} - \hbar\omega$ est la différence d'énergie entre l'énergie du photon et l'énergie de l'état $|i\rangle$; appelée aussi énergie de désaccord de résonance. L'enjeu de ce modèle réside dans le fait que si l'énergie de désaccord ΔE diminue, le photon peut rester dans l'état intermédiaire $|i\rangle$ pendant une période de temps plus longue. Puisque le deuxième photon doit arriver pendant cette durée de vie pour que le phénomène de 2PA se produise, il en découle que si cet intervalle de temps est allongé, la probabilité de 2PA (et par conséquent le σ_2) doivent augmenter.



Dans le cadre de ce modèle, l'expression de la section efficace d'absorption à deux photons en fonction du tenseur γ d'ordre 4 peut être approximée à :

$$\sigma_2 \approx \frac{3 L^4 \hbar \omega^2}{2 C_N n^2 c^2 \varepsilon_0} \text{Im}(\gamma(-\omega, \omega, -\omega, \omega)) \quad (\text{Eq. I.19})$$

Où L est un facteur optique lié à n l'indice de réfraction du milieu, et \hbar la constante de planck réduite. Le facteur de proportionnalité peut varier selon le système d'unités et les conventions utilisées.^[4] Bien que la démonstration dépasse le cadre de ce manuscrit,^[12,18,23,24] le développement de l'équation I.19 en fonction de l'expression de γ ^[18] basée sur ce modèle

quantique permet d'exprimer σ_2 en fonction de trois termes appelés D , T et N selon la relation de proportionnalité suivante^[25] :

$$\sigma_2 \propto \text{Im} \left(\begin{array}{l} \frac{\mu_{gi}^2 \Delta M_{gi}^2}{(E_{gi} - \hbar\omega - j\Gamma_{gi})^2 (E_{gi} - 2\hbar\omega - j\Gamma_{gf})} \quad \ll D \gg \\ + \sum_{i \neq f, g} \frac{\mu_{gi}^2 \mu_{if}^2}{(E_{gi} - \hbar\omega - j\Gamma_{gi})^2 (E_{gf} - 2\hbar\omega - j\Gamma_{gf})} \quad \ll T \gg \\ - \frac{\mu_{gi}^4}{(E_{gi} - \hbar\omega - j\Gamma_{gi})^2 (E_{gi} + \hbar\omega - j\Gamma_{gi})} \quad \ll N \gg \end{array} \right) \quad (\text{Eq. I.20})$$

Dans laquelle l'unité imaginaire est ici appelée j par souci de clarté, les moments dipolaires de transition associés à la transition $x \leftrightarrow y$ sont appelés μ_{xy} , et la différence de moment dipolaire statique entre les états $|x\rangle$ et $|y\rangle$ est appelée ΔM_{xy} pour une meilleure distinction. E_{xy} est la différence d'énergie entre les deux états, et Γ_{xy} est un facteur d'amortissement associé à la transition. Les trois termes de cette expression contribuent différemment à la valeur de σ_2 . Le terme D est un terme « dipolaire » puisqu'il fait intervenir les moments dipolaires statiques *via* ΔM_{xy} . Le terme T (pour *Two-photon*) est présent dans tous les cas en 2PA. Enfin, le terme négatif N peut venir se retrancher à cette expression dans le cas où le photon est d'une énergie voisine de l'énergie résonnante,^[24] ce qui n'est pas le cas dans notre étude. Le terme N sera donc négligé par la suite, et en considérant que le facteur d'amortissement Γ est identique pour toutes les transitions on peut encore simplifier la relation précédente en isolant la partie imaginaire, de sorte que :

$$\sigma_2 \propto \left(\frac{\mu_{gi}^2 \Delta M_{gi}^2}{(\hbar\omega)^2} + \sum_{i \neq f, g} \frac{\mu_{gi}^2 \mu_{if}^2}{(E_{gi} - \hbar\omega)^2} \right) \quad (\text{Eq. I.21})$$

Les équations I.20 et I.21 permettent d'emblée de distinguer deux cas de figure selon l'existence ou non d'une différence entre moments dipolaires à l'état fondamental et à l'état excité ; et donc selon la symétrie du chromophore étudié. En effet, dans les dipôles non-centrosymétriques ($\Delta M_{gi} \neq 0$), le terme D sera présent, alors que dans les quadrupôles centrosymétriques ($\Delta M_{gi} = 0$) le terme D sera nul et le σ_2 sera équivalent à la contribution du terme T . Il est également important de noter la présence au dénominateur du terme T de la différence d'énergie ($E_{gi} - \hbar\omega$) mise en évidence sur la figure I.9 et qui aura une forte

influence sur le σ_2 selon les cas. En outre, cette distinction entre chromophores centrosymétriques ou non s'accompagne d'un changement au niveau des règles de sélection par rapport à l'absorption monophotonique.

I.2.1.a. Modèle des états essentiels et cas des molécules non-centrosymétriques

Dans les chromophores dipolaires non-centrosymétriques (figure I.9, cas (a)), la transition entre $|g\rangle$ et $|f\rangle$ est autorisée à un et à deux-photons.

La présence de moments dipolaires statiques à l'état fondamental $|g\rangle$ et à l'état excité $|f\rangle$ implique que le terme dipolaire de l'équation I.21 sera non-nul, et qu'il faudra donc prendre en compte les contributions des deux termes D et T dans l'estimation du σ_2 . Or, comme représenté sur la figure I.9, l'état $|i\rangle$ étant d'une énergie supérieure ou égale à $|f\rangle$, on aura forcément $(E_{gi} - \hbar\omega) \geq \hbar\omega$. En considérant que les dipôles statiques et de transition sont tous du même ordre de grandeur, il en résulte que la contribution du terme D dans l'expression de σ_2 sera plus importante que celle du terme T .

I.2.1.b. Modèle des états essentiels et cas des molécules centrosymétriques

Dans le cas de chromophores centrosymétriques, les trois états dits « essentiels » présentent des symétries alternées (cf. figure I.9): $|g\rangle$ et $|f\rangle$ seront symétriques par rapport au centre d'inversion (*gerade*), $|i\rangle$ est lui antisymétrique (*ungerade*). Les règles de Laporte autorisent donc à un photon les transitions $g \leftrightarrow i$ et $i \leftrightarrow f$ grâce à l'inversion de symétrie. À deux photons, la fréquence ν n'entre en résonance avec aucune de ces transitions et crée un état virtuel *ungerade* d'énergie inférieure à $|i\rangle$. Le second photon de fréquence ν engendre la nouvelle transition dipolaire vers l'état final *gerade* $|f\rangle$. Il en résulte que la transition $g \leftrightarrow f$ est autorisée en 2PA tout en étant interdite de symétrie par absorption à un photon. Cette inversion des règles de sélection entre les absorptions à un et à deux photons est généralisable à tous les chromophores centrosymétriques.

La valeur de la section efficace d'absorption à deux-photons dans le cas de chromophores centrosymétriques est directement régie par le terme T (le terme dipolaire étant nul). Cependant, dans le cadre du modèle à trois états, $|i\rangle$ est situé à un niveau énergétique inférieur à $|f\rangle$, ce qui a deux conséquences directes :

- (i) Plus l'état $|i\rangle$ sera proche en énergie de l'état virtuel créé par l'absorption d'un premier photon (figure I.9, cas (b) et (c)), plus le dénominateur $(E_{gi} - \hbar\omega)^2$ du terme T sera petit. Cette propriété permet théoriquement d'atteindre des valeurs de

σ_2 très importantes, ce qui n'est mathématiquement pas possible dans le cas de dipôles.

- (ii) Dans ce cas et contrairement aux chromophores dipolaires, $(E_{gi} - \hbar\omega) < \hbar\omega$. À moments dipolaires égaux (c'est-à-dire à structure conjuguée et groupements donneurs et accepteurs égaux), le terme T dans un chromophore centrosymétrique sera forcément supérieur à la contribution D dans un dipôle. Un quadrupôle sera donc intrinsèquement meilleur absorbeur à deux photons que le dipôle correspondant.

Ces propriétés ont permis de dégager des stratégies d'ingénierie moléculaire visant à améliorer l'efficacité des absorbeurs à deux-photons.

1.2.2. Ingénierie de chromophores 2PA et relations structure-propriétés

En observant l'équation I.21 et à partir des raisonnements menés dans les paragraphes précédents, il est possible de dégager les tendances de l'ingénierie de chromophores absorbeurs à deux-photons. En pratique, les termes de l'équation tels que μ et M sont difficilement accessibles expérimentalement,^[26] mais les règles suivantes peuvent être suivies de façon empirique :^[27,28,24,12,29,30]

- (i) *Augmenter les moments dipolaires statiques et transitoires.* En effet selon l'équation I.21, l'augmentation de ΔM_{gf} conduit quadratiquement à une augmentation du σ_2 , tout comme l'augmentation des moments dipolaires de transition μ . En pratique ceci peut être réalisé de deux façons :
- *En augmentant le pouvoir donneur ou accepteur des groupements aux extrémités (et au centre, le cas échéant) de la molécule.* La force motrice de la 2PA est un transfert de charge intramoléculaire, et toute modification favorisant ce transfert devrait influencer positivement le σ_2 .
 - *En augmentant la longueur du système π -conjugué plan.* En effet, il convient de rappeler que, d'après l'équation I.3, le moment dipolaire de transition μ est calculé par intégration sur tout l'espace selon les trois coordonnées du rayon r (c'est-à-dire la distance sur laquelle la charge se déplace pendant une transition). Intuitivement, plus les coordonnées du vecteur seront espacées de l'origine, plus μ sera donc important, ce qui peut de fait être réalisé en

augmentant la taille du système π . Il existe cependant une limite supérieure à cette longueur de chaîne au-delà de laquelle la fonction d'onde devient incohérente à cause notamment de la perte de planarité dans la molécule.^[27]

- (ii) *Préparer des chromophores centrosymétriques.* À groupements donneurs et accepteurs égaux, un quadrupôle (D- π -A- π -D ou A- π -D- π -A) sera meilleur absorbeur à deux photons que le dipôle (D- π -A ou A- π -D) correspondant.
- (iii) *S'approcher de la résonance pour l'état intermédiaire.* Dans les systèmes centrosymétriques de type quadrupolaires, si l'état intermédiaire autorisé à un photon est localisé près de l'état virtuel (à la longueur d'onde du laser), la section efficace d'absorption à deux photons peut être significativement augmentée. Cet effet est parfois appelé « *intermediate state resonance enhancement* » (ISRE).^[9]
- (iv) *Minimiser le facteur d'amortissement Γ .* Le facteur d'amortissement étant lié à la largeur de bande de la transition observée, une bande étroite maximisera le σ_2 .

Tableau I.1. Liste des groupements auxochromes couramment utilisés dans les conceptions d'absorbeurs à deux photons.

| Groupements électrodonneurs D ^[a] | Liens π -conjugués ^[b] | Groupements électroattracteurs A ^[b] |
|--|---------------------------------------|---|
| | | |

^[a] R = alkyl ; ^[b] R = H, alkyl, X = O, S, NR.

Ces facteurs clés sont fortement interdépendants, et il faut souvent les prendre en considération de façon globale pour anticiper les effets sur le σ_2 . Cependant, depuis la première mise en évidence du phénomène sur des chromophores organiques,^[31] le design rationnel de chromophores absorbeurs à deux photons a progressé de façon spectaculaire. Ceux-ci sont composés de principalement trois types d'éléments : un pont (ou « cœur », pour les systèmes centrosymétriques) π polarisable, un groupement électrodonneur D, et un groupement électroattracteur A, dont les structures les plus communes sont rassemblées dans le tableau I.1.

1.2.2.a. Influence des effets électroniques

Historiquement, parmi les premiers travaux sur les chromophores organiques à application en 2PA, Prasad et coll. ont développé des structures dipolaires comportant différents ponts π polarisables, et dont le système *push-pull* est basé sur un donneur diphénylamino et un accepteur vinylpyridine. Ces structures dipolaires présentent des réponses en excitation biphotonique globalement modestes, mais l'extension de la conjugaison leur a permis d'atteindre des valeurs de 115 GM.^[32] Il est intéressant de noter l'effet du groupement électrodonneur qui est primordial puisque la réponse en 2PA est totalement annihilée lorsque le groupement diphénylamino est remplacé par un thiophène, très peu donneur.

Ehrlich *et al.* ont rapporté dès 1997 l'augmentation du transfert de charge intramoléculaire par modification des groupements électrodonneurs et accepteurs terminaux, et l'effet consécutif sur la section efficace d'absorption à deux photons de dérivés du stilbène (schéma I.1), et en se plaçant donc cette fois dans le cas de chromophores centrosymétriques. L'ajout de groupements donneurs dibutylamino sur ce chromophore permet d'augmenter de 100 GM la valeur du σ_2 (composé **2**). Le remplacement des chaînes butyle par des phényles, plus riches en électrons, a ici un effet encore plus bénéfique. Ces premiers travaux ont permis d'obtenir des sections efficaces d'absorptions à deux photons de 340 GM.^[33] De plus profondes modifications structurelles ont ensuite été produites.^[34] L'effet de l'allongement du système π -conjugué, étudié en remplaçant le lien vinyle du stilbène par un cœur *p*-divinylbenzène, est mis en évidence par un bond de 500 GM supplémentaires pour le composé **4**. Le transfert de charge, et par conséquent le σ_2 , sont enfin augmentés de façon spectaculaire par l'ajout de groupements nitriles attracteurs sur le cœur du chromophore, donnant accès à une valeur de plus de 3000 GM. Des sections efficaces de plus de 4000 GM ont ainsi pu être obtenues par modifications structurelles et ingénierie moléculaire dans ces travaux.

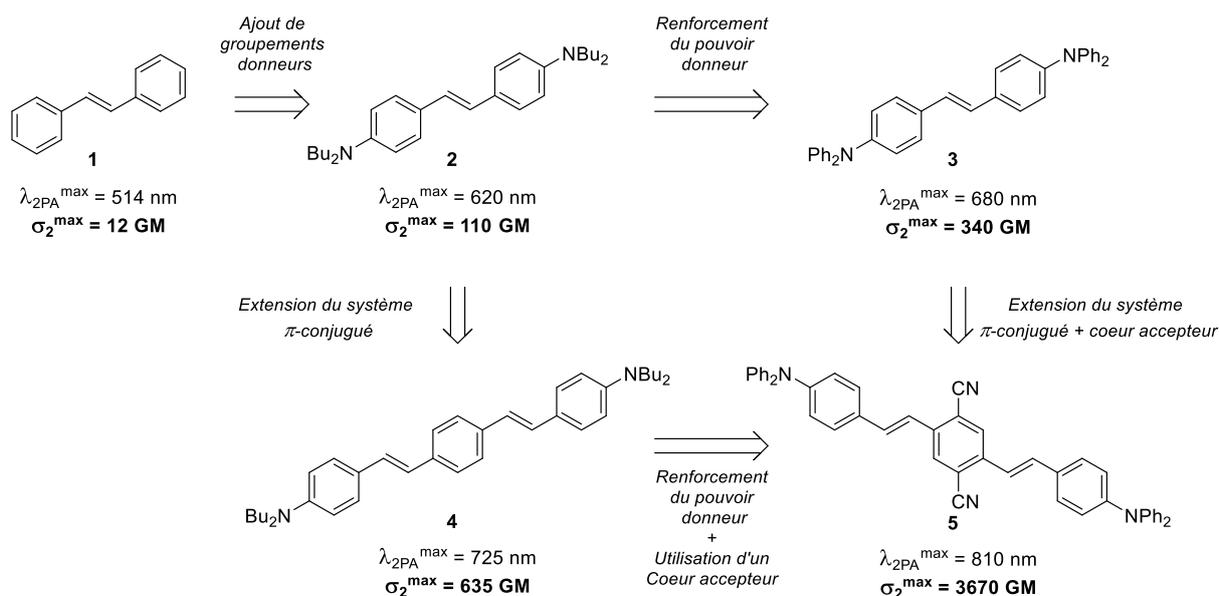


Schéma I.1 : Feuille de route des modifications structurales effectuées sur le stilbène par Marder et coll.^[33,34] et effets observés sur le σ_2 .

Les groupements D et A peuvent donc être localisés aux extrémités, ou au cœur du chromophore comme indiqué précédemment. Les groupes terminaux les plus efficaces et les plus communs (cf. tableau I.1) sont de type dialkyl- ou diphénylamino, grâce à leur meilleur pouvoir donneur, tout en gardant une certaine stabilité à l'oxydation.^[35] Les groupements oxygénés (–OH et –OR) sont aussi utilisés mais possèdent un pouvoir donneur bien inférieur, comme en témoigne la comparaison entre les composés **6b** et **6c** (schéma I.2). Bien que plus rarement utilisés et réservés à des applications particulières, les phénolates sont cependant parmi les plus forts groupements électrodonneurs existant, et ont notamment permis d'atteindre des σ_2 supérieurs à 4000 GM dans le développement de sondes de pH et de détection d'ions Zn^{2+} .^[36] Le coefficient de Hammett^[37] est un indice utile pour évaluer la force des groupements utilisés, et leur effet sur la section efficace d'absorption à deux photons.

En ce qui concerne les systèmes centrosymétriques, les études montrent que les groupements D terminaux sont généralement plus efficaces que les groupements A terminaux. Un caractère accepteur est au contraire généralement meilleur lorsqu'il est localisé au cœur du système.^[35] Le composé **6a** de type A- π -D- π -A est en ce sens bien moins actif en excitation biphotonique que les composés de type D- π -A- π -D **6c**, ou même que le quadrupôle comportant des donneurs oxygénés **6b**.



6a, X = SO₂CF₃
 $\lambda_{2PA}^{max} = 705 \text{ nm}$
 $\sigma_2^{max} = 83 \text{ GM}$

6b, X = OMe
 $\lambda_{2PA}^{max} = 705 \text{ nm}$
 $\sigma_2^{max} = 110 \text{ GM}$

6c, X = NHex₂
 $\lambda_{2PA}^{max} = 705 \text{ nm}$
 $\sigma_2^{max} = 1200 \text{ GM}$

Schéma I.2 : Comparaison des valeurs de σ_2 pour des composés centrosymétriques bis-accepteur (6a) et bis-donneur de forces différentes (6b et 6c).^[27]

I.2.2.b. Influence du pont π -conjugué

Le lien π -conjugué est nécessaire pour faciliter le flux électronique lors du transfert de charge entre les groupements donneurs et accepteurs sus-cités. Quatre facteurs rentrent en compte dans le choix du lien : son caractère donneur ou accepteur, la taille de son système π , sa conformation (rigide ou flexible, plan ou non), et la nature des liens qu'il comporte (alcyne, alcène, etc...).

Le caractère riche ou pauvre en électrons du pont π peut entraîner une très forte augmentation des moments dipolaires. Cet effet a été mis en évidence dans le paragraphe précédent avec l'appauvrissement du cœur du quadrupôle **5** rapporté dans les travaux d'Albota *et al.*^[34]

La longueur de conjugaison influence de manière positive le σ_2 en transférant les électrons sur de plus longues distances, ce qui augmente le moment dipolaire. Le remplacement du noyau phényle dans le quadrupôle **4** (schéma I.3) par un noyau biphenyle (composé **7**) permet par exemple une augmentation de 60% de la section efficace d'absorption.

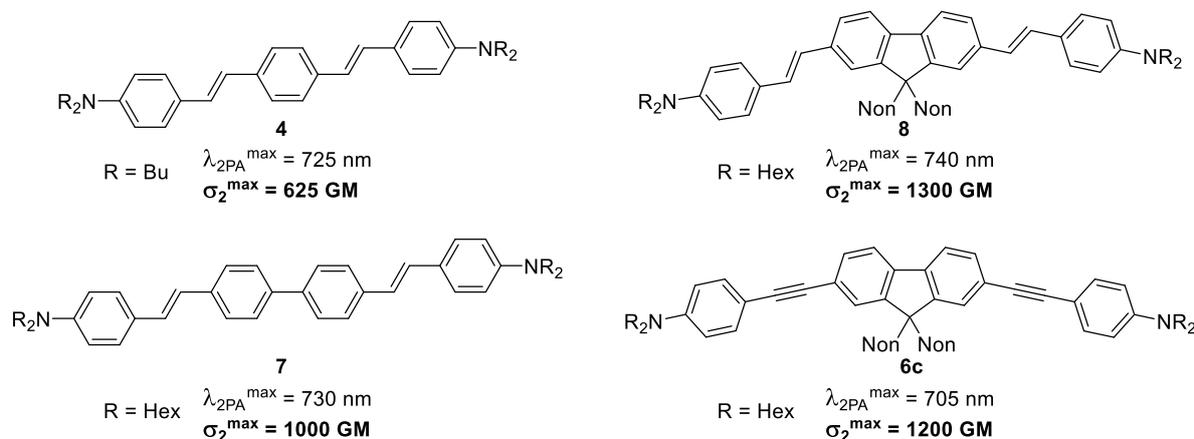


Schéma I.3 : Influence de la taille, planarité, et nature du lien π dans les quadrupôles bis-donneurs **4, **6c**, **7** et **8**.^[27,34]**

Concernant la conformation, le recouvrement orbitalaire étant nécessaire à la conjugaison et donc au transfert de charge, le couplage électronique est optimal lorsque le

système π -conjugué est plan. Pour cela, il est possible de bloquer la rotation du biphenyle dans le composé **7** en le remplaçant par un cœur 2,7-fluorényle pour obtenir le composé **8**, ce qui cause une augmentation supplémentaire de 30% de la valeur de σ_2 . Le fluorène est ainsi un lien très souvent utilisé puisqu'il permet de contraindre la conformation de façon à maximiser la planarité du système π , tout en substituant le carbone benzylique avec des chaînes alkyle pour plus de solubilité. Le cœur dihydrophénanthrène est aussi parfois retrouvé dans cette optique (cf. tableau I.1).

La nature des liaisons reliant les modules conjugués entre eux a également une influence. Le cas des ponts *trans*-vinyliques face aux ponts éthyliques est particulièrement intéressant. De façon générale, le caractère conjugué est moins prononcé dans les triples liaisons que dans les doubles car le recouvrement orbitalaire des carbones d'hybridation sp avec les carbones sp^2 voisins est moins favorable. La comparaison des composés **8** et **6c** montre un effet sur le σ_2 dans ce sens, mais qui garde une proportion limitée. Dans certains cas particuliers, notamment dans des systèmes présentant un très fort encombrement stérique, l'utilisation d'un pont acétylénique plus rigide peut cependant s'avérer extrêmement bénéfique car il permet de figer la conjugaison du chromophore, contrairement à une double liaison qui peut plus aisément tourner et s'écarter du plan. Cet atout a notamment été mis en évidence dans le cas des dimères de porphyrines.^[38,39]

I.2.2.c. Influence de la symétrie et du degré de ramification

La combinaison des éléments mentionnés précédemment dans une structure conjuguée constitue donc un chromophore asymétrique (dipôle : A- π -D) ou symétrique (quadrupôle : A- π -A, D- π -D, A- π -D- π -A, D- π -A- π -D ou octupôle D(- π -A)₃, A(- π -D)₃).^[27,28] Or, comme mis en évidence dans l'équation I.21, la symétrie a une influence prépondérante sur l'intensité des transitions et des phénomènes d'optique non linéaire. La supériorité des systèmes branchés vis-à-vis des dipôles a alors été rapidement confirmée expérimentalement.^[27,28] Pour illustrer simplement l'influence de la symétrie sur l'absorption à deux photons, il suffit de prendre en considération deux chromophores présentant les mêmes groupements donneur D et accepteur A, dont l'un est un dipôle et l'autre agencé de façon quadrupolaire. L'exemple du schéma I.4 permet alors de conclure que le passage du dipôle **9** au quadrupôle équivalent **10** permet de multiplier par un facteur 7 la valeur du σ_2 .

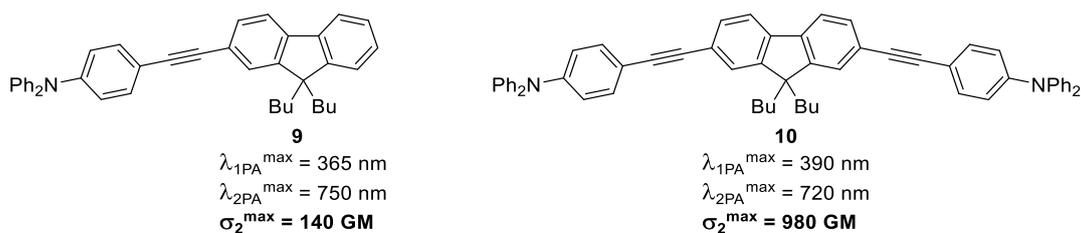


Schéma I.4 : Comparaison des sections efficaces d'absorption et longueurs d'onde d'absorption maximale dans le cas d'un système dipolaire **9** et du système quadrupolaire de force équivalente **10**.^[40]

Il est par ailleurs intéressant de noter que la longueur d'onde de la transition la plus intense en absorption biphotonique est plus haute dans le cas du dipôle que du quadrupôle. L'explication réside dans des considérations de symétrie rendant interdite à deux photons la transition localisée à la longueur d'onde $2 \times \lambda_{1PA}^{\max}$ dans le cas des quadrupôles. Cette transition reste en revanche autorisée dans le cas des dipôles.

Les études se sont par la suite naturellement portées sur les potentiels bénéfiques de systèmes multibranchés. La combinaison de non plus deux, mais trois axes de délocalisation pour le transfert de charge donne naissance à des composés présentant une conjugaison multidirectionnelle appelés octupôles. L'étude théorique et expérimentale de ces objets a rapidement confirmé leur potentiel pour des applications d'optique non-linéaire. La comparaison des valeurs de σ_2 pour les composés quadrupolaire **3**^[33] et octupolaire **11**^[41] met en évidence des effets coopératifs bénéfiques entre les trois axes. En effet, la valeur de section efficace pour le composé **11** est supérieure au triple de la valeur mesurée pour le composé **3**.

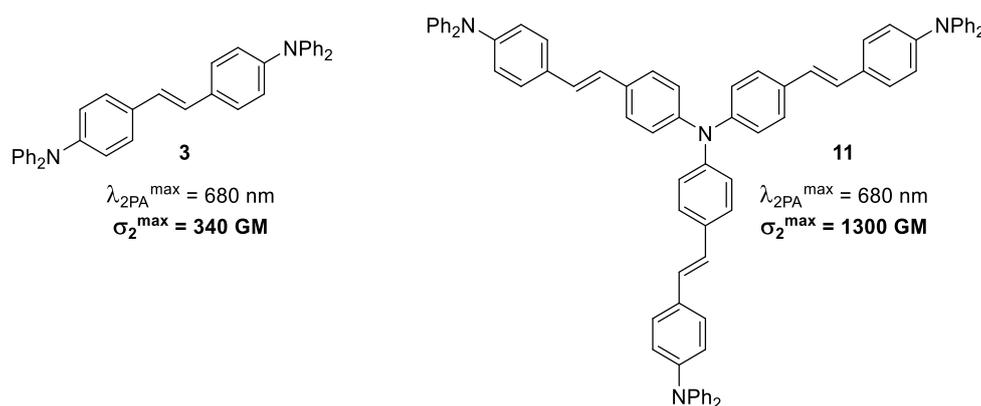


Schéma I.5 : Schéma comparatif du système D- π -D **3**^[33] et du système D(- π -D)₃ **11**^[41] correspondant.

Le modèle théorique décrivant l'absorption à deux photons des composés octupolaires est différent du modèle à trois états, puisqu'il tient compte des couplages excitoniques entre les branches de la molécule.^[42,43] Dans la même logique de conception, en augmentant encore le nombre de chemins de conjugaison dans la molécule, il est possible de cumuler plusieurs

dizaines de dipôles absorbeurs à deux photons dans des structures de type dendritique. Les travaux sur ces composés ont permis d'augmenter sensiblement l'efficacité des chromophores disponibles, en atteignant par exemple 11 000 GM pour le dendrimère conjugué **12** (schéma I.6).^[44] L'efficacité de cette stratégie est cependant limitée par un phénomène de saturation des effets coopératifs qui se ressent généralement au-delà de la deuxième génération. Il faut également noter que ces interactions peuvent aussi être délétères et dégrader la réponse en absorption biphotonique.

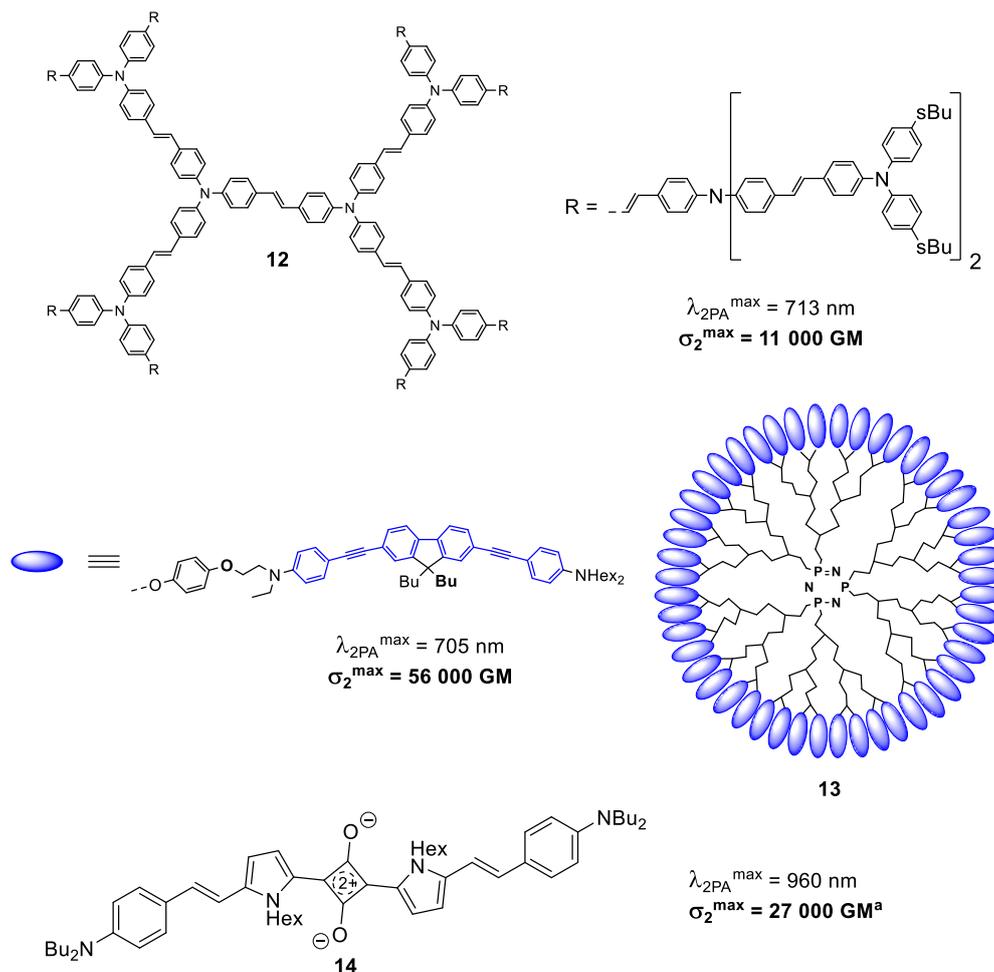


Schéma I.6 : Exemples de chromophores absorbant à deux photons à branches conjuguées (**12**^[44]), à branches non-conjuguées entre elles (dendrimère **13**^[45]) ou centrosymétrique (**14**^[46]) présentant d'importantes valeurs de σ_2 . ^aValeur mesurée par la technique de fs-z-scan.

Pour tirer parti de cet effet cumulatif et coopératif, Mongin *et al.* ont à leur tour proposé une nouvelle stratégie reposant sur l'utilisation d'objets multi-branchés, mais reliés cette fois par un cœur non conjugué ; l'objectif étant de mimer l'effet de confinement des quantum dots (QDs) en utilisant des fluorophores quadrupolaires agencés de façon dendritique.^[45] Dans ce travail, il est démontré que le confinement des chromophores au sein d'architectures

hiérarchisées dont les interactions intramoléculaires sont contrôlées conduit à des nano-objets montrant une brillance record à un et deux photons. La valeur maximale de σ_2 obtenue pour le dendrimère **13** de génération G_4 (55 900 GM à 705 nm) est alors comparable aux ordres de grandeurs obtenus pour les QDs semi-conducteurs qui étaient alors parmi les meilleurs marqueurs luminescents à deux photons. Cette approche présente en outre une grande modularité puisqu'il est possible de tuner les propriétés photophysiques du nano-objets en sélectionnant différents quadrupôles greffables, et de fonctionnaliser la surface du dendrimère, notamment pour des problématiques de solubilité en milieu biologique.^[47]

Les approches pour la création de chromophores absorbeurs à deux photons efficaces sont donc nombreuses. Les systèmes branchés ou confinés basés sur la combinaison de plusieurs chromophores et les potentiels effets coopératifs inter-branches sont des alternatives prometteuses permettant d'aller au-delà de la seule ingénierie moléculaire axée sur le système π -conjugué. Cette dernière reste cependant à la base de tous les progrès rapportés, et l'optimisation de tous les paramètres de l'équation I.21 permet d'atteindre des valeurs impressionnantes de sections efficaces. Le design du quadrupôle **14** a par exemple permis de mettre tous les facteurs dans le bon sens, au niveau de la symétrie et des moments dipolaires, mais aussi d'une énergie de désaccord et d'un facteur d'amortissement très faibles, avec pour résultat une valeur de 27 000 GM pour une molécule relativement accessible synthétiquement et de faible poids moléculaire.

L'implémentation de ces stratégies de conception a permis à de nombreux groupes de recherche de synthétiser des chromophores capables d'atteindre efficacement l'état excité par irradiation à deux photons. L'énergie de l'état excité peut ensuite être utilisée pour différentes applications ; et il faut pour cela s'intéresser aux processus impliqués dans le retour à l'état fondamental, qui s'effectue indépendamment de la technique d'excitation (mono- ou biphotonique). Ceux-ci sont classés principalement en deux catégories : ils peuvent être radiatifs ou non radiatifs, c'est-à-dire avec ou sans émission de photons.

II. Processus de retour à l'état fondamental

II.1. Processus de désexcitation non radiative

Quel que soit le niveau d'énergie atteint lors de l'absorption d'un photon résonnant, l'excès d'énergie est généralement rapidement dissipé jusqu'à l'état vibrationnel de plus basse énergie du niveau électronique occupé $\{S_x ; v_0\}$ (figure I.1, flèche orange en vague). En

solution, cette relaxation vibrationnelle s'effectue par collisions intermoléculaire. La fréquence de ces collisions est suffisante pour que la relaxation se produise très rapidement, sur des durées de 10^{-12} à 10^{-10} secondes.

Si l'état électronique atteint est supérieur à S_1 , il se produit ensuite une conversion interne (IC) iso-énergétique entre le niveau S_x et l'état vibrationnel de S_{x-1} de même multiplicité de spin correspondant, de façon à revenir par relaxations successives jusqu'à l'état excité de plus basse énergie S_1 . Cette dissipation de l'excès d'énergie est illustrée sur la figure I.1 pour l'état S_2 (flèches orange). À de rares exceptions près, tous les processus de retour à l'état fondamental, et en particulier la fluorescence, ont donc lieu une fois l'équilibre atteint à l'état S_1 , à la suite de ces processus de conversion interne et relaxation vibrationnelle non radiative. Cette propriété est appelée la règle de Kasha.

C'est donc depuis l'état S_1 que se produisent généralement les phénomènes de désexcitation consécutifs à l'absorption. En outre, comme indiqué dans les paragraphes précédents, les règles de sélections imposent la conservation du spin durant une transition, c'est-à-dire $\Delta S = 0$. Les transitions entre état singulet et état triplet sont donc théoriquement interdites de spin. Il existe cependant une certaine interaction entre les moments angulaires associés au spin et au mouvement orbitalaire de l'électron. Cette interaction est appelée le couplage spin-orbite, et a pour conséquence que la fonction d'onde d'un état électronique singulet (respectivement triplet) contient toujours une fraction de fonction d'onde d'état triplet (respectivement singulet) :

$$\Psi = \alpha \Psi_S + \beta \Psi_T \quad (\text{Eq. I.22})$$

Cette expression rend effectivement possible un passage de l'état singulet S_1 à l'état triplet T_1 (cf. figure I.1). Cette inversion de spin est appelée croisement inter-système (ISC). Il s'agit d'un processus iso-énergétique de constante de vitesse k_{ISC} , se produisant sur des durées de l'ordre de 10^{-10} s. Il est à noter que l'efficacité de ce processus varie selon la puissance 4 du numéro atomique. Le couplage spin-orbite est donc généralement favorisé par la présence d'atomes « lourds » (brome, iode, métaux lourds...) sur la molécule ou dans l'environnement, pour lesquelles des transitions de type $\Delta S = \pm 1$ deviennent partiellement ou même fortement autorisées.

Depuis l'état excité S_1 (ou T_1 le cas échéant), l'état fondamental peut être atteint de plusieurs façons. Ainsi, l'énergie peut être dissipée par conversion interne et relaxation non radiative jusqu'à S_0 . Or, le recouvrement entre les fonctions d'onde vibrationnelles des états électroniques mis en jeu augmente rapidement lorsque le gap énergétique diminue. Il en résulte que le processus de désexcitation vibrationnelle non radiative sera plus efficace lorsque les états électroniques sont énergétiquement proches. Au contraire, lorsque le gap énergétique est plus grand, les processus radiatifs, c'est-à-dire de désexcitation avec émission d'un photon, seront favorisés.

II.2. Désexcitation radiative : fluorescence et phosphorescence

Lorsque le retour à l'état fondamental est accompagné d'une émission lumineuse, on parle de photoluminescence. On distingue alors la fluorescence qui se produit depuis un état singulet, de la phosphorescence depuis un état triplet.

La relaxation radiative spontanée depuis un état singulet, ou fluorescence, est un phénomène observé couramment dans les molécules aromatiques. Un chromophore aromatique présentant la capacité d'émettre un photon $h\nu_{em}$ depuis l'état excité est ainsi appelé fluorophore. Il s'agit d'un phénomène photophysique présentant une très grande sensibilité, notamment au niveau des effets d'environnement et de la détection, et c'est pourquoi elle a donné naissance à tant de techniques d'analyses et d'imagerie.

La phosphorescence, quant à elle, est issue d'une relaxation $T_1 \rightarrow S_0$ et il s'agit d'une transition interdite qui ne peut être observée que grâce au couplage spin-orbite. Sa constante de vitesse k^T_r (cf. figure I.1) est donc très faible et le processus très lent, avec une luminescence observable sur des durées de 10^{-6} s à parfois plusieurs dizaines de secondes. En effet, de façon générale lorsque l'électron se retrouve dans un état triplet, ses possibilités de retour à l'état fondamental sont en majorité des transitions interdites de spin cinétiquement défavorisées, ce qui augmente la durée de vie de T_1 . Dans la majorité des cas cependant, la désexcitation depuis l'état triplet se produira par collisions moléculaires, ce qui conduit notamment à des phénomènes tels que la génération d'oxygène singulet.^[48-50] On notera enfin que le niveau d'énergie d'un état triplet est intrinsèquement inférieur à celui de l'état singulet correspondant, ce qui augmente la longueur d'onde du photon émis lors du processus de phosphorescence par rapport à l'émission de fluorescence.

La suite de ce paragraphe se focalisera sur l'émission de fluorescence, qui est, directement ou indirectement, un concept crucial à appréhender et quantifier parmi les propriétés photophysiques des chromophores qui seront étudiés dans ce manuscrit.

La fluorescence implique ainsi une transition $S_1 \rightarrow S_0$ autorisée de spin (figure I.1, flèche verte), ce qui rend le phénomène relativement rapide. Si l'émission de lumière en elle-même s'effectue toujours sur une durée de l'ordre du femtoseconde, la durée de vie de l'état excité S_1 se compte généralement en nanosecondes. Elle est ainsi régie par plusieurs principes généraux, également illustrés sur la figure I.10 :

- (i) *Règle de Kasha.* Cette règle, présentée dans le paragraphe précédent, stipule qu'un chromophore excité jusqu'à un niveau vibronique quelconque relaxe rapidement de façon non radiative jusqu'au niveau électronique de plus basse énergie S_1 . La conséquence de cette règle sur la fluorescence est que, quelle que soit la longueur d'onde du faisceau d'excitation utilisée, l'allure du spectre d'émission d'un fluorophore sera toujours la même et correspondra à la transition $S_1 \rightarrow S_0$.
- (ii) *Règle de l'image miroir.* Le principe de Franck-Condon implique que la transition électronique n'affecte pas grandement les positions des noyaux dans la molécule. L'énergie entre niveaux vibrationnels étant alors sensiblement la même quel que soit l'état électronique, et les mêmes transitions étant mises en jeu, il en découle que le spectre de fluorescence sera dans la majorité des cas l'image miroir de la bande $S_0 \rightarrow S_1$ observée sur le spectre d'absorption.
- (iii) *Règle de Stokes.* La transition $S_1 \rightarrow S_0$, bien que théoriquement de même énergie que $S_0 \rightarrow S_1$, est toujours observée à plus haute longueur d'onde si l'on compare les spectres d'absorption et d'émission d'un composé. Cet écart s'explique par la dissipation d'énergie par relaxation vibrationnelle ayant lieu entre le processus d'excitation et l'émission, ainsi que le retour à un état vibrationnel supérieur à $\{S_0; v_0\}$ (figure I.1, flèche verte). L'écart entre le maximum d'absorption et d'émission, généralement exprimé en nombre d'onde (cm^{-1}), est appelé déplacement des Stokes (*Stokes shift*). En pratique, à température ambiante, les spectres d'absorption et d'émission se recouvrent partiellement à cause de la population partielle des états vibrationnels v_x ($x > 0$) dans l'état fondamental et l'état excité, ce qui a pour conséquence d'augmenter la longueur d'onde d'absorption, et de

diminuer la longueur d'onde d'émission. Ce chevauchement devrait alors disparaître à basse température.

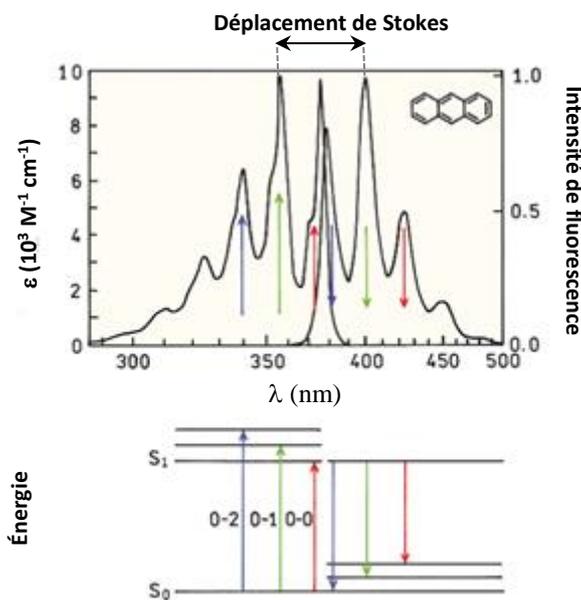


Figure I.10 : Exemple de spectres d'absorption et d'émission de l'anthracène, illustrant la règle de l'image miroir, la structure en raies, et le déplacement de Stokes. Les chiffres 0, 1 et 2 correspondent aux niveaux d'énergie vibrationnelle. Reproduit et traduit de la référence [51].

Comme observé sur la figure I.10 et discuté dans la section I.1, le spectre d'absorption est sujet à un élargissement homogène de bande lié à la succession, plus ou moins continue et définie, des sous-états vibrationnels au sein d'un niveau électronique. À cela s'ajoute un élargissement inhomogène lié à l'interaction avec le milieu environnant. Le spectre d'émission, image miroir de la transition $S_0 \rightarrow S_1$, est aussi sujet à ces phénomènes d'élargissement, et souvent beaucoup plus sensible aux effets d'environnement. En outre, il est possible par spectroscopie de fluorescence d'estimer le comportement émissif d'un composé dans un environnement donné, et surtout sa capacité d'émission. Cette valeur quantifiée, appelée rendement quantique de fluorescence, donne accès à un critère de comparaison entre chromophores.

II.2.1. Rendement quantique et temps de vie de fluorescence

L'efficacité d'émission de fluorescence d'un chromophore est une donnée essentielle. En effet, en considérant que la phosphorescence est un phénomène rarement observé, la définition d'une valeur quantifiée d'efficacité de fluorescence donne accès à la seule constante de désexcitation radiative k_r^S , et par extension à l'importance relative des processus non radiatifs compétitifs régis par une constante k_{nr}^S . En effet, en considérant une solution diluée de fluorophores A, excités dans un état singulet par un faisceau lumineux, il est possible

d'exprimer la loi de vitesse de retour à l'état fondamental en fonction de la concentration en fluorophore excité $[^1A^*]$ et de ces deux constantes de vitesse :

$$-\frac{d[^1A^*]}{dt} = (k_r^S + k_{nr}^S)[^1A^*] \quad (\text{Eq. I.23})$$

L'intégration de cette relation donne accès à une loi de décroissance exponentielle du type :

$$[^1A^*] = [^1A^*]_0 e^{-(k_r^S + k_{nr}^S)t} = [^1A^*]_0 e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (\text{Eq. I.24})$$

Où $[^1A^*]_0$ est la concentration initiale en fluorophore excité à l'état singulet, et dans lequel le paramètre τ est la constante de temps de cette décroissance exponentielle. Ce paramètre est appelé temps de vie de fluorescence et détermine donc la durée moyenne que le chromophore passe dans l'état excité, et pendant lequel il peut interagir avec son environnement. Le temps de vie de fluorescence τ est généralement exprimé en ns. Comme déduit de l'équation I.24, il est exprimé en fonction des constantes de vitesse k_r^S et k_{nr}^S :

$$\tau = \frac{1}{k_{nr}^S + k_r^S} \quad (\text{Eq. I.25})$$

Sur toute cette durée de vie, un certain nombre de photons sera émis. Ce nombre de photons émis peut être rapporté au nombre total de photons absorbés par le composé ; ce qui correspond à la somme des processus radiatifs et non radiatifs k_r^S et k_{nr}^S . Ce ratio permet d'évaluer l'efficacité d'émission du composé est appelé rendement quantique de fluorescence Φ_f :

$$\Phi_f = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S} = \tau \times k_r^S \quad (\text{Eq. I.26})$$

Ainsi, si $k_r^S \gg k_{nr}^S$, Φ_f sera proche de l'unité, et le composé sera très fluorescent. Si à l'inverse $k_r^S \ll k_{nr}^S$, Φ_f sera proche de zéro et le composé sera peu fluorescent. Le rendement quantique étant directement lié à la constante de vitesse, il est aussi par extension lié au temps de vie de fluorescence τ (Eq. I.26).

Les temps de vie et rendements quantiques de fluorescence sont des données accessibles expérimentalement, ce qui permet de remonter aux valeurs des constantes de vitesse impliquées. En pratique, le rendement quantique de fluorescence peut être mesuré de façon relative ou absolue. Les mesures de Φ_f effectuées dans le cadre de ce manuscrit ont toutes été effectuées de façon relative, en comparaison avec une référence tabulée, et déterminée à l'aide de l'équation suivante :

$$\Phi_f^{ech} = \Phi_f^{ref} \times \left(\frac{n^{ech}}{n^{ref}} \right)^2 \times \frac{1 - 10^{-A^{ref}(\lambda_{exc})}}{1 - 10^{-A^{ech}(\lambda_{exc})}} \times \frac{\int_0^{\infty} I_f^{ech}(\lambda_{exc}, \lambda_f) d\lambda_f}{\int_0^{\infty} I_f^{ref}(\lambda_{exc}, \lambda_f) d\lambda_f} \quad (\text{Eq. I.27})$$

Où les indices *ref* et *ech* traduisent respectivement une valeur relative à la référence, ou à l'échantillon de fluorophore à mesurer, n est l'indice de réfraction du solvant utilisé, $A(\lambda_{exc})$ l'absorbance à la longueur d'onde d'excitation utilisée, et $I_f(\lambda_{exc}, \lambda_f)$ l'intensité de fluorescence collectée sur la fenêtre spectrale étudiée et à la longueur d'onde d'excitation utilisée. Le terme central de l'équation I.27 correspond au rapport des facteurs d'absorption, indiquant dans chaque cas la fraction de lumière absorbée par le chromophore. Le terme de droite correspond lui au rapport des intégrales des spectres d'émission, c'est-à-dire au flux de photons total détecté sur la fenêtre étudiée.

De nombreux fluorophores sont tabulés en tant que standard,^[52] mais les plus courants restent la fluorescéine (FLSCN), la Rhodamine 6G (R6G) et la Quinine Bisulfate (QBS). Le choix du standard s'effectue de façon à faire concorder autant que possible les zones spectrales d'absorption, d'émission, ainsi que la valeur du rendement quantique du composé mesuré avec celles de la référence. Ainsi, à cause des effets d'environnement, le choix du standard sera parfois modulé en fonction du solvant d'étude.

La notion de rendement quantique peut être élargie à d'autres phénomènes photophysiques comme le transfert d'énergie, la photolibération de molécules bioactives etc., auquel cas, de la même manière, on regardera la constante de vitesse du phénomène étudié par rapport à la somme de tous les processus mis en compétition. Intuitivement, pour des applications d'imagerie, on cherchera à élaborer des objets avec un Φ_f important. Au contraire, pour les applications de photodélivrance qui seront étudiées par la suite, la fluorescence deviendra un processus compétitif, et un Φ_f important sera plutôt défavorable (cf. paragraphes II.4 et III).

II.2.2. Effet d'environnement et solvatochromie ^[7,53,54]

La nature du nano-environnement autour d'un chromophore peut profondément modifier son comportement en absorption et en émission. Ces effets peuvent être liés à la polarité du solvant, au confinement au sein d'un agrégat de molécules, aux interactions covalentes ou non-covalentes avec une macromolécule etc... Un fluorophore peut ainsi devenir une véritable sonde de l'environnement dans lequel il se tient. L'effet le plus souvent rencontré est la modification du spectre d'absorption et d'émission d'un composé en fonction de la constante diélectrique et de la polarité du solvant. Ce phénomène est appelé la solvatochromie, et on parlera de composé solvatochrome.

Dans un composé solvatochrome, les moments dipolaires du chromophore à l'état fondamental μ et à l'état excité μ^* sont différents. Lorsque le chromophore est en solution, il se produit une interaction solvant-soluté entre dipôles et dipôles, ou dipôles induits. L'effet électrostatique des molécules de solvant autour du chromophore peut alors, selon leur polarisabilité, affecter fortement les niveaux énergétiques en les abaissant ou en les montant. Le gap énergétique en absorption et en émission est alors modifié, ce qui entraîne un décalage en longueur d'onde des spectres correspondants. On parlera alors de déplacement bathochrome pour un décalage vers le rouge, et hypsochrome pour un décalage vers le bleu.

Si le moment dipolaire de la molécule augmente lors de l'excitation ($\mu^* > \mu$, cf. figure I.11), comme c'est généralement le cas dans les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$, alors l'état excité sera stabilisé par la présence d'un fort moment dipolaire autour de lui. L'augmentation de la polarité du milieu entrainera alors un décalage bathochrome. Dans ce cas, l'effet est appelé solvatochromie positive, et l'ampleur de ce changement dépend de la variation du moment dipolaire au cours le processus d'excitation. Dans le cas contraire où le chromophore présente un fort dipôle à l'état fondamental, et une atténuation de celui-ci à l'état excité, l'utilisation d'un solvant polaire stabilisera l'état fondamental, ce qui entrainera un décalage hypsochrome et une solvatochromie négative. Cet effet est souvent observé dans le cas de transitions $n \rightarrow \pi^*$, qui seront aussi sujettes à d'autres effets d'environnement tels que la présence de liaisons hydrogènes.

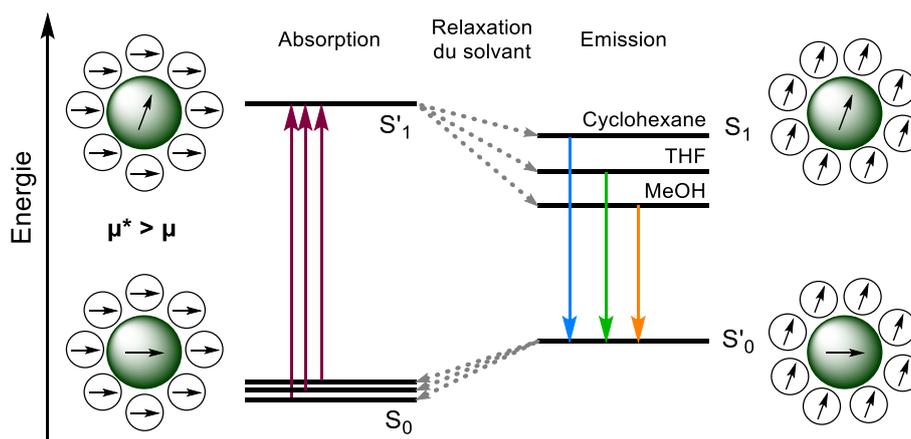


Figure I.11 : Diagramme d'énergie représentant la réorganisation des dipôles des molécules de solvant autour d'un chromophore en solution à l'état fondamental et à l'état excité, et leur effet sur les niveaux d'énergie correspondants.

Le comportement d'un chromophore en solution est régi par les forces électrostatiques qui l'entourent, mais aussi par la cinétique avec laquelle elles s'organisent autour de lui. En effet, en prenant l'exemple d'une solvatochromie positive (figure I.11), lorsque le chromophore se trouve à l'équilibre, les dipôles du solvant vont s'organiser autour de lui de la façon la plus favorable, stabilisant ainsi l'état fondamental. Le processus d'excitation étant cependant bien plus rapide que les mouvements des noyaux ($10^{-15} \text{ s} < 10^{-9} \text{ s}$), le chromophore va d'abord être excité « verticalement », sans mouvement des dipôles qui l'entourent, vers un état S'_1 appelé état Franck-Condon. Ce n'est qu'à la suite du processus d'absorption que les molécules de solvant vont se réarranger de façon à stabiliser l'état excité et l'abaisser en énergie, à condition que le temps de vie de l'état excité soit suffisamment important. La même séquence se produira ensuite pour la relaxation radiative, qui aura lieu dans un premier temps vers un état S'_0 plus haut en énergie. Cette succession de réarrangements explique pourquoi dans la majorité des cas la solvatochromie a un caractère significativement plus prononcé sur les spectres d'émission que sur les spectres d'absorption. Il faut noter que ces cinétiques de mouvement peuvent être grandement impactées par plusieurs paramètres, dont la viscosité du milieu qui peut induire des effets environnementaux additionnels.

La solvatochromie, et les effets d'environnement en général, seront donc des phénomènes à prendre en compte lors des études photophysiques des composés synthétisés, notamment pour des applications en milieux aqueux, ou milieux biologiques complexes.

II.3. Quenching d'état excité et transfert d'énergie ^[3,5,6,57]

L'interaction d'un chromophore M avec le milieu qui l'entoure implique également que l'état excité puisse être désactivé par la présence de molécules agissant comme « piège » à

énergie et entraînant un retour à l'état fondamental plus rapide. La présence d'une telle molécule dans le milieu entraîne alors une compétition entre les désexcitations k_r et k_{nr} intrinsèques au chromophore M, et le processus d'interaction entre les deux composants. La conséquence de cette interaction est généralement une accélération de la constante de vitesse apparente de désexcitation, une diminution du temps de vie ainsi que de l'intensité de fluorescence du fluorophore M étudié, auquel cas on parlera d'extinction (ou « quenching ») de fluorescence.

Il existe plusieurs types de quenching d'état excité, et il convient d'effectuer la distinction entre les phénomènes à courte et longue distance qui impliquent des mécanismes différents.

II.3.1. Quenching et interactions à courte distance

Dans le premier cas, la distance entre M^* et le « quendeur » doit être suffisamment faible pour causer un recouvrement entre les orbitales moléculaires mises en jeu. Trois types de mécanismes d'extinction à courte distance ont été principalement identifiés :

- (i) L'extinction par croisement intersystème
- (ii) L'échange d'électrons à courte distance (mécanisme d'interaction de Dexter^[53])
- (iii) Le transfert d'électrons photo-induit

Il est supposé que la rencontre avec des espèces chimiques comportant des atomes lourds,^[54-56] ou des espèces paramagnétiques,^[57,58] peut par collision, entraîner une perturbation du couplage spin-orbite et un croisement intersystème. L'état triplet consécutif étant de plus longue durée de vie et plus bas en énergie, il est d'autant plus susceptible d'être désactivé par relaxation non radiative ou par une seconde rencontre avec le quendeur qui capte alors son énergie et passe à son tour à l'état excité. Le paramagnétisme de l'oxygène, qui lui confère un triplet de spin à l'état fondamental, en fait par exemple un potentiel quendeur pour les fluorophores en solution. Sa particularité réside en outre dans le caractère très réactif de son état excité singulet, qui est à la base de la technique de thérapie photodynamique^[48] dans laquelle le quenching n'est plus un phénomène parasite mais est au contraire mis à profit pour engendrer la mort cellulaire.

L'échange d'électrons par interaction de Dexter^[53] est un échange d'énergie induit par le transfert concerté d'un électron entre l'état excité du chromophore considéré (appelé

donneur) et la LUMO du quencheur (appelé accepteur), accompagné d'un transfert inverse entre la HOMO du quencheur et celle du donneur qui regagne ainsi son état fondamental (figure I.12). L'efficacité de ce transfert repose sur le recouvrement des fonctions d'onde du donneur et de l'accepteur, et décroît de façon exponentielle avec la distance entre donneur et accepteur.^[53,59] Ces conditions impliquent que le mécanisme de Dexter est typiquement observé pour des paires donneur-accepteur séparées de seulement quelques angströms.

Dans le cas du phénomène de transfert d'électrons photo-induit, l'échange d'électrons inverse n'est pas concomitant, et il se forme une paire donneur-accepteur $[D^+ A^-]^*$ appelé complexe de transfert de charge (figure I.12) d'énergie inférieure. Le chromophore dans son état excité M^* peut cette fois servir de donneur ou d'accepteur, selon les potentiels d'oxydo-réduction des états électroniques mis en jeu. Le complexe de transfert de charge peut ensuite se dissocier, donnant lieu par exemple à des réactions chimiques, ou bien se recombiner (de façon radiative ou non). Les processus de transferts d'électrons sont rencontrés à de nombreuses reprises dans la nature et la vie courante, de la photosynthèse à la technologie de panneaux solaires.^[60,61]

Ces processus à courte distances sont fortement dépendants de la probabilité de rencontrer un quencheur à une distance adéquate (de l'ordre de quelques angströms), et donc régis par des paramètres tels que la concentration, la durée de vie de l'état excité, la diffusion et la viscosité du milieu.

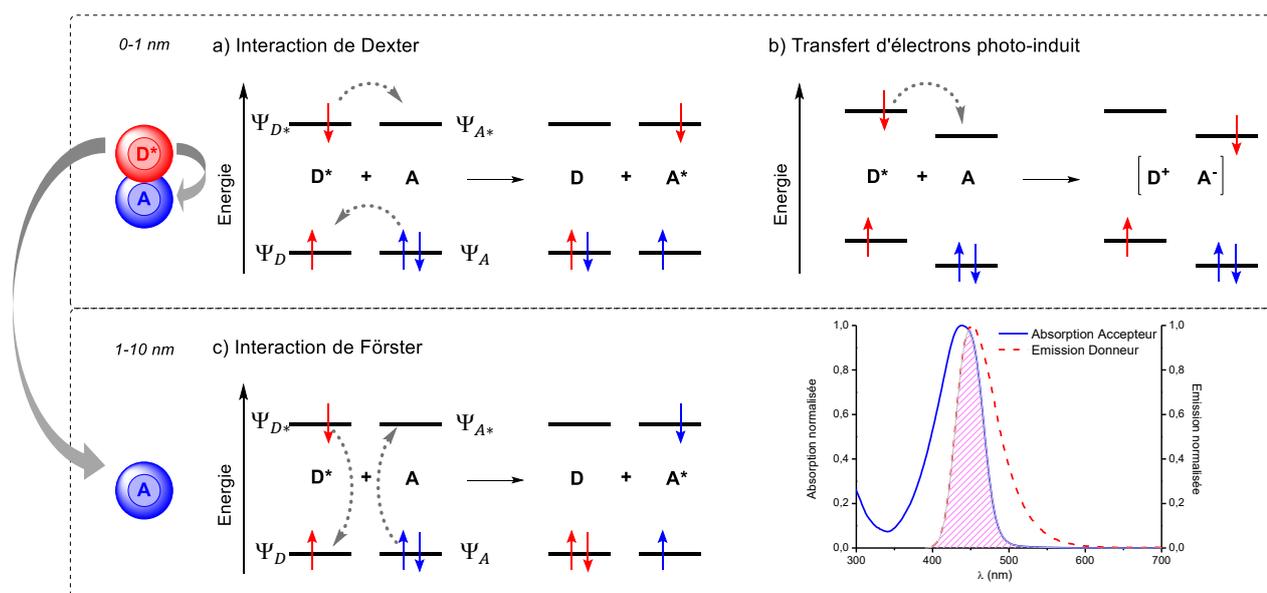


Figure I.12 : Diagrammes d'énergie simplifiés représentant les interactions à courte distance impliquant un recouvrement orbitalaire (a et b) et à longue distance impliquant une interaction dipole-dipole (c).

II.3.2. Transfert d'énergie résonant à longue distance^[7,51,62-64]

L'énergie de l'état excité d'un chromophore peut également être échangée avec une autre molécule (échange intermoléculaire) ou une autre partie de molécule (intramoléculaire) sans contact physique, et à des distances significativement plus importantes, par le processus communément appelé transfert d'énergie par résonance, ou FRET (Förster Resonance Energy Transfer) du nom de Theodor Förster qui fut le premier à étudier ce phénomène en phase condensée.^[62] Au cours du transfert, l'électron d'un chromophore donneur à l'état excité D^* retourne dans son orbitale de l'état fondamental sur D . L'énergie échangée avec l'accepteur A permet simultanément l'excitation d'un de ses électrons vers le niveau excité A^* (figure I.12). Cet échange est permis par le couplage des moments dipolaires de transition du donneur et de l'accepteur à travers l'espace ; ce qui équivaut à traiter le dipôle de l'accepteur comme un oscillateur capable de procéder à un échange énergétique lorsqu'il entre en résonance avec un second dipôle orienté de façon parallèle et oscillant à une fréquence similaire. Cet échange se produit de façon iso-énergétique, ce qui implique un recouvrement entre le spectre d'émission du donneur et le spectre d'absorption de l'accepteur ; l'échange procédant de façon non radiative, c'est-à-dire sans émission intermédiaire d'un photon de la part du donneur.

En considérant les deux électrons impliqués dans les transitions illustrées sur la figure I.12, il est possible de décrire l'interaction entre les états électroniques initiaux et finaux par une matrice U contenant leurs fonctions d'ondes Ψ_i et Ψ_f ainsi qu'un opérateur V , partie de l'Hamiltonien total traduisant la perturbation subie :

$$U = \langle \Psi_i | V | \Psi_f \rangle \quad (\text{Eq. I.28})$$

$$= \langle \Psi_{D^*}(1)\Psi_A(2) | V | \Psi_D(1)\Psi_{A^*}(2) \rangle - \langle \Psi_{D^*}(1)\Psi_A(2) | V | \Psi_D(2)\Psi_{A^*}(1) \rangle$$

Cette matrice peut être décomposée en deux termes. Le premier traduit une interaction dans laquelle l'électron 1 appartenant à D^* reste sur le donneur, tandis que l'électron 2 de A passe dans l'état excité A^* . Intuitivement, ce premier terme décrit donc le phénomène de FRET, dont l'interaction est dite Coulombienne. Le second terme indique une interaction dans laquelle les électrons sont transférés simultanément du donneur à l'accepteur et inversement, ce qui correspond au mécanisme de Dexter.

Le transfert d'énergie étant proportionnel à la force d'oscillateur des transitions électroniques $D \rightarrow D^*$ et $A \rightarrow A^*$ précédentes, il est possible d'exprimer le terme d'interaction

Coulombienne en fonction des moments dipolaires de transition, en supposant que l'interaction dipole-dipole est prépondérante :

$$U_{dd} \approx \frac{M_D \cdot M_A}{r^3} - 3 \frac{(M_A \cdot r)(M_D \cdot r)}{r^5} \quad (\text{Eq. I.29})$$

$$= 5.04 \frac{|M_D||M_A|}{r^3} (\cos \theta_{DA} - 3 \cos \theta_D \cos \theta_A)$$

Où l'énergie d'interaction dipole-dipole U_{dd} est exprimée en cm^{-1} , M_D et M_A sont les moments dipolaires de transition exprimés en Debye, r la distance donneur-accepteur en nm, θ_D et θ_A les angles entre le moment dipolaire considéré et le vecteur reliant les origines de chaque vecteur, et θ_{DA} l'angle global entre les moments dipolaires de transition de l'émission du donneur et de l'absorption de l'accepteur. On introduit dès lors le terme κ^2 , appelé facteur d'orientation, qui traduit l'orientation des moments dipolaires transitoires l'un par rapport à l'autre :

$$\kappa^2 = \cos \theta_{DA} - 3 \cos \theta_D \cos \theta_A \quad (\text{Eq. I.30})$$

Ce terme peut prendre des valeurs comprises entre 0 (vecteurs orthogonaux) et 4 (pour des vecteurs colinéaires), mais pour le cas général d'une libre rotation dans un milieu isotrope, il est moyenné à une valeur de 2/3.

Pour traduire l'efficacité du transfert d'énergie en fonction de ces paramètres de proximité r et d'orientation κ^2 , une constante de vitesse k_{FRET} peut être définie. En utilisant l'équation I.29 et la règle d'or de Fermi, qui permet de déterminer les probabilités des transitions par unité de temps, l'expression de la constante de vitesse du transfert d'énergie devient :

$$k_{FRET} = \frac{1}{\tau_D r^6} \left[\frac{9000 \ln(10)}{128 \pi^5 N_A} \left(\frac{\kappa^2 \Phi_D}{n^4} \int_0^\infty F_\lambda(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda \right) \right] \quad (\text{Eq. I.31})$$

$$k_{FRET} = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (\text{Eq. I.32})$$

Dans laquelle on retrouve τ_D et Φ_D , respectivement le temps de vie et rendement quantique d'émission du donneur en l'absence d'accepteur, N_A le nombre d'Avogadro, n l'indice de réfraction du milieu. L'intégrale $\int_0^\infty F_\lambda(\lambda)\varepsilon(\lambda)\lambda^4 d\lambda$ correspond au degré de recouvrement spectral entre l'émission du donneur et l'absorption de l'accepteur ; $F_\lambda(\lambda)$ étant l'intensité de fluorescence sur la zone spectrale étudiée dont l'aire est normalisée à 1, et $\varepsilon_A(\lambda)$ le coefficient d'extinction molaire de l'accepteur. Le terme R_0 est appelé rayon de Förster, et correspond à la distance pour laquelle 50% d'énergie est transférée de D^* à A , et les 50% restants sont restitués par les processus radiatifs et non-radiatifs habituels. Le rayon de Förster est un paramètre couramment déterminé avec les données photophysiques mesurées expérimentalement. En exprimant λ en nm et $F_\lambda(\lambda)$ en $M^{-1}cm^{-1}nm^4$, R_0 est obtenu en Å selon l'expression simplifiée :

$$R_0 = 0,2108 \sqrt[6]{\kappa^2 \Phi_D n^{-4} \int_0^\infty F_\lambda(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda} \quad (\text{Eq. I.33})$$

Les facteurs influençant l'efficacité de FRET peuvent donc être résumés à partir des expressions I.32 et I.33. Le transfert d'énergie est ainsi dépendant de :

- (i) *L'orientation des moments dipolaires de transition* (κ^2). Le FRET sera plus efficace pour des vecteurs colinéaires. Ce paramètre étant difficile à contrôler, une valeur moyenne de 2/3 est généralement utilisée pour une orientation aléatoire en solution.
- (ii) *La distance entre donneur et accepteur* (r). L'expression I.32 indique en effet une dépendance en $1/r^6$ pour le FRET, dont l'efficacité décroît rapidement lorsque la distance dépasse la valeur du rayon de Förster. Le phénomène est généralement observé sur des distances comprises entre 10 et 100 Å.
- (iii) *Le recouvrement spectral* $\int_0^\infty F_\lambda(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda$. Plus le recouvrement entre le spectre d'absorption de l'accepteur et l'émission du donneur est important, plus le transfert sera efficace. À cela s'ajoute la nécessité d'avoir un donneur fortement fluorescent, illustrée par la présence du rendement quantique d'émission du donneur seul Φ_D dans les équations.

Ainsi, pour une paire donneur-accepteur donnée, l'efficacité du transfert d'énergie dictée par l'ensemble des paramètres précédents est définie comme la fraction de photons absorbés par le donneur transférés à l'accepteur. En pratique elle peut être mesurée en

déterminant le taux d'extinction de fluorescence en présence de l'accepteur par rapport à la fluorescence du donneur seul dans les mêmes conditions. Ce point sera développé dans le chapitre III.

Le FRET trouve de nombreuses applications dans les systèmes macromoléculaires et biologiques.^[63-67] Sa forte dépendance vis-à-vis de la distance donneur-accepteur^[68] est par exemple largement utilisée pour obtenir des informations dynamiques et structurales sur les protéines en les associant de façon covalente ou non-covalente avec des fluorophores. Avec une ingénierie moléculaire appropriée, il est également possible d'utiliser des fluorophores comme photosensibilisateurs dans le but d'améliorer l'efficacité d'excitation d'un chromophore accepteur.^[69-71] C'est cet aspect qui sera développé dans les chapitres suivants de ce manuscrit.

II.4. Photochimie ^[6,79,80]

Dans certains composés, l'augmentation d'énergie libre liée au passage à l'état excité peut être suffisante pour favoriser thermodynamiquement des réactions chimiques. La réaction de formation d'un produit potentiel, qui aurait une barrière énergétique trop haute à franchir à partir de l'état fondamental à température ambiante, est alors susceptible de se produire spontanément à partir d'un état excité plus haut en énergie. La rupture d'une liaison C-O, possédant une énergie d'environ 360 kJ.mol⁻¹, est impossible à température ambiante. Un photon de lumière ultraviolette permet en revanche d'emmagasiner une énergie d'environ 400 kJ.mol⁻¹ à 250 nm, suffisante pour causer des mouvements d'électrons et le clivage de liaisons.

La répartition électronique de l'état excité est en outre différente de celle de l'état fondamental, ce qui a une influence considérable sur la réactivité du chromophore. Les transitions $n \rightarrow \pi^*$ observées lors de l'excitation de carbonyles ou de nitroaryles sont souvent responsables d'une diminution de la polarisation des liaisons et de la génération de radicaux sur l'atome d'oxygène. La réactivité de l'état excité correspondant est donc radicalement différente de celle de l'état fondamental.

Les considérations thermodynamiques ne sont pas suffisantes pour déterminer l'éventualité d'une réaction photochimique. La constante de vitesse associée à cette réaction se retrouve en effet en compétition avec toutes les autres constantes k_r et k_{nr} mentionnées jusqu'ici. La photochimie ne sera un processus favorable que si elle est d'un ordre de grandeur adéquat pour concurrencer les autres phénomènes. Cette propriété fait partie des deux règles fondamentales de la photochimie :

- (i) *Règle de Grotthus-Drapper* : pour qu'une réaction photochimique ait lieu, il faut que la lumière soit absorbée par l'échantillon.
- (ii) *Règle de Stark-Einstein* : chaque photon de lumière absorbé ne peut occasionner de photochimie qu'au maximum sur une seule molécule. L'efficacité de la réaction étudiée est alors définie par un rendement quantique Φ_{chem} qui indique le ratio du nombre de photons ayant engendré la réaction par rapport au nombre total de photons absorbés.

L'ionisation, la dissociation et l'isomérisation sont les trois réactions unimoléculaires possibles après absorption d'un photon. L'ionisation, processus différent du transfert d'électrons photo-induit, nécessite une excitation suffisamment énergétique pour provoquer l'éjection d'électrons, et est limitée à des cas très particuliers.

La dissociation est un phénomène assez courant pour les petites molécules comportant une liaisons fragile, telle que les peroxydes. Dans ce cas, la liaison se clive de façon homolytique, et peut par la suite entraîner une cascade radicalaire, par exemple pour l'amorçage de polymérisations. La réactivité radicalaire n'est cependant pas la seule à être observée, et la nature de son état excité influencera le type de réaction observé. Dans un autre type d'application, la dissociation de composés par photochimie peut être exploitée *via* l'utilisation de groupements protecteurs clivables par irradiation lumineuse. Cette pratique est utilisée, entre autres (cf. paragraphe III), en synthèse organique, où le groupement protecteur photolabile (PPG) *o*-nitrobenzyle permet de déprotéger différentes fonctions chimiques (alcool, phénol, acides, amines...) dans des conditions douces et orthogonalement aux autres groupements protecteurs.

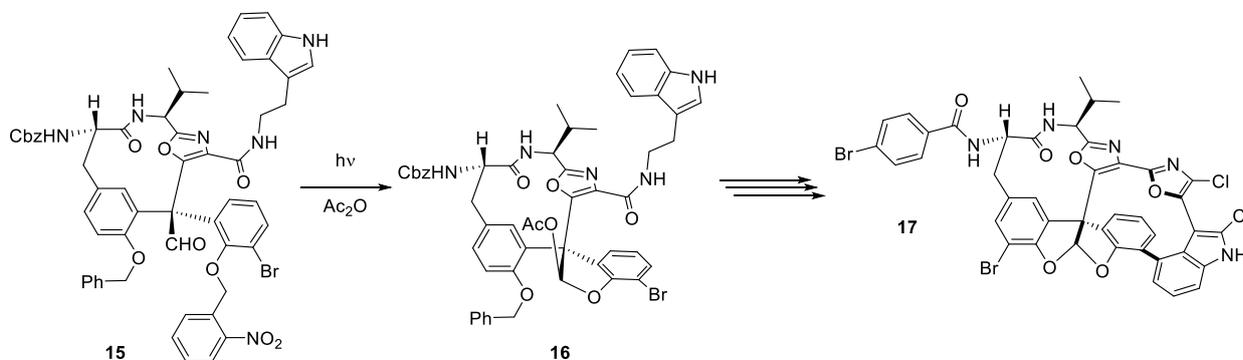


Schéma I.7 : Étape de déprotection par irradiation lumineuse du composé 15, suivie d'une cyclisation avec acétylation *in-situ*, utilisée lors de la synthèse totale du composé 17.^[72]

Une étape de déprotection lumineuse a par exemple été utilisée par Li *et al.* dans la synthèse totale du composé **17**,^[72] synthétisé dans le cadre de l'élucidation de la structure naturelle du (-)-Diazonamide A (schéma I.7).

Suite à la rupture d'une liaison dans l'état excité, il peut s'en suivre une recombinaison entraînant une isomérisation de la molécule. Cette classe de réaction est très courante, et donne souvent accès à des propriétés physiques ou chimiques différentes du produit de départ par simple irradiation lumineuse. La réaction la plus simple de cette catégorie est l'isomérisation *cis-trans*, qui a lieu par exemple dans la rétine au cours du processus de vision. En effet, par action de la lumière collectée par les cellules photo-réceptrices de la rétine, le 11-*cis*-rétinal (**18-cis**) s'isomérisé en *trans*-rétinal (**18-trans**), qui se détache des pigments protéiques de la rétine (Rhodopsines), provoquant une cascade de messagers biochimiques jusque dans les neurones.^[73]

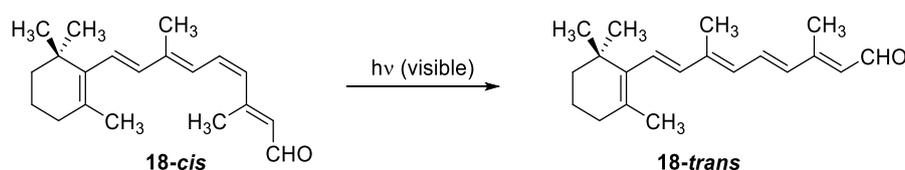


Schéma I.8 : Photo-isomérisation du 11-*cis*-rétinal (**18-cis**) en *trans*-rétinal (**18-trans**) responsable du cycle de la vision.

L'isomérisation peut conduire à d'autres modifications chimiques telles que l'ouverture réversible d'un cycle, phénomène responsable du changement des propriétés physico-chimiques des composés photochromes,^[74] ou bien des réactions intramoléculaires péricycliques^[75] et cycloadditions intramoléculaires.

L'irradiation lumineuse peut aussi permettre le franchissement de barrières énergétiques pour des réactions bi- ou multimoléculaires. L'exemple le plus parlant est probablement la réaction de cycloaddition. À ce titre, la réaction [2+2] de photo-cycloaddition entre la coumarine **19** et le tétraméthyléthylène (schéma I.9) donne par exemple accès au cyclobutane fonctionnalisé **20** qui serait inaccessible par activation thermique.^[76]

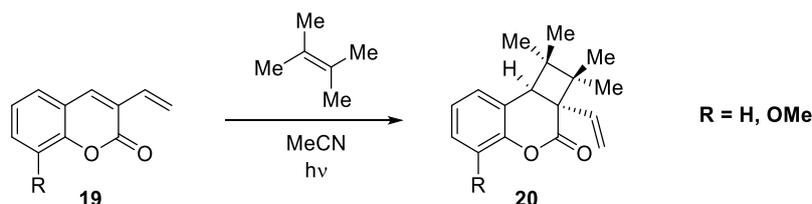


Schéma I.9 : Photo-cycloaddition croisée entre une 3-vinylcoumarine **19** et le tétraméthyléthylène telle que rapportée par Yasuda *et al.*^[76]

L'efficacité de la réaction peut être modulée par l'ajout d'acides de Lewis,^[77] ou bien de composés altérant les propriétés de l'état excité par interactions non-covalentes et promulguant le croisement intersystèmes.^[78] L'espèce en question peut être introduite de façon sub-stœchiométrique, voire catalytique, ce qui a trait au domaine de la photocatalyse.

À ce titre il faut enfin noter que l'excitation d'un composé agissant comme photocatalyseur peut promouvoir une réaction par des mécanismes indirects tels que le transfert d'électrons photo-induit ou le transfert d'énergie. La synthèse de pyrroles tétrasubstituées rapportée par Xuan *et al.* à partir de l'acétylénique **21** illustre ce point en particulier.^[79] La réaction, photocatalysée par un sel d'acridinium, peut se produire soit par un transfert d'électrons vers l'azirine **22** (schéma I.10, voie du haut), soit par un transfert d'énergie à l'azoture **23** entraînant la formation d'un nitrène (schéma I.10, voie du bas).^[79]

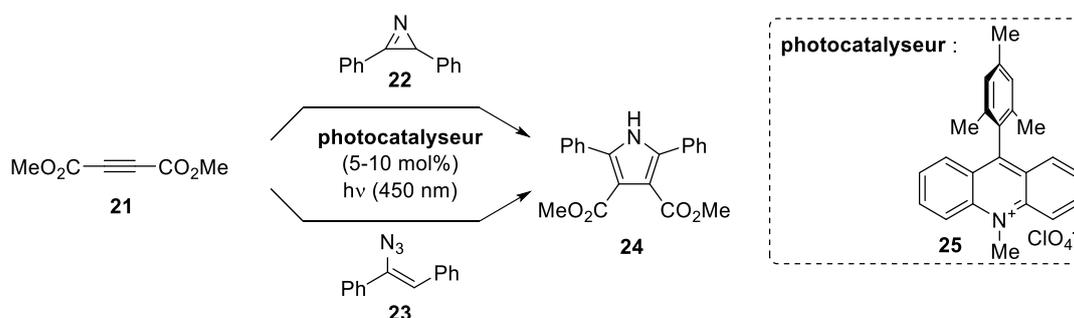


Schéma I.10 : Synthèse photocatalysée du pyrrole **24** à partir d'une azirine (**22**) acceptrice d'électrons (flèche du haut), ou de l'azoture **23** accepteur d'énergie et précurseur de nitrène (flèche du bas).^[79]

L'objectif de cette thèse était d'exploiter la photochimie des groupements protecteurs photolabiles (tels que présentés dans le schéma I.7) dans le but de protéger les fonctions chimiques de molécules et messagers biologiques de façon à les rendre inactives jusqu'à l'irradiation. Le paragraphe suivant présentera l'état de l'art et les notions indispensables utilisées dans le domaine des PPGs.

III. Groupements Protecteurs Photolabiles ^[89-94]

III.1. Les « décageurs », de la déprotection chimique à la stimulation biologique

La perspective d'activer les fonctions d'une molécule en utilisant uniquement l'énergie lumineuse s'avère attrayante dans de nombreuses branches des sciences. Pour cela, parmi les techniques possible, il est possible d'introduire de façon covalente des chromophores agissant comme des groupements protecteurs photolabiles sur les fonctions responsables de l'activité de la molécule. Sous cette forme protégée, la réactivité de la molécule est masquée, comme avec

un groupement protecteur classique. La déprotection repose alors sur l'absorption de lumière par la partie photoactive de la molécule, ce qui engendre une réaction photochimique aboutissant à la rupture d'une liaison covalente, et à la photolibération de la molécule sous sa forme activée.

Ce phénomène de photolyse ouvre la voie à des applications très diverses, la première d'entre elles étant historiquement la synthèse organique. En 1962, Barltrop^[80] et Barton^[81] rapportent tous deux successivement les premiers usages de groupements protecteurs photosensibles pour la déprotection d'acides carboxyliques et d'acides aminés utilisés en synthèse peptidique. Dans ces premiers travaux, il est rapporté que le carbamate **26** est clivé sous irradiation lumineuse, avec une réaction de décarboxylation, libérant ainsi de la glycine déprotégée (**Gly**) ainsi que l'alcool **27** correspondant au résidu du groupement protecteur photosensible utilisé (schéma I.11). En synthèse, l'usage de groupes protecteurs photolabiles est perçu comme une méthode plus « propre ». Elle permet en effet de s'affranchir des nombreux inconvénients qui caractérisent la chimie de déprotection habituelle, avec ses conditions opératoires souvent dures et des ajouts de réactifs indésirables aux autres étapes, mais qui restent pourtant une pénible nécessité. La lumière étant au contraire une condition de déprotection très douce, elle offre une alternative à ces traitements, et permet alors de déprotéger des molécules très sensibles, autrement incompatibles avec des bases ou acides forts, tout en étant totalement orthogonale de la chimie des groupements protecteurs traditionnels.

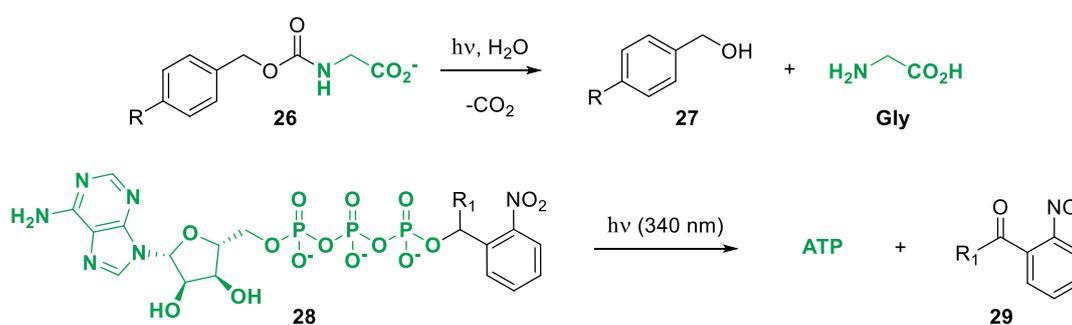


Schéma I.11 : Premiers exemples de photo-déprotection de glycine^[80] et d'ATP.^[83]

Ces conditions plus douces, ainsi que le contrôle spatiotemporel induit par la maîtrise de l'irradiation lumineuse, ont rapidement fait germer l'idée de tirer parti de ce phénomène photochimique pour libérer des substances bioactives. Schlaeger *et al.* avec l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC)^[82] et Kaplan *et al.* avec l'adénosine triphosphate (ATP)^[83] furent les premiers à libérer des molécules d'intérêt biologique autres que des acides aminés par stimulus lumineux, en utilisant des dérivés du groupement *ortho*-nitrobenzyle (schéma

I.11), et à introduire pour ces-derniers le terme d'ATP « cagée » pour le composé **28** ("caged" ATP), et de décageur ("uncaging").^[83]

Le domaine de la libération de principes bioactifs étant très vaste, le terme de « cage » peut être source de confusion et controverse, notamment face à des systèmes basés sur des interactions non-covalentes et l'emprisonnement au sein de cavités moléculaires. Il convient toutefois de préciser que l'appellation de « décageur » est maintenant communément acceptée en tant que synonyme d'un groupement photosensible protégeant de façon covalente une fonction de reconnaissance ou la fonction qui exerce l'activité d'une biomolécule.

Contrôler le signalement cellulaire est un défi entraînant de nombreuses contraintes, et un décageur doit répondre à un véritable cahier des charges pour pouvoir être applicable en biologie.

- (i) Le chromophore doit absorber la lumière de façon efficace. Cette efficacité est traduite par le coefficient d'absorption ϵ , ou le σ_2 pour le cas d'une excitation biphotonique.
- (ii) La longueur d'onde d'excitation doit être compatible avec le milieu physiologique, afin d'éviter idéalement l'absorption de lumière par les chromophores biologiques et les potentiels photodommages qui en découleraient.
- (iii) La réaction de photolyse doit être propre. Le ligand doit être libéré de façon quantitative (*i.e.* avec un rendement chimique proche de 100 %) et efficace (*i.e.* avec un rendement quantique de photolibération Φ_u aussi haut que possible). Comme évoqué lors du paragraphe II.4, le rendement quantique de la réaction photochimique Φ_u (u pour "uncaging") est défini comme le nombre de molécules libérées pour 100 photons absorbés.
- (iv) La molécule cagée, modifiée chimiquement lors de l'ajout du groupement protecteur, doit être soluble dans le milieu physiologique étudié. Il faut donc concevoir un composé capable d'être photolysé en solution aqueuse oxygénée. Selon les applications, elle peut avoir pour contrainte de passer d'autres barrières cellulaires, ou de se lier à des récepteurs particuliers (cellules cancéreuses, sites actifs d'enzymes...).

- (v) Sous sa forme cagée, la biomolécule doit être inerte dans le milieu biologique concerné. Elle doit en outre être stable à la fois « dans le noir » (en l'absence d'irradiation lumineuse), et dans le milieu biologique avant d'être photolysée.
- (vi) Les intermédiaires et résidus de photolyse doivent, eux aussi, être inertes et non-toxiques pour le milieu biologique.
- (vii) Dans le milieu biologique, l'illumination de ce composé inerte doit lui permettre de regagner son activité de façon suffisamment rapide pour engendrer un pic de concentration en ligand, et l'activation des récepteurs cellulaires appropriés. Il doit donc être plus rapide que le processus étudié, mais aussi que le phénomène de diffusion (110–900 μs , selon la nature du milieu, de la cage et du ligand).^[84]

Le respect de ces contraintes rend complexe le développement de cages pour applications biologiques. La solubilité de ces structures organiques aromatiques en milieu physiologique est un des points critiques du développement, tout comme l'efficacité de libération du composé actif. À ce titre, pour faciliter les comparaisons et de façon analogue à la brillance ($\varepsilon\Phi_f$) pour les fluorophores, il est courant d'évaluer l'efficacité de photolibération par un paramètre global tenant compte à la fois de la capacité d'absorption du chromophore et de son efficacité photochimique. La « photosensibilité » est notée ε_u pour une excitation monophotonique et δ_u pour une excitation biphotonique, et exprimée telle que :

$$\varepsilon_u = \varepsilon \Phi_u \quad (\text{Eq. I.34})$$

$$\delta_u = \sigma_2 \Phi_u \quad (\text{Eq. I.35})$$

Où ε et σ_2 sont respectivement le coefficient d'extinction molaire de la cage (en $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) et sa section efficace d'absorption à deux photons (en GM) à la longueur d'onde d'excitation utilisée pour la photolibération, et Φ_u le rendement quantique de la réaction de photolibération. Les avantages intrinsèques de l'absorption à deux-photons présentés dans le paragraphe I.2 ont en effet conduit les groupes de recherche à adapter les PPGs à cette technique particulière d'excitation.

III.2. Décageurs et excitation biphotonique : principes et enjeux

Peu de temps après l'introduction des premiers microscopes à deux photons,^[85] et avant même que leur utilisation en biologie cellulaire ne se démocratise, Adams et Tsien mentionnaient déjà en 1993 les progrès substantiels que présenteraient l'application de cette technique à la photolibération de biomolécules.^[86] En 25 ans, avec l'avènement des lasers TiS et des techniques de microscopie à deux-photons, le domaine de l'*uncaging* à deux-photons a non seulement vu le jour, mais s'est effectivement largement développé. Néanmoins, pour mieux appréhender les avantages d'une photolibération par excitation à deux photons, il est nécessaire de comprendre les dimensions spatio-temporelles mises en jeu au cours des processus physiologiques étudiés. En effet, pour pouvoir déclencher les cascades physiologiques souhaitées et les réponses qui en découlent, il faut pouvoir provoquer de façon artificielle l'interaction ligand-récepteur avec la même précision et la même spécificité que le milieu biologique lui-même. En ce sens, il convient de distinguer les applications de l'*uncaging* à deux photons à visée thérapeutique (délivrance ciblée de médicaments) des applications aux neurosciences (étude des phénomènes synaptiques par libération de neurotransmetteurs). Ces dernières sont en cela l'exemple le plus parlant.

Le système nerveux est constitué d'un réseau de cellules neuronales polarisées, véhiculant l'information par une activité chimioélectrique (influx nerveux, flèche rouge, figure I.13). Lorsque le potentiel d'action est généré à la suite d'un stimulus sur un organe, il circule à travers les axones jusqu'à atteindre une discontinuité anatomique appelée synapse effectuant la jonction entre deux cellules nerveuses. Pour franchir cette discontinuité, l'influx nerveux est transformé en message chimique par l'intermédiaire de petites molécules organiques qui jouent le rôle de neurotransmetteurs.

De grandes quantités de neurotransmetteurs sont stockés dans des vésicules de 50 nm^3 à l'extrémité présynaptique du neurone (Figure I.13, d)). Par un jeu de différences de potentiel, dépolarisations et gradients de concentrations intra et extra-cellulaires, l'application du potentiel d'action sur les synapses axonales va provoquer un changement de conformation des oligomères de protéines arrangées en « canaux », et au sein desquels circulent des ions calcium. L'influx de calcium induit par l'ouverture des canaux va permettre en seulement quelques dixièmes de millisecondes le déplacement puis la fusion des vésicules de neurotransmetteurs avec la membrane plasmique à l'extrémité présynaptique. Par ce mécanisme d'exocytose, les neurotransmetteurs sont alors libérés par dizaine de milliers dans la fente synaptique sub-

micrométrique ; provoquant sur ce même intervalle de temps un saut de concentration de plus de 1 mM.

Les neurotransmetteurs libres vont ensuite diffuser dans la fente extra-cellulaire jusqu'à se lier sur leurs récepteurs spécifiques du côté post-synaptique. La liaison du neurotransmetteur avec ses récepteurs provoque alors une variation positive (dite « excitatrice ») ou négative (« inhibitrice ») du potentiel membranaire en aval de la synapse. Le glutamate agit principalement sur des récepteurs ionotropiques qui laissent entrer des ions positifs dans la cellule : c'est le principal neurotransmetteur excitateur. Inversement, le GABA et la glycine (pour le tronc cérébral et la moelle épinière) agissent sur des récepteurs ionotropiques laissant entrer des ions négatifs et sont donc les deux principaux neurotransmetteurs inhibiteurs. De nombreux autres messagers sont impliqués dans la neurotransmission au niveau de récepteurs synaptiques ionotropiques ou métabotropiques, comme les neuromessagers purinergiques (AMPc, ATP, IP₃...) ou les amines biogéniques (dopamine, adrénaline, sérotonine...). Lorsque la polarisation issue de cet influx ionique est suffisante, le seuil d'excitation du neurone suivant est atteint. La transduction du signal est alors complète et le potentiel d'action se propage dans la suite du réseau, *via* les dendrites et le soma du neurone suivant (figure I.13, b)).

L'enjeu de l'*uncaging* à deux photons en optoneurobiologie est de provoquer artificiellement une libération de neurotransmetteurs de façon à mimer le fonctionnement d'une synapse chimique en engendrant des sauts de concentration rapides et localisés au niveau de la fente synaptique. Outre une pénétration tissulaire jusqu'à dix fois plus importante que pour une excitation dans l'UV,^[11] la taille du volume focal du laser est parfaitement adaptée pour une libération hautement localisée de neuromédiateurs puisque le faisceau peut être modélisé par deux gaussiennes de largeurs à mi-hauteur axiales et latérales respectivement de l'ordre de 1 µm et 0.30 µm.^[87] Cette précision permet alors de viser et activer la neurotransmission chimique des synapses une à une (figure I.13, c)),^[88] et d'en étudier la dynamique moléculaire et biologique.

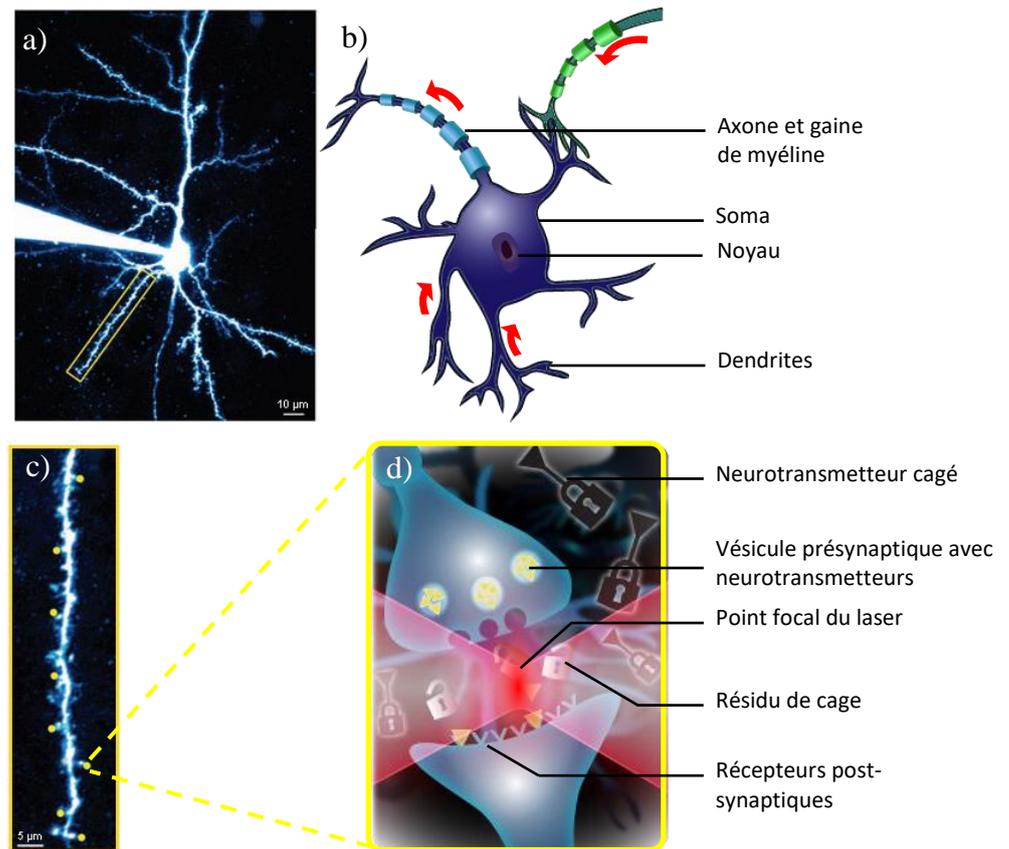


Figure 1.13 : Photolibération de glutamate par excitation biphotonique du composé MNI-[Glu] dans des neurones pyramidaux du cortex visuel. a) Cellules pyramidales de la couche 2/3 visualisées avec le colorant Alexa 594 par microscopie à deux photons. Le rectangle jaune indique la dendrite sélectionnée dans les expériences de photolibération.^[88] b) Représentation schématique des composantes d'un neurone. Les flèches rouges indiquent le sens de l'influx nerveux. c) Emplacement des expériences d'activation synaptique par photolibération de glutamate le long de la dendrite sélectionnée. Chaque point jaune représente un emplacement irradié.^[88] d) Vue de l'esprit d'une expérience de photolibération de neurotransmetteurs dans une synapse par excitation biphotonique.

Pour que la résolution tridimensionnelle intrinsèque au phénomène de photolyse à deux-photons soit conservée au niveau cellulaire, la diffusion et la cinétique de la libération sont des points critiques à considérer. L'avantage du confinement de la libération au point focal est en effet perdu dès lors que l'échange diffusionnel est plus rapide que la réaction de photolyse elle-même.^[84] Il faut donc que les intermédiaires à l'état excités restent concentrés au niveau du volume irradié et complètent la libération du neurotransmetteur avant d'être remplacés par un décageur à l'état fondamental ; ce qui implique des constantes de vitesse supérieures à 10^5 s^{-1} .^[89] La vitesse de la photolyse est également un facteur prépondérant dans le sens où les neurones peuvent être photo-désensibilisés par des pulses laser trop longs. La taille des objets photosensibles introduits est en outre un facteur à considérer ; les objets de petite taille étant préférables pour les distances mises en jeu dans l'activation neuronale. Enfin, mimer le fonctionnement d'une synapse en créant un potentiel d'action implique que le

neurotransmetteur cagé soit soluble dans le milieu biologique à des concentrations de l'ordre de 1 mM.

Certains de ces composés, présentant des caractéristiques intéressantes pour des applications en neurosciences sont aujourd'hui disponibles commercialement. Le complexe de Ruthénium **RuBi-[GABA]**,^[90] ou encore **MNI-[Glu]**^[87,88,91-97] (*vide infra*) sont en ce sens des outils couramment utilisés en neurosciences, par exemple pour la cartographie de voies nerveuses chimiquement identifiées par la présence de neuromédiateurs,^[87,93] la compréhension structurale des différentes parties des neurones et leurs séquences d'activations,^[88,91] ou encore l'étude de la plasticité synaptique.^[97,98]

Si l'étude des phénomènes neurologiques a bien été un moteur de la recherche sur les décageurs et l'excitation à deux photons, il convient d'ajouter qu'une partie de ce manuscrit sera aussi consacrée à la photolibération d'autres principes actifs, notamment anticancéreux. Tout en gardant les avantages mentionnés précédemment, les échelles de temps et d'espace des phénomènes physiologiques sont alors légèrement différentes, et les problématiques en sont modifiées en conséquence. Celles-ci seront abordées dans le chapitre IV.

Depuis les premiers exemples de photo-déprotection dans les années 1970, de nombreuses familles de composés ayant la capacité d'entraîner une photolibération ont été découvertes et étudiées (schéma I.12).^[99-101]

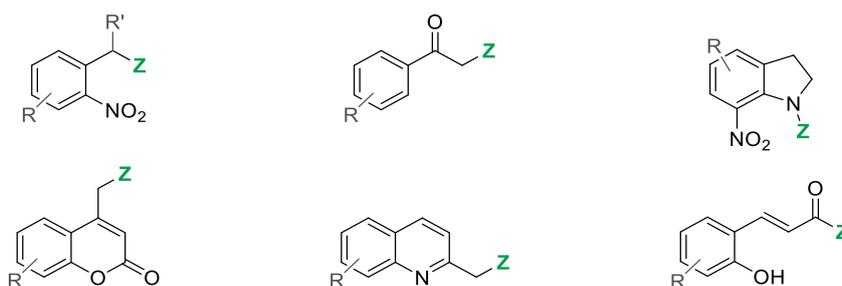


Schéma I.12 : Structures générales des principales familles de groupements protecteurs photolabiles.

En résumé, la photolyse par excitation à deux-photons permet de libérer des drogues ou messagers biologiques sur un volume équivalent à 1 fL, c'est-à-dire l'équivalent de la taille d'une bactérie *Escherichia coli* ou d'un neurone. La faible phototoxicité des rayonnements IR utilisés dans les lasers et microscopes à deux-photons, ainsi que la meilleure pénétration des tissus en font une méthode de choix pour les études *in vitro* et *in vivo*, ou bien pour la thérapie ciblée. Les différents groupements protecteurs présentés sur ce schéma font partie d'une

première génération de décageurs développés jusqu'au début des années 2000, appliqués d'abord à la biologie, puis testés en irradiation biphotonique. Il s'est cependant vite avéré que ces premiers décageurs n'avaient pas de photosensibilité suffisante pour pouvoir être excités efficacement à deux photons sans causer de dommages aux tissus. En effet, la puissance maximale du laser étant de l'ordre de la dizaine de milliwatts,^[102,103] la section efficace d'uncaging à deux photons d'un décageur doit être comprise entre 3 et 30 GM pour que le composé puisse être exploité dans de bonnes conditions.^[100] L'enjeu des dernières années s'est alors focalisé vers la quête de PPGs possédant une section efficace d'uncaging δ_u de cet ordre.

III.3. Structures, stratégies et état de l'art

Comme le montre bien le schéma I.12, la grande majorité des groupements protecteurs photolabiles sont composés de structures conjuguées aromatiques, parfois hétérocycliques, présentant au moins un groupement affectant la densité électronique du cycle et donc un certain transfert de charge à l'état excité. Devant les pauvres performances de cette première génération de PPGs en photolibération à deux photons, la première stratégie couramment mise en œuvre est de modifier leurs structures en suivant les indications présentées dans le paragraphe I.2.2, en augmentant la force des groupements donneurs et accepteurs ainsi que la longueur du système π -conjugué ; voire même en les incorporant dans des structures quadrupolaires ou octupolaires, de façon à augmenter le σ_2 . Ces modifications peuvent cependant être contre-productives, et s'effectuer au détriment des performances photochimiques et du Φ_u . Les principaux exemples seront détaillés dans les paragraphes suivants.^[104]

III.3.1. Modifications structurelles et nouvelles générations de cages

III.3.1.a. La famille des nitrobenzyles

La famille des *o*-nitrobenzyles (*o*NB) et dérivés est de loin la plus répandue et la plus étudiée. Initialement développés pour une utilisation en synthèse,^[105] leur application à la biochimie par Kaplan *et al.* pour la libération d'ATP^[83] en 1978 a ouvert la voie à de nombreux dérivés, dont plusieurs sont maintenant commerciaux. Le mécanisme de libération, rapporté dans la littérature^[99,106–108] et résumé sur le schéma I.13, est basé entièrement sur la formation du diradical **31** issu de l'état singulet de l'*o*NB **30**.^[106] S'en suit une cascade photochimique dont la première étape est une tautomérie entre la forme **32a** et l'isomère *aci*-nitro **32b**, formé par migration d'hydrogène [1,5] depuis le substituant en *ortho*. Le pKa de cet isomère ainsi que la nature du groupement R détermineront la suite du mécanisme et la formation de l'intermédiaire cyclique **34** (pour R = H), ou de l'hémiacétal **35** (pour R = alkyle). Le départ de

la molécule cagée à partir de ces intermédiaires est finalement l'étape cinétiquement déterminante de la réaction.

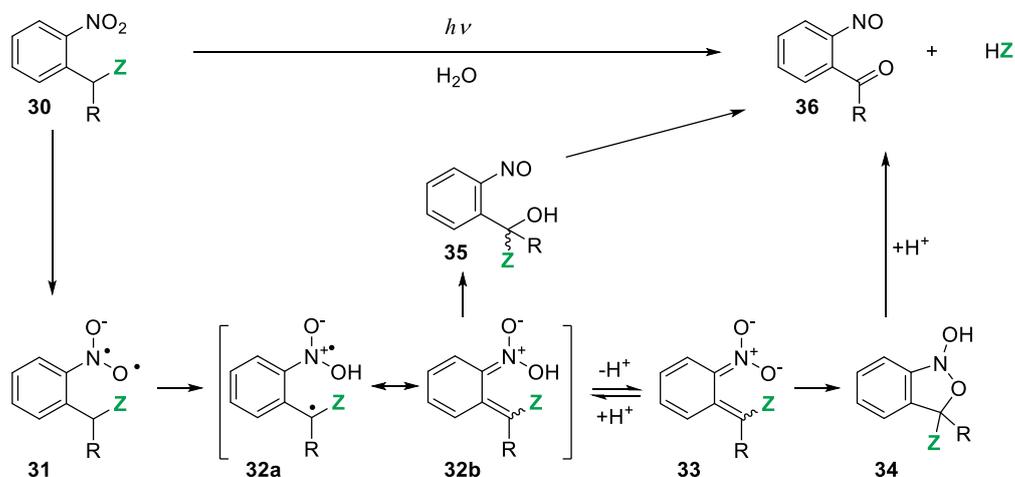


Schéma I.13 : Mécanisme de photofragmentation des groupements protecteurs de la famille des oNB en milieu aqueux.

Leur accessibilité synthétique ainsi que la possibilité de cager une large gamme de fonctions chimiques (alcools, phénols, phosphates, acides, amines *via* une fonction carbamate) en ont rapidement fait un outil particulièrement pratique et polyvalent pour les applications biologiques.^[86,99] Cependant les nombreuses études menées ont également porté l'attention sur certains inconvénients des décageurs de type nitrobenzyle. Le premier inconvénient majeur mis en évidence réside dans la toxicité du dérivé nitroso **36** issu de la photolyse.^[86] Ce dernier peut agir comme un « piège » à rayonnement lumineux (effet de filtre interne), mais aussi réagir avec les espèces chimiques et notamment les amines présentes dans le milieu. Cette réactivité fut soupçonnée dès les travaux de Kaplan *et al.*, qui enregistrèrent un rendement quantitatif dans le cas de phosphates inorganiques, mais de seulement 25% pour la libération d'ATP.^[83] Les acides aminés cagés par un oNB ont en outre une stabilité modérée à l'hydrolyse,^[109] et présentent surtout une cinétique de libération particulièrement lente. Katz et Dalva rapportent à ce titre que la libération de glutamate par un dérivé oNB ne génère le potentiel d'action dans les synapses qu'après 15 à 30 ms, ce qui limite fortement les possibilités d'applications en neurologie.^[110]

De premières modifications structurales furent apportées à la structure de base afin de palier dans un premier temps à ces inconvénients, tout en améliorant la solubilité dans l'eau et les capacités d'absorption. De façon générale, les modifications apportées à la position benzylique joueront sur le rendement quantique de photolibération, alors que la modification du cycle accordera les capacités d'absorption à un et deux photons. Ainsi, l'introduction d'un

méthyle en position benzylique permet une très forte augmentation du Φ_u pour la libération de phosphates^[83] ou d'acides,^[111] pour une photosensibilité à un photon plus de 3 fois supérieure dans le cas de **NPE-[Ac]** par rapport au composé parent **oNB-[Ac]**. De nombreux dérivés comportant un substituant en position benzylique (phényle,^[112] trifluorométhyle, ester, cyano^[113]) ont ainsi été rapportés sans forcément améliorer l'efficacité photolytique. Toutefois, parmi ces dérivés, l' α -carboxy-*ortho*-nitrobenzyle **CNB-[Glu]** présente l'avantage d'améliorer le point clé de la solubilité en milieu biologique.^[114]

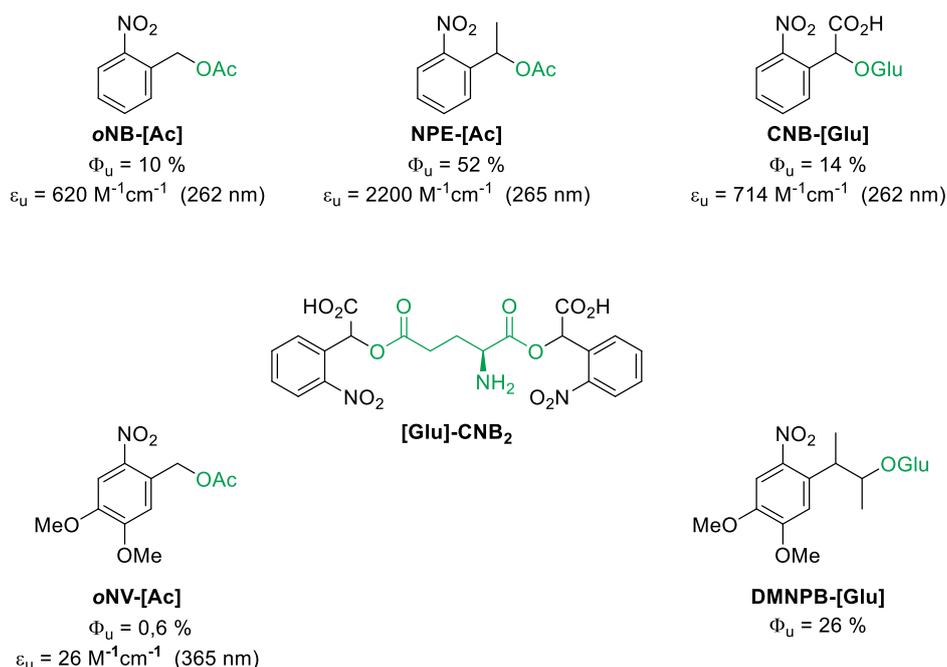


Schéma 1.14 : Structures et propriétés photophysiques des premières cages de la famille des nitrobenzyles.

La modification du système π -conjugué par l'introduction de deux groupements électrodonneurs méthoxy permet le décalage de l'absorption du PPG d'une centaine de nanomètres vers le proche UV. Cette modification du système *push-pull* s'accompagne cependant d'une réduction de plus d'un ordre de grandeur du Φ_u , ainsi que d'une baisse de la stabilité hydrolytique dans le noir. L'*ortho*-nitrovératryle **oNV** reste cependant un des analogues les plus célèbres de la famille des nitrobenzyles.

De nombreuses études ont postulé que le passage d'un groupement benzyle à un homobenzyle mono- ou disubstitué permettrait de restaurer une bonne efficacité de photolibération.^[115–117] Dans cette famille des (nitrophényl)propoxycarbonyles (NPPOC), le composé **DMNPB-[Glu]**, analogue au nitrovératryle **oNV-[Ac]**, se distingue avec un Φ_u de 26% et une libération quantitative de glutamate dans la même gamme de longueur d'onde.^[117]

Cette amélioration est accompagnée d'une modification du mécanisme de fragmentation (schéma I.15).^[115] La perte d'un proton sur le tautomère *aci* **37** entraîne cette fois une étape de β -élimination conduisant à la formation d'un *o*-nitrostyrène **39**. Il faut noter que la voie conduisant au dérivé nitroso **40** est une impasse mécanistique ne conduisant pas à la libération de la molécule cagée.

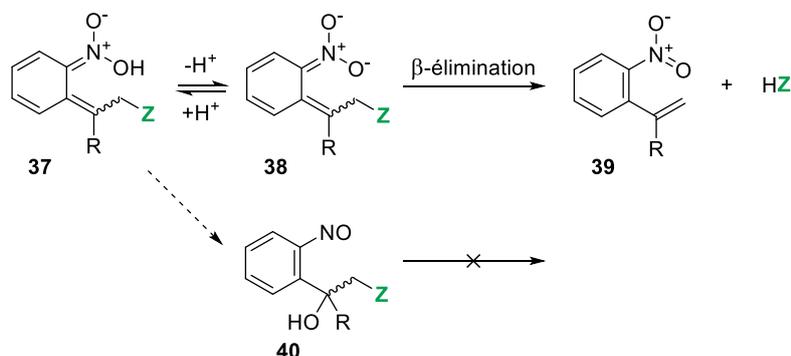


Schéma I.15 : Mécanisme de fragmentation par β -élimination des dérivés homobenzyles.

Historiquement, les cages nitrobenzyles furent pionnières dans la recherche sur les décageurs à plusieurs égards. Outre leur première utilisation par Schlaeger *et al.* et Kaplan *et al.*, les *o*NB furent aussi précurseurs dans le domaine de l'*uncaging* à deux-photons. Les travaux avant-coureurs de Pettit *et al.* ont présenté dès 1997 une forme détournée de photolibération « à deux photons » d'une molécule de glutamate doublement protégée par des NPE (composé **[Glu]-CNB₂**, schéma I.14), et nécessitant par conséquent l'utilisation de deux photons UV distincts pour être décagée.^[118] Le confinement spatial de cette méthode présente alors une dépendance quadratique vis-à-vis de l'intensité lumineuse, tout comme dans le cas d'une excitation biphotonique par laser pulsé, leur permettant de mener à bien une cartographie des récepteurs AMPAR et NMDA dans des neurones pyramidaux.

Suite à ces travaux, des dérivés nitrobenzyles furent testés pour la première fois avec des lasers pour excitation à deux photons à partir de la fin des années 1990, pour la photolibération d'ions calcium,^[119,120] de glutamate et d'acide acétique (schéma I.16).^[109] Le groupe de Tsien rapporte le premier une valeur de photosensibilité de 0,03 GM pour l'*o*NV.^[109] Son analogue homobenzyle cageant le glutamate **DMNPB-[Glu]** est environ 6 fois plus performant au maximum de sa bande d'absorption à deux photons, cependant son efficacité reste très limitée.^[117] Le même constat est effectué pour le DM-nitrophène **DMN-[Ca]**^[121] et **NDBF-[Ca]**,^[120] deux ligands chélatants de calcium photoclivables pour la libération d'ions Ca^{2+} *in vitro*. Bien que l'utilisation d'un squelette dibenzofurane étendu permette une très forte

augmentation de l'efficacité de photolyse de **NDBF-[Ca]** par rapport à **DMN-[Ca]**, les valeurs de δ_u rapportées restent en deçà de 1 GM.

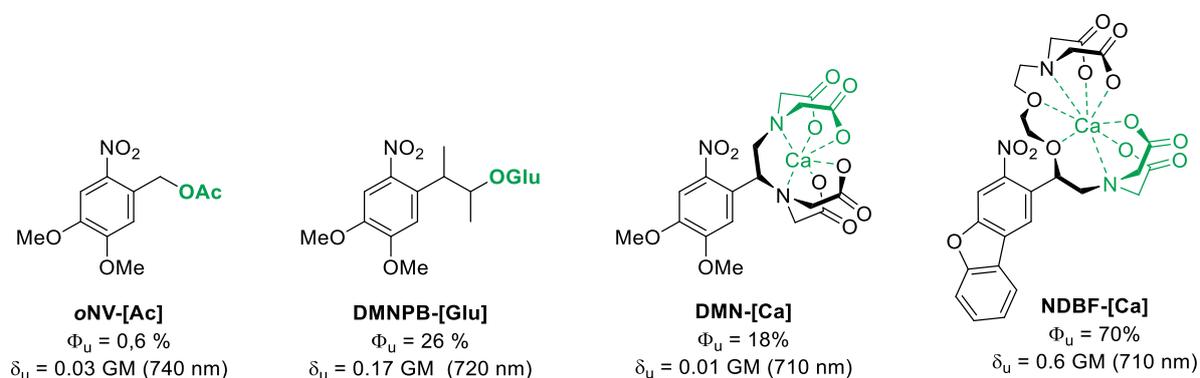


Schéma I.16 : Premiers exemples de PPGs de la famille des oNB clivés par excitation biphotonique dans le PIR.

Dès lors, la photosensibilité à deux photons est apparue comme étant un facteur très limitant pour des applications biologiques. À partir des dérivés oNB déjà connus, une nouvelle génération de cages de conjugaison étendues est donc progressivement apparue au cours des dix dernières années. Les principes d'ingénierie moléculaire appliqués ici sont analogues à ceux présentées dans la section I.2.2 et peuvent être résumées sur la feuille de route du schéma I.17.

À la suite de ses travaux sur la famille des NPPOC, et en particulier sur le DMNPB et son analogue mono-méthylé présentant un rendement quantique de photolibération compris entre 26 et 36%,^[117] l'équipe de Goeldner a entrepris d'étendre le système π -conjugué de la cage en synthétisant les premiers dérivés nitrobiphényles (NBP).^[122,123] En gardant un donneur alkoxy en position *para*, le composé **PENB-[Glu]** subit une chute significative du rendement quantique de libération. Cette chute est cependant largement contrebalancée par une augmentation du σ_2 du composé qui permet d'atteindre une photosensibilité de 3,1 GM, validant ainsi la stratégie employée. Le donneur méthoxy peut en outre être remplacé par une chaîne diéthylèneglycol permettant d'atteindre le seuil de solubilité de 5 mM pour une utilisation en neurosciences.^[123] Si le PENB garde les avantages du DMNPB parent, tout en augmentant le δ_u , l'imprévisibilité de cette stratégie est aussi mise en évidence avec le cas des composés **41** et **42**. En effet, le remplacement du donneur alkoxy par un phénol censé améliorer le transfert de charge intramoléculaire est aussi responsable de la création de chemins photochimiques compétitifs aboutissant à un rendement chimique de libération de glutamate inférieur à 10%. Une constatation similaire accompagne le passage au stilbène **42** qui, bien que plus conjugué, ne libère que 48% de glutamate.^[122,123] Ces composés sont donc impropres à une utilisation en tant que décageur.

À l'inverse des composés **41** et **42**, les modifications analogues ayant conduit aux dérivés EANBP et nitrodiphénylacétylène (NDPA) se sont cette fois avérées très bénéfiques. Dans les travaux consécutifs à la parution du PENB, le donneur alkoxy a été remplacé par un donneur dialkylamino, de pouvoir donneur bien supérieur. Par cette modification structurale, **EANBP-[Glu]** est la première cage à franchir la barre des 10 GM.^[124] La libération a lieu sur une durée d'environ 5 μ s après l'impulsion lumineuse, ce qui le rend compatible avec une utilisation en neuroscience, et la présence de deux chaînes diéthylèneglycol sur l'azote le pourvoit d'une excellente solubilité de 10 mM en milieu physiologique. Sa bande d'absorption maximale est également décalée de 80 nm vers le rouge en excitation mono- et biphotonique. Récemment, Schelke *et al.* ont poursuivi les modifications structurales sur cette classe de molécules en augmentant eux aussi la taille de la conjugaison. Contrairement au cas du composé **42**, l'introduction d'un lien éthyne, plus plan et plus rigide, dans le dérivé **NDPA-[Gib]** permet cette fois d'améliorer à la fois le Φ_u et le δ_u qui atteint une valeur record de 20 GM pour la libération d'acide gibbérellique (Gib).^[125]

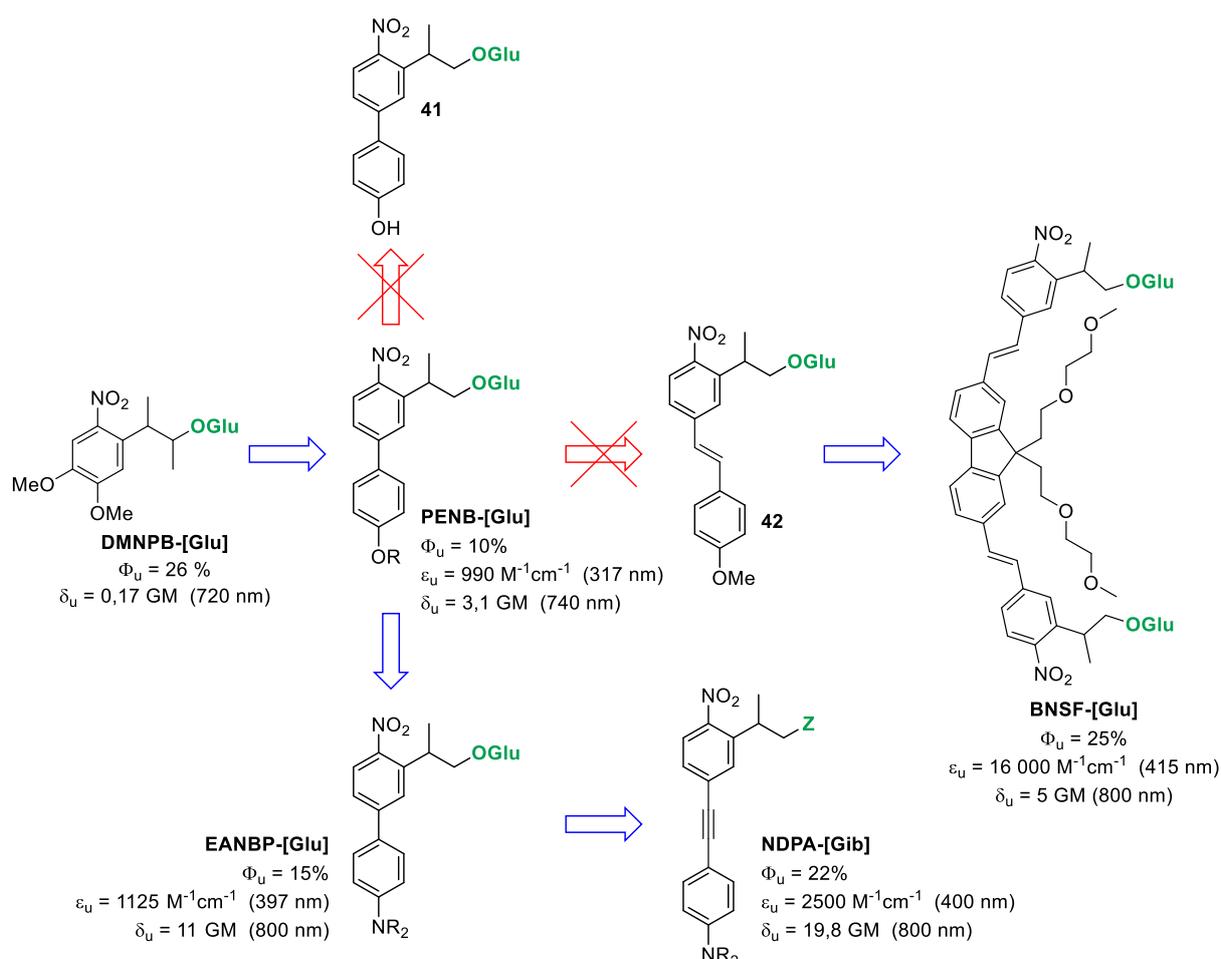


Schéma I.17 : Feuille de route des modifications apportées à la famille des NPOC dans le but d'optimiser les sections efficaces de photolibération à deux photons. R = di(éthylèneglycol) ; Z = acide gibbérellique.

Une approche alternative à la modification du système donneur-accepteur dipolaire a été rapportée par Gug *et al.* Elle consiste à incorporer le motif responsable de la photochimie dans une structure quadrupolaire centrosymétrique A- π -A. **BNSF-[Glu]**, capable de libérer deux équivalents de glutamate, possède effectivement d'excellentes caractéristiques de photosensibilité à un et à deux photons, ce qui valide la stratégie utilisée. Son rendement quantique Φ_u est cependant à nuancer par un rendement chimique de seulement 60%, lié à la forte ressemblance structurelle avec le composé **42**. Sa solubilité de 0,1 mM est en outre trop faible pour une utilisation dans des neurones.^[126] Une approche similaire a récemment été menée par l'équipe d'Ellis-Davies dans l'élaboration d'une cage pour les ions calcium sur le modèle du DNBF (schéma I.18). Le cœur utilisé dans le quadrupôle **BIST-[Ca]** est cette fois-ci un thiophène, et l'excellent σ_2 de la molécule permet d'atteindre 80 GM de photosensibilité à deux photons pour la libération de calcium dans le DMSO.^[127]

Finalement, longtemps utilisées en excitation à un photon, les cages *o*NB ont progressivement été supplantées par la famille des NPOC, de photochimie semblable mais présentant moins d'inconvénients en termes de stabilité dans le noir et de toxicité. Les dérivés NBP et leurs analogues rapportés récemment possèdent de plus des cinétiques compatibles avec une utilisation en optoneurobiologie.

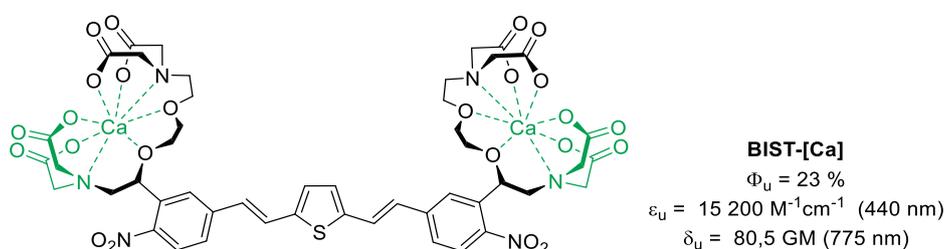


Schéma I.18 : Structure de la cage de calcium quadrupolaire basée sur un bisstyrilthiophène (BIST).^[127]

III.3.1.b. La famille des phénacyles

Bien que les premières mentions de la photochimie des phénacyles datent de 1973,^[128] la famille des phénacyles a été introduite par Givens *et al.* au début des années 1990 dans le but de combler certains inconvénients des *o*NB.^[129] Il s'agit d'une gamme de composés, dérivés de l'acétophénone, très accessibles synthétiquement. Leur réactivité photochimique est centrée autour du carbonyle, et plus particulièrement de la transition $n-\pi^*$ qui rend possible l'abstraction d'un atome d'hydrogène ou d'un électron d'une molécule donneuse, ou bien d'un groupement voisin. La nature des sous-produits de photolyse est donc très dépendante de la nature des

substituants présents sur le cycle aromatique. La cascade photochimique qui s'en suit aboutit finalement au départ du groupement situé en α du carbonyle.

Si la première génération de phénacyles basée sur un cycle non substitué souffrait de problèmes de solubilité en milieu physiologique,^[129] l'introduction d'un groupement hydroxyle en position *para* a permis de remédier à ce problème tout en conservant un bon rendement quantique de photolibération. Dans leurs travaux de 1996, Givens et Park sont les premiers à implémenter cette modification structurelle, qui se retrouvera pour les mêmes raisons dans d'autres familles de décageurs (*vide infra*). Au pH physiologique, la forme neutre *pHP*, absorbant dans l'UV à 282 nm, est en équilibre avec sa forme déprotonée *pHP*⁻ de pouvoir donneur supérieur, ce qui permet l'apparition d'une bande d'absorption à 330 nm. Le PPG *p*-hydroxyphénacyl (*pHP*) rapporté dans ces travaux a ainsi permis de libérer différents phosphates, dont l'AMPc (schéma I.19), en milieu aqueux avec un rendement quantique de 37%.^[130] Les expériences ont ensuite été étendues à d'autres messagers biologiques, tels que le GABA et le glutamate,^[131] ou des peptides,^[132] avec de bons rendements quantiques compris entre 12 et 40%.

Le mécanisme postulé pour la photolyse en milieu aqueux (schéma I.19) implique un croisement intersystèmes jusqu'à un biradical à l'état triplet **44**. La formation de cet intermédiaire entraîne la libération de l'espèce active, et la spirodicétone **45**, appelée intermédiaire de « photo-Favorskii », s'hydrolyse ensuite pour former de l'acide *p*-hydroxyphénylacétique (**46**).^[133]

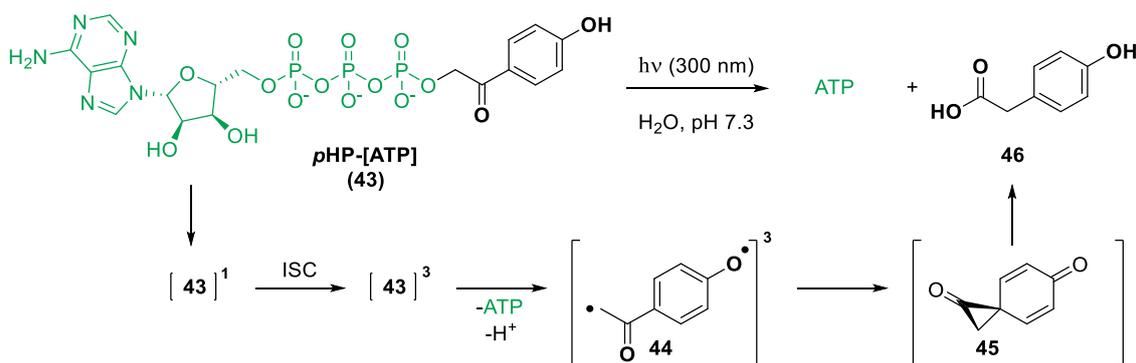


Schéma I.19 : Mécanisme de photofragmentation du *pHP* cageant de l'ATP en milieu aqueux tamponné.

Outre l'accessibilité synthétique et la solubilité apportée par la présence du phénol, il faut souligner que le spectre d'absorption de l'acide 4-hydroxyphénylacétique **46** issu de la photolyse est décalé vers le bleu par rapport à celui de la cage **43**, ce qui le rend transparent à

la longueur d'onde d'irradiation utilisée et limite la déperdition d'énergie. Les phénacyles ont une des cinétiques de libération les plus rapides (de l'ordre de 10^9 s^{-1}), compatible avec les processus neurologiques, et capables de cager une large gamme de fonction chimiques.^[134]

Malgré ces avantages, l'utilisation des phénacyles reste peu répandue, à cause de son absorption localisée à des longueurs d'onde très énergétiques à un photon (280 nm pour la forme neutre), et très peu de mesures d'absorption à deux photons ont été effectuées à ce jour. Récemment, Houk *et al.* ont effectué des mesures sur le *p*HP cageant un phosphate, rapportant un σ_2 de 11 GM par excitation à 550 nm,^[135] ce qui limite considérablement son utilisation. Les modifications structurelles expérimentées conduisent souvent à une pléthore de sous-produits de photolyse, montrant un manque de versatilité de cette famille de composés. Le dérivé 4-méthoxy décale effectivement l'absorption à 310 nm, mais fait chuter le Φ_u à 4% pour la libération de GABA. Un constat semblable est effectué pour le dérivé 3,4,5-triméthoxy, décalé à 355 nm en 1PA, mais sans que des mesures d'absorption à deux photons n'aient été effectuées.^[136]

Malgré un certain nombre de caractéristiques intéressantes (excellente cinétique, accessibilité synthétique, variété de fonctions cagées, bons rendements quantiques et chimiques de photolibération), les dérivés du *p*HP sont donc pour l'instant réservés à des applications en excitation monophotonique.

III.3.1.c. La famille des nitroindolines

Dès les années 1970, les travaux de Amit *et al.* ont rapporté que des composés de type *ortho*-nitroanilides, et plus particulièrement les 7-nitroindolines (NI) *N*-substituées (schéma I.20), subissaient une photosolvolyse en solvant organique non séché aboutissant au clivage de l'amide et à la libération d'un acide carboxylique.^[137] Les 7-nitroindolines **47a,b** et la 8-nitrotetrahydroquinoléine **47c** sont alors décrits comme de potentiels groupements protecteurs photolabiles pour la synthèse peptidique. Cette classe de composé fut par la suite étudiée plus en détail par Papageorgiou et Corrie^[138-142] qui se concentrèrent sur les NI, plus efficaces que les analogues tétrahydroquinoléines. Une étude sur la variation des substituants du cycle aromatique leur permit d'améliorer nettement les propriétés photochimiques pour la libération d'acides aminés en solution aqueuse, pour applications neurologiques. L'ester **48**, plus hydrosoluble que **47a** et **47b**, s'est ainsi avéré 2,5 fois plus efficace que les composés décrits initialement par Amit *et al.*^[138] La recherche de substituants améliorant la photochimie des NI conduit Papageorgiou, Corrie et coll. à l'introduction d'un groupement donneur méthoxy

en position 4-. Ce composé, connu sous le nom de **MNI-[Ac]**, améliora encore l'efficacité de photolyse d'un facteur 3. Cependant, le donneur diméthylamino du composé **49** supprime toute la réactivité photochimique des indolines, probablement à cause d'un état triplet trop bas en énergie.^[139]

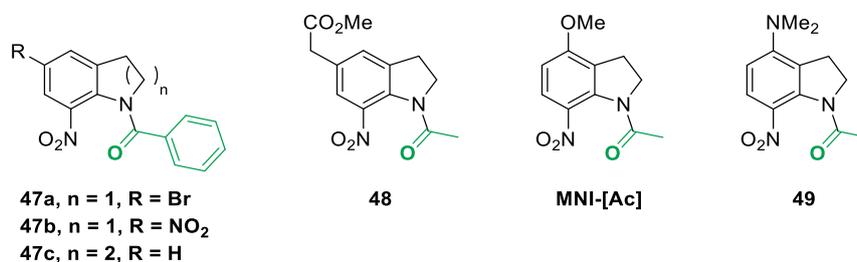


Schéma I.20 : Premiers exemples de composés de la famille des *ortho*-nitroanilides étudiés pour la libération d'acides carboxyliques par Amit *et al.* (47a,c)^[137] puis par Papageorgiou et Corrie (48, 49 et MNI-[Ac]).^[138,139]

À cette occasion, ils découvrirent aussi que le mécanisme de libération en milieu aqueux n'est plus une solvolyse mais un réarrangement^[143] (schéma I.21) ; hypothèse confortée notamment par des expériences de photolyse dans H₂¹⁸O. Mécanistiquement, les NI appartiennent en cela à la même classe de composés que les *o*NB. Après l'irradiation lumineuse, un état triplet du composé **50** a été mis en évidence par l'utilisation de sensibilisateurs appropriés.^[143,144] De l'état triplet, on observe alors la migration du groupement acyle de l'amide vers l'oxygène du groupement nitro en *ortho*, pour former l'intermédiaire **52**. Selon le solvant, cet intermédiaire va alors réagir selon deux chemins distincts. Dans l'eau, la perte d'un proton en α de l'azote entraîne l'élimination de l'acide carboxylique, et la formation de la nitrosoindole **53**, qui s'isomérisse lentement vers sa forme **54** plus stable. En solvant organique et en présence d'un nucléophile, le groupement acyle très électrophile de l'intermédiaire **52** subit une attaque directe qui conduit à la nitroindoline **55**.

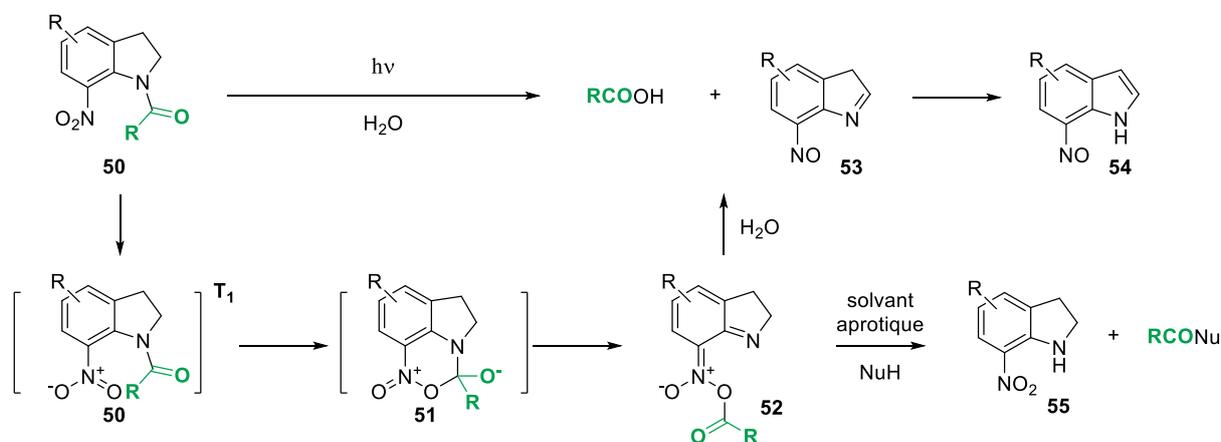


Schéma I.21 : Mécanismes de fragmentation des 7-nitroindolines en milieu aqueux et organique.

À l'image de **MNI-[Glu]**, disponible commercialement, les nitroindolines sont parmi les cages les plus utilisées en neurosciences (*vide supra*), car elles présentent de nombreux avantages pour ces applications. Contrairement à leurs analogues nitrobenzyles, les acides aminés cagés par des nitroindolines sont stables en milieu physiologique ; tout en étant libérés avec un rendement quantitatif lors de l'irradiation. Ils possèdent également une cinétique de libération parmi les plus élevées, avec un temps de demi-réaction de seulement 200 ns. Surtout, contrairement à la grande majorité des cages disponibles, les NI-[Glu] ont la particularité d'être parfaitement inerte vis-à-vis des récepteurs glutamatergiques des synapses, et de masquer totalement l'activité neurotransmettrice du glutamate jusqu'à la libération.^[140] Pour toutes ces raisons, les premières expériences d'excitation à deux photons sur les cages indolines ont été menées avec succès sur **MNI-[Glu]**.^[87,88,91-97] Les résultats montrent une photosensibilité très faible, de seulement 0,06 GM à 720 nm (schéma I.22)^[87] ; mais celle-ci est compensée par la possibilité d'introduire le composé à de très fortes concentrations dans le milieu sans enregistrer d'interférences avec les récepteurs.

Bien que les NI-, et en particulier **MNI-[Glu]**, ne soient pas antagonistes dans ces expériences, les nitroindolines -[GABA] et -[Gly] sont elles toutes deux antagonistes de leurs récepteurs respectifs.^[143] Une stratégie de modification structurale appliquée dans le cas des cages pour le GABA est d'augmenter l'encombrement stérique de la cage, ou bien d'introduire des groupements chargés. Cette approche a été testée avec succès dans le cas de l'analogue au MNI substitué avec 4-alkyl bis-phosphate **DPNI-[GABA]**,^[145] qui présente ainsi moins d'interférences avec les récepteurs GABAergiques.

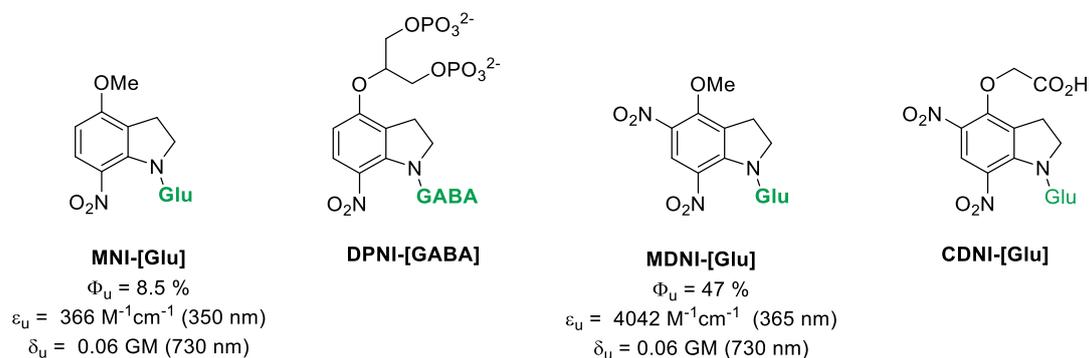


Schéma I.22 : Structures des neurotransmetteurs cagés par des groupements NI les plus sensibles en 2PA.

L'amélioration du δ_u très faible des cages de la famille des NI a été étudiée par l'optimisation des substituants du cycle aromatique. Parmi les combinaisons testées, le 4-méthoxy-5,7-dinitroindolinyl-glutamate (**MDNI-[Glu]**) a été évalué comme étant deux fois

plus sensible que **MNI-[Glu]**, avec une augmentation spectaculaire du Φ_u qui atteint, selon Fedoryak *et al.*,^[146] les 47%. Il souffre cependant d'une réaction de photolyse beaucoup moins propre, conduisant à un mélange de sous-produits de type nitro et nitroso, et un rendement chimique en neurotransmetteur libre de seulement 70%, ce qui a freiné leur utilisation leur utilisation.^[142,146] Ellis-Davies *et al.* ont toutefois développé un analogue à cette cage comportant un groupement carboxylate pour une meilleure hydrosolubilité (**CDNI-[Glu]**).^[147]

La photochimie des *ortho*-nitroanilides étant extrêmement sensible aux substituants, un seul exemple d'extension du système π -conjugué a été rapporté dans la littérature à ce jour,^[148] et **MNI-[Glu]** reste de loin, malgré son très faible δ_u , la référence la plus utilisée en neurosciences pour toutes les raisons énoncées. L'accessibilité synthétique de ces cages est cependant bien moindre que pour d'autres familles, à cause notamment d'une étape de nitration conduisant à de nombreux isomères de position. Les NI sont aussi moins versatiles en termes de fonctions masquées, puisqu'elles sont spécialisée dans la libération d'acides carboxyliques ; voire éventuellement d'alcools et amines *via* des fonctions carbonates et urées.

III.3.1.d. La famille des coumarines

Au cours de leurs investigations sur la formation de carbocations benzyliques sous irradiation lumineuse, Givens et Matuszewski ont montré dans les années 1980 que les coumarin-4-ylméthylphosphates subissaient une hétérolyse de liaison C-O conduisant à la libération dudit phosphate et d'un sous-produit issu du piégeage du carbocation.^[149] L'utilisation de cages à base de coumarines est basée sur deux particularités. Premièrement le chromophore présente un fort transfert de charge à l'état excité lié à la présence d'un groupement électrodonneur en position 7, entraînant une augmentation de densité électronique sur le méthylène portant le groupement Z cagé (position 4- du cycle).^[109] Deuxièmement, sa répartition orbitale présente un coefficient presque négligeable pour la HOMO sur le carbone C(4) du cycle concerné, mais un très fort coefficient pour la LUMO antiliante (schéma I.23).^[150]

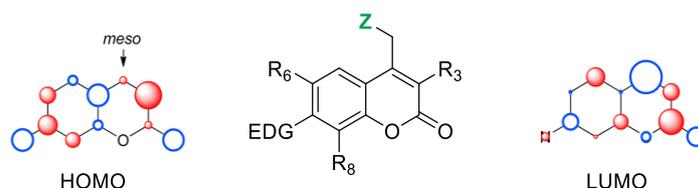


Schéma I.23 : Structure générale d'un groupement protecteur photolabile coumarin-4-ylméthyle, et coefficients de Hückel de ses orbitales frontières ; reproduit de la référence [150].

Lorsqu'un électron est promu de la HOMO à la LUMO par absorption d'un photon, la liaison C–Z est par conséquent affaiblie, et rompue avec des constantes de vitesse de l'ordre de 10^9 à 10^{10} s⁻¹.^[151]

Le mécanisme postulé pour la photolibération^[99,151,152] est donc une solvolysse à l'état excité (schéma I.24). Le système *push-pull* implique la formation à l'état singulet des formes zwitterioniques limites **57a** et **57b**. La rupture de liaison C–Z, qui peut être hétérolytique ou homolytique suivie d'un transfert d'électrons, entraîne la formation d'une paire d'ions non séparée **58**. Cette paire d'ions peut se recombiner et freiner l'efficacité du processus en reformant le produit de départ **56**, ou se solvater. Le carbocation **59** est alors piégé par l'eau (ou un nucléophile du milieu), pour former l'hydroxyméthylcoumarine **60**, et la biomolécule Z protonée. Il faut noter que l'étape de recombinaison peut être cinétiquement très compétitive dans le cas de certaines fonctions, comme les phénols, et l'efficacité de libération est donc fortement dépendante de la nature du groupe partant.

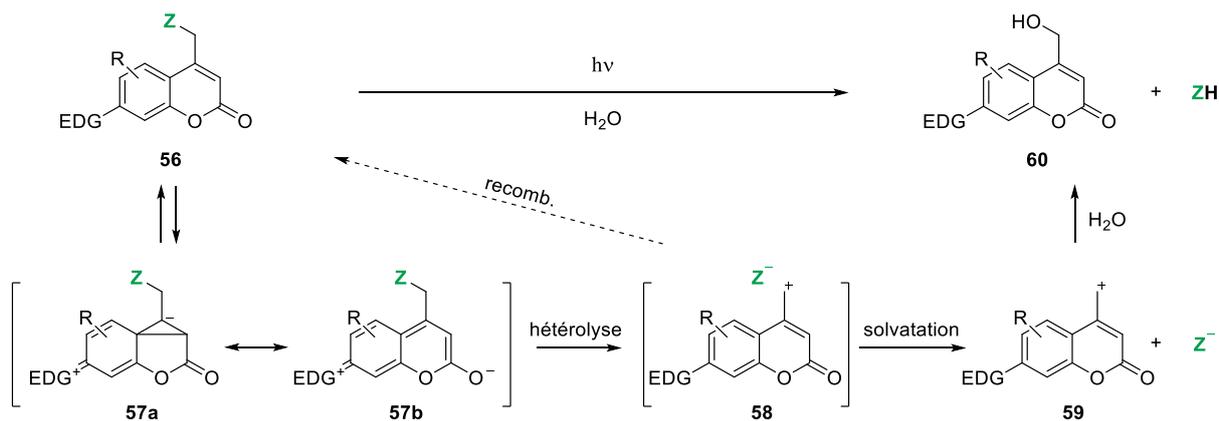


Schéma I.24 : Mécanisme de photo-solvolysse des cages de la famille des coumarines.

Les observations de Givens ont été suivies des années après de travaux fondateurs de Furuta *et al.* qui développèrent la 6-bromo-7-hydroxycoumarine (BHC), et démontrèrent son utilité pour des applications neurologiques à deux photons. L'introduction du brome en *ortho* du phénol, implémentée auparavant sur les phénacyles, permet à la fois de promouvoir un passage à l'état triplet potentiellement impliqué dans le mécanisme, et d'abaisser son pKa de façon à créer un équilibre phénol/phénolate à pH physiologique. La forme anionique possède un caractère donneur bien plus prononcé, ce qui augmente le transfert de charge et décale l'absorption vers le rouge tout en améliorant nettement la solubilité dans l'eau ; alors que la forme neutre en équilibre, plus lipophile, est plus susceptible de franchir les bicouches lipidiques en milieu biologique, et possède une stabilité accrue pour le stockage du

composé.^[109] **BHC-[Ac]** est rapportée avec une photosensibilité de 2 GM ; un record pour l'époque (schéma I.25). Ces travaux ont cependant mis en évidence une certaine instabilité hydrolytique des acides aminés cagés par la fonction acide γ . La stabilité est améliorée lorsque le glutamate est cagé par une fonction carbamate sur l'azote α . Le rendement quantique et la cinétique de **BHC-[Glu]** sont cependant affectés par cette modification, et le δ_u tombe en dessous de 1 GM. **BHC-[Glu]** reste cependant encore aujourd'hui un composé de référence pour la libération d'acides aminés.

Suite à ces travaux, des analogues structuraux à la BHC modifiés en positions 6-, 7- et 8- ont été développés. Différents dérivés méthoxy,^[149,151] 6,7-diméthoxy,^[153] amino^[154] et dialkylamino^[155-158] enrichis en électrons ont été rapportés, mais ces modifications diminuent l'hydrosolubilité. Un dérivé 8-Aza-BHC a aussi été introduit par Narumi *et al.* L'introduction d'un azote endocyclique permet d'abaisser le pKa du phénol de 2 unités pour atteindre d'excellents niveaux de solubilité (jusqu'à 11 mM dans le PBS avec 0,1% DMSO), mais le Φ_u est cependant divisé par deux par rapport au composé parent.^[159]

Les stratégies d'ingénierie structurale pour l'augmentation du δ_u ont donné lieu à de nombreux dérivés mettant en avant la versatilité photophysique du squelette coumarine (schéma I.25). Les modifications en position 7- ont été les plus étudiées dans la littérature, et les dérivés 7-diéthylaminocoumarine (**DEAC**) cageant des neuromédiateurs ont en particulier gagné en popularité.^[155-158] Shembekar *et al.* ont rapporté la photolibération de glycine avec un Φ_u de 12%, plus de trois fois plus important que la BHC, et avec un maximum d'absorption décalé autour de 390 nm. Le neurotransmetteur est signalé comme étant biologiquement inerte, et le temps de demi-réaction est de 2.5 μ s.^[158] La perte de solubilité engendrée par l'introduction du groupement diéthylamino a été compensée par l'utilisation de chaînes biscarboxyméthylamino dans les travaux de Hagen *et al.* sur la DCMAC pour la photolibération de GMPC à deux photons.^[155] La photolyse du phosphate cagé est rapportée comme environ 1,3 fois plus rapide que celle de **BHC-[Glu]** dans les mêmes conditions, ce qui donnerait une section efficace de photolibération d'environ 1 GM. Récemment, une variante utilisant des groupements sulfonates a aussi été rapportée.^[160]

L'allongement du système π -conjugué en position 7- par introduction d'un groupement *p*-diméthylaminostyryl a aussi été rapportée.^[161] L'effet attendu sur le σ_2 est bien observé pour le composé **61** (schéma I.25) puisqu'une valeur de 309 GM, 150 fois plus importante que pour

la DEAC, est mesurée à 800 nm. Le rendement quantique de photolibération est cependant 60 fois plus faible dans les mêmes conditions d'irradiation, ce qui limite la valeur du δ_u à seulement 0,24 GM.

La position 3- du squelette de la coumarine est stratégique en termes d'ingénierie moléculaire puisqu'elle est à l'extrémité enrichie du système π -conjugué. En partant de ce principe, Ellis-Davies et coll. ont étendu le système π -conjugué en cette position avec un groupement acrylamide électroattracteur pour créer la DEAC450. Le caractère *push-pull* prononcé de ce composé décale les bandes d'absorption à un et deux photons respectivement à 450 et 900 nm. De façon étonnante, la DEAC450^[162] affiche également une nette augmentation du rendement quantique de photolibération par rapport à la DEAC, avec une valeur de 39% pour des acides carboxyliques (Glu,^[162] GABA^[163]), et qui peut même monter à 78% pour des phosphates (AMPC,^[164] GMPC^[165]). Une solubilité de 0,25 mM en milieu biologique a été rapportée après modulation du groupement solubilisant introduit sur l'amide (aspartate,^[162,164] ou oligoéthylèneglycol^[163]).

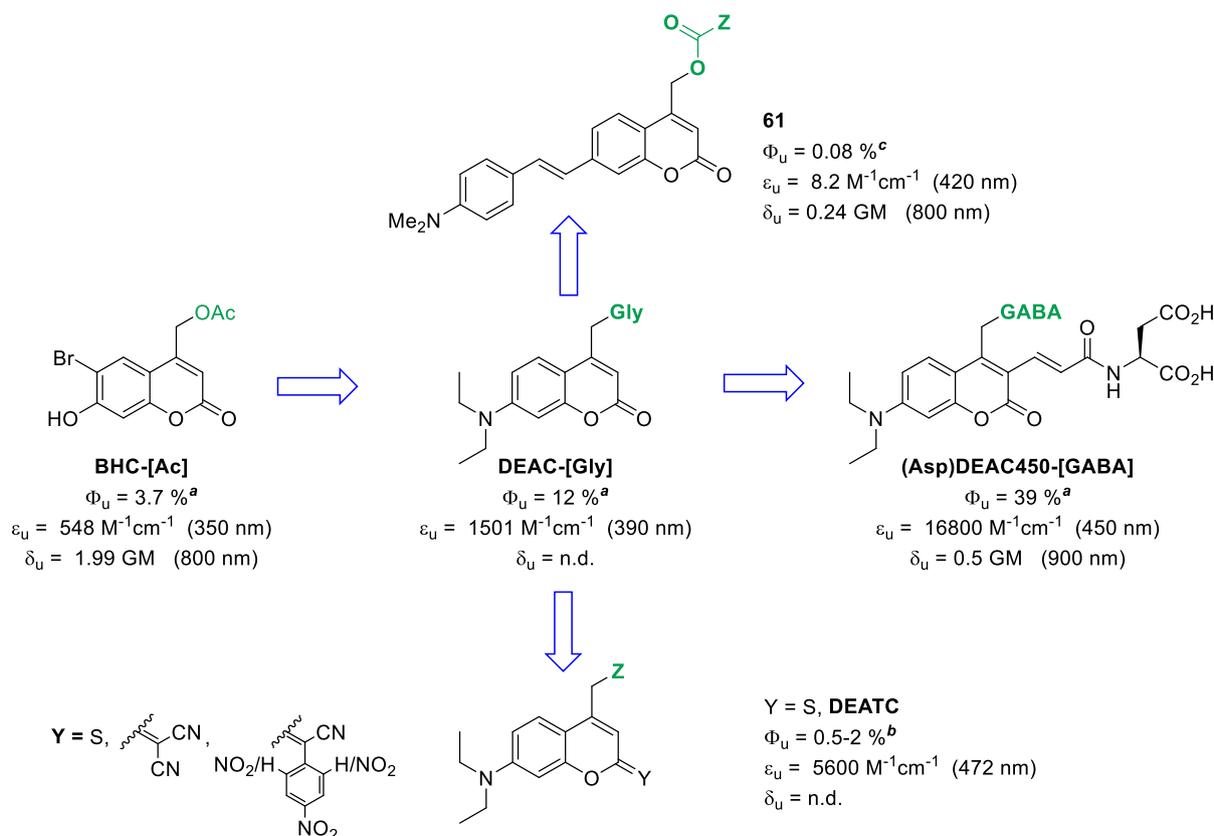


Schéma I.25 : Exemples de modifications structurales apportées au squelette de la coumarine, et leurs conséquences sur les propriétés photophysiques à un et deux photons. Valeurs déterminées pour une photolyse dans un tampon phosphate ^a pur ; ^b avec 50% d'acétonitrile ; ^c avec 90% d'acétonitrile.

Les expériences de photolibération à deux photons en milieu biologique ont permis d'exciter orthogonalement la DEAC450 à 900 nm en présence d'une autre cage NI. La photosensibilité déduite de ces expériences, estimée à 0,5 GM, reste cependant un facteur limitant. Les premières générations de (Asp)DEAC450-[GABA] présentent aussi l'inconvénient d'être antagonistes des récepteurs GABAergiques. L'implantation d'un dendrimère de génération 5 très encombré sur l'acrylamide dans le composé (G₅)DEAC450-[GABA] (schéma I.26) a récemment permis de « masquer » le neuromessager cagé, et diminuer les effets d'antagonisme.^[166]

Les variations d'absorption les plus fortes sont enregistrées lorsque des transformations chimiques sont opérées au niveau du carbonyle C(2) de la lactone. La modification du motif attracteur endocyclique chez les décageurs de type DEAC a été étudiée par plusieurs groupes. Costa et coll.^[167] puis Jullien et coll.^[168,169] ont rapporté la thionation de la DEAC (schéma I.25). Le thiocarbonyle est connu pour apporter un fort décalage bathochrome lié à un abaissement de l'énergie des transitions,^[170] et le maximum d'absorption de la DEATC est mesuré à 472 nm. Le composé a été utilisé *in vivo* pour l'activation orthogonale de Cyclofen à 488 nm.^[169] Le rendement quantique de la DEATC est cependant presque un ordre de grandeur plus faible que pour l'analogue DEAC, et souffre d'une certaine instabilité de son sous-produit de photolyse.^[168] La bibliothèque de composés synthétisés par Fournier *et al.* dans ces travaux contient de très nombreux analogues absorbant dans le vert, dont des dicyanovinylcoumarines utilisées depuis par Marchán et coll. dans un élégant système de ciblage par un peptide RGD photoactivable pour la délivrance de médicaments.^[171] Récemment, leur groupe a également rapporté la synthèse de coumarines étendues en C(2) par des groupements cyano(4-nitrophényl)méthylènes (schéma I.25) dont la courbe de 1PA s'étend pour certaines cages jusqu'à plus de 700 nm, avec un maximum autour de 600 nm. L'efficacité de ces cages est cependant dramatiquement affectée par cette modification structurale, avec un Φ_u de l'ordre de 10^{-6} dans le méthanol.^[172] Aucune expérience de 2PU n'a été effectuée à ce jour sur cette gamme de composés modifiés en C(2).

Sans avoir d'influence sur le σ_2 , d'autres évolutions structurales ont été implémentées pour améliorer le rendement quantique de photolyse. L'ajout d'un groupement méthyle sur le carbone benzylique est censé apporter une stabilisation au carbocation intermédiaire **59** au cours du processus de photolyse. Rapportée d'abord par Weis *et al.*,^[173] cette modification a eu un effet négligeable sur la DEAC puisque le Φ_u rapporté est sensiblement identique dans ces

travaux. L'efficacité est cependant doublée dans le cas de la dicyanovinylcoumarine de Marchán et coll.^[171] Très récemment, Specht et coll. ont optimisé cette idée de ramification en introduisant une chaîne oligoéthylène glycol à la place du méthyle pour une meilleure solubilité dans l'eau.^[174] Le Φ_u rapporté pour la libération d'aminodoxycycline *via* une fonction carbamate dans le composé **63** est presque doublé par rapport à la DEAC (21%), et la valeur de 4 GM rapportée en 2PU est parmi les plus élevées pour un dérivé de cette famille à ce jour.

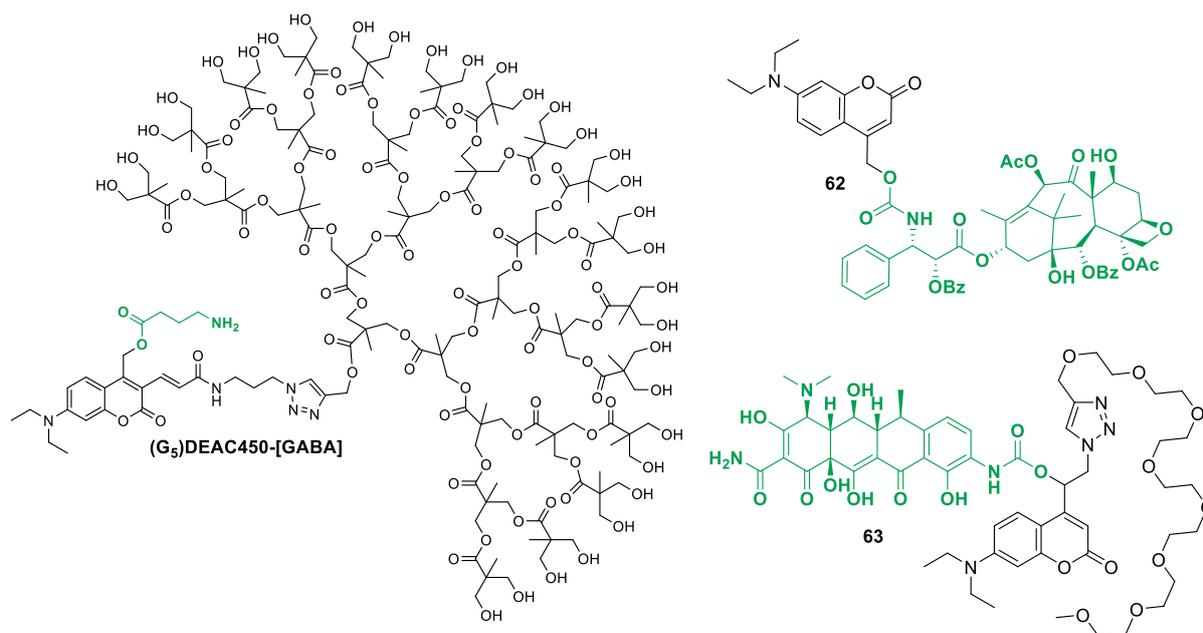


Schéma I.26 : Exemples de dérivés DEAC utilisés pour la libération de GABA ((G₅)DEAC450-[GABA]),^[166] de taxol (**62**),^[175] ou de 9-aminodoxycycline (**63**).^[174]

Les coumarines sont aujourd'hui parmi les cages les plus utilisées en neurobiologie, mais aussi en sciences des matériaux,^[176,177] ou en thérapie^[175,178,179] en tant que prodrogues, à l'image du « phototaxel » **62** précurseur du paclitaxel.^[175] Les cages coumarines présentent une rapidité de libération intéressante (de l'ordre de 10^8 s^{-1}), et surtout une exceptionnelle modularité structurelle. L'extension du système π -conjugué a permis de décaler l'absorption de la DEAC de 60 nm,^[162] et la versatilité des propriétés optiques est encore accrue lorsque les modifications sont effectuées au niveau de la lactone. La stabilité hydrolytique des acides aminés cagés en γ a été un point limitant dans certaines études, et la nécessité d'introduire une fonction carbonate ou carbamate intermédiaire permet d'améliorer la stabilité, au détriment de la cinétique qui est par conséquent dépendante de la réaction de décarboxylation successive. Le rendement quantique est en cela fortement dépendant de la fonctionnalité cagée ; de très fortes disparités étant enregistrées par exemple entre carbamates, acides, et phosphates, ou même entre deux acides aminés différents.^[157] Malgré des propriétés optiques extrêmement

modulables, la photosensibilité à deux photons reste modérée, les valeurs les plus élevées dans l'eau étant toujours enregistrées pour la BHC de Tsien *et al.* et pour la DEAC.

III.3.1.e. La famille des quinoléines

Dans les années qui ont suivi les premiers rapports d'utilisation de coumarines pour la photolibération à deux photons^[109] a été développée une nouvelle famille de cages hétérocycliques basée sur un squelette de quinoléine. La 8-bromo-7-hydroxyquinoline (BHQ) a ainsi été introduite par Fedoryak et Dore en 2002 pour la libération d'acides carboxyliques, avec un δ_u de 0,59 GM à 740 nm (figure I.14).^[180] Des fonctions carboxylates, phosphates et des diols ont ensuite été déprotégés dans les mêmes conditions avec des δ_u compris entre 0,4 et 0,9 GM.^[181] Ces premières études ont montré que la cage **BHQ-[Ac]** est photolysée plus rapidement que son analogue **BHC-[Ac]**, et que sa solubilité ainsi que sa stabilité à l'hydrolyse sont compatibles avec des études en milieu physiologique, bien que leur stabilité dans le noir soit largement inférieure.^[180]

La similitude avec la famille des coumarines se retrouve aussi dans le mécanisme de fragmentation qui a été rapidement assimilé à une rupture hétérolytique de la liaison C-O suivie d'une solvolysse à l'état excité ; une hypothèse soutenue par l'incorporation d'oxygène ^{18}O dans le sous-produit lorsque la photolyse est effectuée dans H_2^{18}O .^[181] Dans un premier temps, il a été postulé que ce mécanisme de type $\text{S}_{\text{N}}1$ s'effectuait à partir d'un état singulet, et que l'effet d'atome lourd du brome en position 8-, favorisant le croisement intersystème, était potentiellement délétère à l'efficacité de photolyse. Le brome ayant ici encore un effet important sur le pKa du phénol – et donc sur l'équilibre entre forme neutre et anionique en milieu physiologique – la démarche adoptée pour augmenter le δ_u fut alors de trouver de nouveaux substituants électroattracteurs mais ne favorisant pas le passage à l'état triplet.^[182] Les modifications structurelles effectuées dans l'étude de Dore et coll. en 2009 et leurs effets sur le Φ_u et le δ_u sont résumées sur la figure I.14.

L'analogue chloré de la BHQ était un choix naturel pour garder l'abaissement du pKa en perdant l'effet d'atome lourd. De façon surprenante, le Φ_u est pourtant divisé par 3. Cette diminution fut d'abord attribuée à une hausse de la fluorescence, qui est un processus compétitif de la photolyse, mais a d'emblée mis en lumière un rôle important du brome dans le processus de photolyse. La substitution par un cyano entraîne un effet très fort sur le pKa, et l'hydroxyquinoléine se retrouve quasi-exclusivement sous sa forme ionique en milieu

physiologique. Cette modification permet de conserver le Φ_u , et de tripler la photosensibilité à un photon, mais ne se ressent pas en 2PU. Enfin le groupement nitro quenche totalement la photochimie du composé, probablement à cause d'un état triplet de basse énergie.

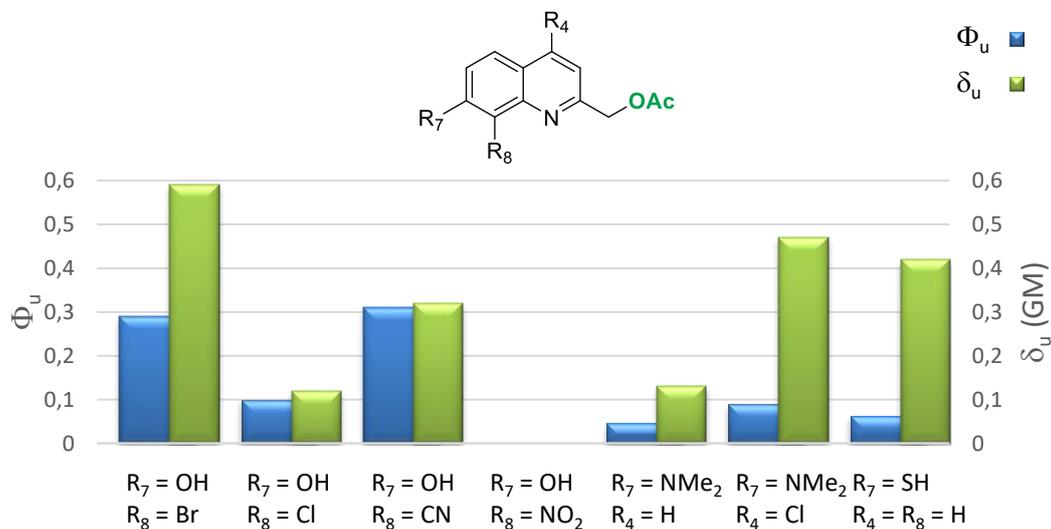


Figure I.14 : Évolution du rendement quantique de photolibération (bleu) et de la section efficace de photolibération à deux photons (vert) en fonction des substituants présents sur le squelette de la quinoléine.^[182]

L'augmentation du pouvoir donneur en position 7- a été étudiée en remplaçant l'hydroxyle par un groupement diméthylamino ou un thiol. L'effet sur l'absorption à deux photons est positif, surtout lorsqu'un chlore est ajouté en position 4- sur le squelette de la quinoléine, mais la modification est contre-productive au niveau du rendement quantique de photolibération.^[182] Parmi les composés étudiés dans cette série, la BHQ garde donc le δ_u le plus élevé.

Grâce à cette étude et à la comparaison entre bromo- et chloroquinoléine, le rôle du brome dans le mécanisme a par la suite pu être affiné, et le mécanisme de la photolyse des 8-halogéno-7-hydroxyquinoléines élucidé (schéma I.27).^[183] Celui-ci implique le passage à l'état triplet de la forme anionique **64-A**, soit par excitation directe, soit par excitation de la forme neutre **64** suivie d'un transfert de proton à l'état excité. La rupture hétérolytique de liaison a ensuite lieu à partir de l'état triplet de **64-A**, pour aboutir à la forme zwitterionnique **66-Zw**. Le piégeage du carbocation entraîne la formation du sous-produit de photolyse **67-A** et de l'acide carboxylique libre. La fragmentation a lieu sur une échelle de temps inférieure à la microseconde.^[181,183]

Il faut noter que le processus de photolyse de la BHQ est en compétition avec une réaction de déhalogénéation à l'état excité qui fait chuter le rendement chimique de la réaction

autour de 70%. Cette réaction parasite n'est pas observée avec le dérivé chloré.^[183] La 8-bromo-7-hydroxyquinoléine, ainsi que la 8-cyano-7-hydroxyquinoléine ont depuis été appliquées avec succès à la photolibération à deux-photons de phénols d'intérêts biologiques, tels que la sérotonine, l'octopamine ou la tyrosine.^[184,185]

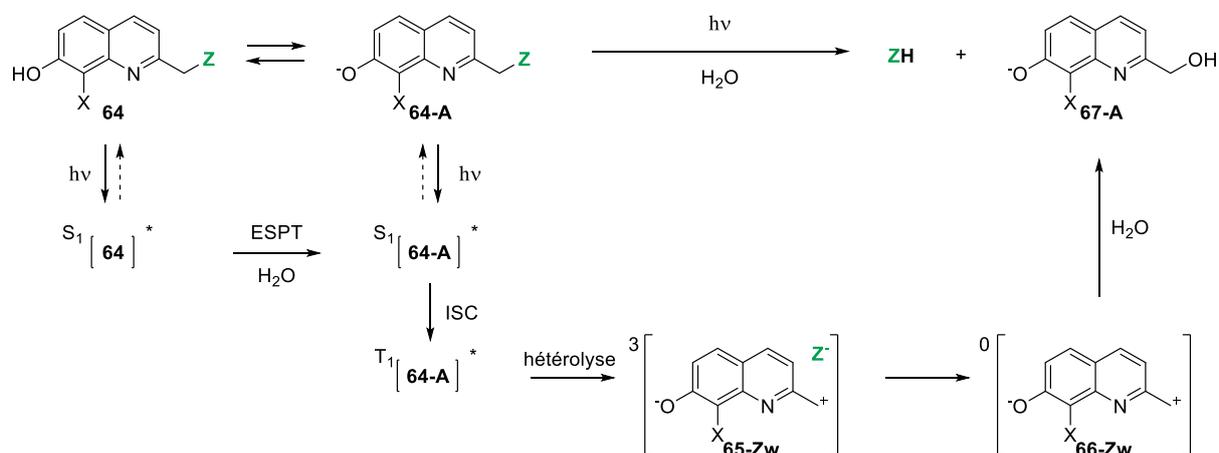


Schéma I.27 : Mécanisme de photo-solvolyse des cages de la famille des quinoléines.

Les quinoléines sont un exemple particulièrement intéressant d'ingénierie moléculaire et des difficultés du design de cages efficaces en absorption biphotonique. L'équipe de Dalko et coll. s'est en cela attardée sur l'augmentation du transfert de charge dans les cages quinoléines. Dans des premiers travaux, une comparaison des isomères de position de la 7-DMAQ, étudiée précédemment par Dore,^[182] a été effectuée. L'isomère 8-DMAQ (schéma I.28) est alors rapporté comme étant photolysé 6 fois plus rapidement que la 7-DMAQ dans un mélange TRIS/acétonitrile.^[186] Le composé **8DMAQ-[Ac]** présente dans ces conditions un δ_u de 1,7 GM à 700 nm, son maximum d'absorption à deux photons.

En se basant sur cette observation, de plus amples modifications ont été apportées dans le but d'augmenter le transfert de charge via l'introduction d'un système *push-pull* dipolaire sur le bicyclic aromatique,^[187] ou bien d'incorporer le motif photosensible dans des systèmes centrosymétriques quadrupolaires^[188,189] ou octupolaires.^[190,191] Quelques exemples des dérivés synthétisés sont rassemblés sur le schéma I.28.

Pour augmenter le transfert de charge à l'état excité et la section efficace d'absorption, un acide carboxylique attracteur a été introduit sur la 8-DMAQ. De façon surprenante, bien que le 5-carboxy-8DMAQ soit 6 fois moins efficace en 2PU que le composé 8-DMAQ parent dans les mêmes conditions, l'introduction d'un lien phényle intermédiaire a finalement validé la stratégie en triplant la valeur du δ_u dans le cas du composé **68**.^[187]

Le design de systèmes centrosymétriques à base de quinoléines a conduit à des fortunes diverses. Le dimère de quinoléine **69** présente des performances légèrement inférieures à la 8-DMAQ seule, avec seulement 0.40 GM à 730 nm.^[188] L'allongement de la conjugaison avec un cœur 2,7-fluorényle dans le composé **70** a cependant permis une nette amélioration du δ_u ,^[189] qui reste toutefois dans la même gamme que celui du composé dipolaire **68**. Il faut noter que ces valeurs évaluées par des photolyses comparatives à 730 nm peuvent être potentiellement supérieures lorsqu'elles sont déterminées au maximum de la bande autorisée à deux photons.

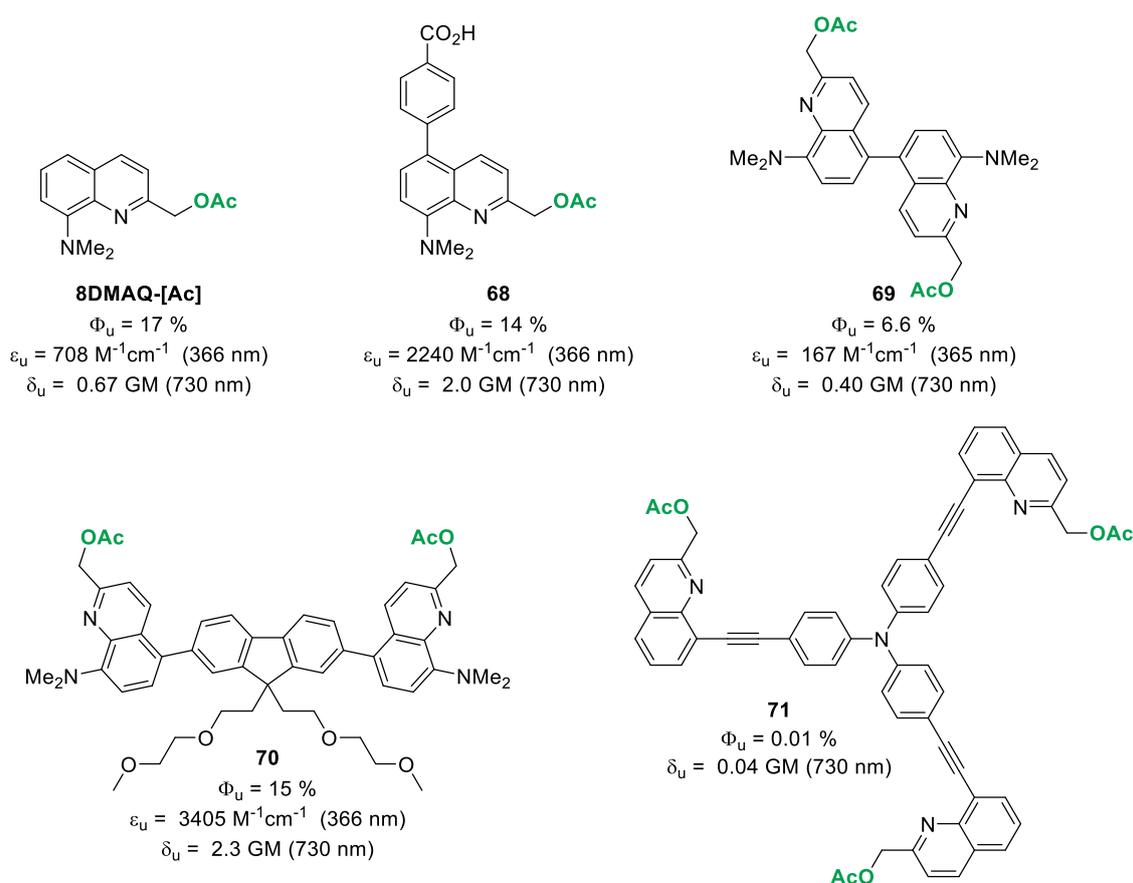


Schéma I.28 : Exemples d'incorporation des cages quinoléines dans des structures dipolaires, quadrupolaires et octupolaires pour l'optimisation des sections efficaces de photolibération à deux photons.

Enfin, l'imprévisibilité de cette stratégie est illustrée avec le cas du composé octupolaire **71** synthétisé dans l'équipe par Picard *et al.*, dans lequel trois quinoléines sont couplées en C8 par un groupement triphénylamine *via* des ponts éthyne. Bien que le σ_2 de **71** atteigne les 390 GM, le rendement quantique de photolibération chute de plusieurs ordres de grandeurs, ce qui limite considérablement l'efficacité de photolibération à deux photons.^[191] À ce titre, il faut souligner que dans ces études l'utilisation d'un lien éthyne dans ces composés multipolaires à base de quinoléines a un effet très négatif sur l'efficacité de photochimie.^[189,191] Une gamme

de trimères de quinoléines sans triples liaisons synthétisée par Dalko et coll. a en effet été rapportée avec des valeurs de l'ordre de 0.5 à 2 GM.^[190]

Dotées d'une bonne solubilité en milieu aqueux et d'une certaine versatilité en termes de fonctions protégées (phénols, diols...), les quinoléines font aujourd'hui partie des familles de cages les plus étudiées. Elles restent cependant très sensibles aux modifications structurales, et moins performantes en excitation biphotonique que les derniers dérivés NPPOC rapportés.

III.3.1.f. La famille des 2-hydroxycinnamyles

Les esters d'acides *ortho*-hydroxycinnamiques (*o*HC) ont été introduits par le groupe de Porter en 1988 pour de l'inhibition de protéases réversible par irradiation lumineuse.^[192] La fonction ester des inhibiteurs synthétisés dans ces travaux est clivée par absorption de lumière, ce qui permet à l'enzyme de regagner son activité. La formation de l'isomère *Z* **72-cis** ainsi que l'élimination de l'alcool à partir de l'hémiester **73** (schéma I.29) souffrent d'une cinétique assez lente (de l'ordre de 10^{-2} s^{-1}),^[193] ce qui est le principal facteur limitant de cette classe de composés. Il faut noter que le processus thermique est fortement accéléré lors d'une irradiation biphotonique à cause de l'échauffement localisé au point focal, ce qui rend l'étape de d'isomérisation cinétiquement limitante.

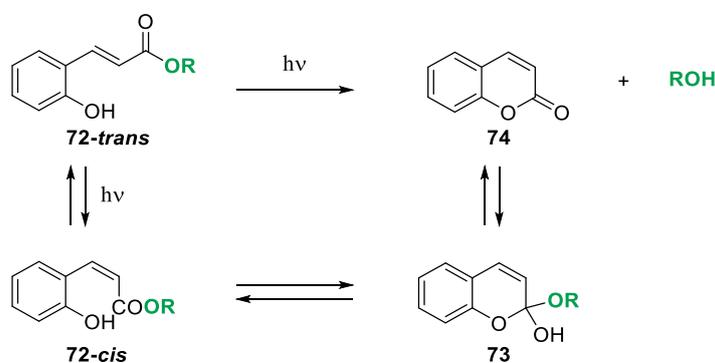


Schéma I.29 : Mécanisme de la libération d'alcools par photo-isomérisation/lactonisation des *o*HC.

Les dérivés *o*HC présentent plusieurs spécificités intéressantes en tant que décageurs, et notamment une bonne perméabilité cellulaire due à une certaine ambivalence entre hydrophilie, pour la solubilité, et lipophilie pour franchir les barrières biologiques.^[193] La particularité de cette méthode de fragmentation réside aussi dans l'apparition d'une forte intensité de fluorescence liée à la formation de la coumarine **74** lors de la libération (figure I.15, courbe bleue, flèche bleue). L'acide *ortho*-hydroxycinnamique de départ n'étant pas fluorescent, la luminescence du sous-produit ouvre la porte à de potentielles applications thérapeutiques.

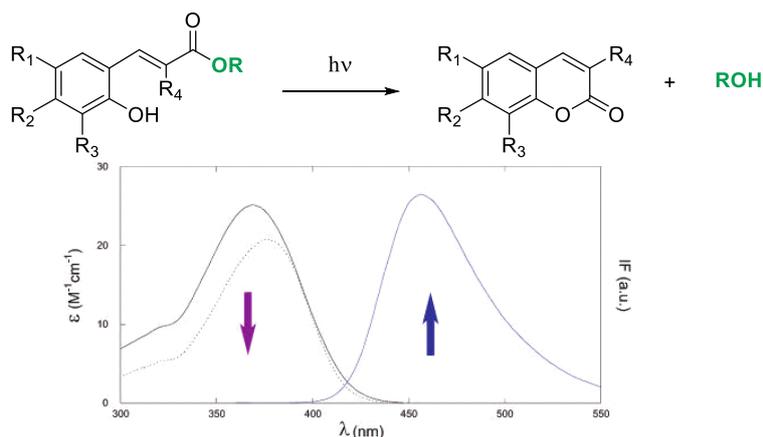


Figure I.15 : Spectres d'absorption de la cage *o*HC et du sous-produit coumarine, et apparition d'un spectre de fluorescence lors de la formation du sous-produit coumarine.^[193]

L'influence des substituants sur le système conjugué de la plateforme *o*HC a été étudiée par Jullien et coll. pour la photolibération d'alcools modèles (EtOH, BuOH).^[193–195] Le composé **75** (schéma I.30) a été développé en suivant une stratégie analogue à celle de Furuta *et al.* pour la BHC.^[109] L'introduction sur le cycle aromatique d'un agencement donneur de substituants 3,5-dibromo-4-hydroxy permet, à pH physiologique, de décaler l'excitation du composé à 350 nm, tout augmentant la solubilité dans l'eau *via* l'équilibre phénol/phénolate. L'enrichissement du cycle aromatique (**76** et **77**) augmente logiquement le transfert de charge, et par conséquent le δ_u , qui atteint 4,7 GM pour le composé **77**, sans altérer significativement le Φ_u . Un analogue à ce composé possédant deux carboxylates a depuis été rapporté avec un Φ_u de 18% et une solubilité supérieure à 1 mM en milieu aqueux tamponné, mais aucune expérience de 2PU n'a été effectuée.^[196]

La substitution de la double liaison du cinnamate a un effet important sur la cinétique, qui peut être doublée dans le cas du composé **78**.^[195] Certains composés substitués en cette position se sont cependant avérés instables à température ambiante ; la lactonisation s'effectuant spontanément en quelques heures avec libération de l'alcool.^[193] L'encombrement stérique peut aussi être la cause d'un décalage hypsochrome de la bande d'absorption lié à une perte de planarité.

Enfin, le remplacement du phénol par un naphthol dans la structure de la cage cause une très forte augmentation du rendement quantique de photoisomérisation. Le δ_u de **79** n'est cependant pas augmenté en conséquence. Récemment, Paul *et al.* ont aussi étendu le système π -conjugué avec un hétérocycle électroattracteur ($R_1 = \text{Me}$, $R_3 = 2\text{-benzothiazolyl}$).^[197] La cage

synthétisée a permis la photolibération de méthylsalicylate *in vitro* dans des cellules HeLa par excitation à un photon, avec un rendement quantique estimé à 10%.

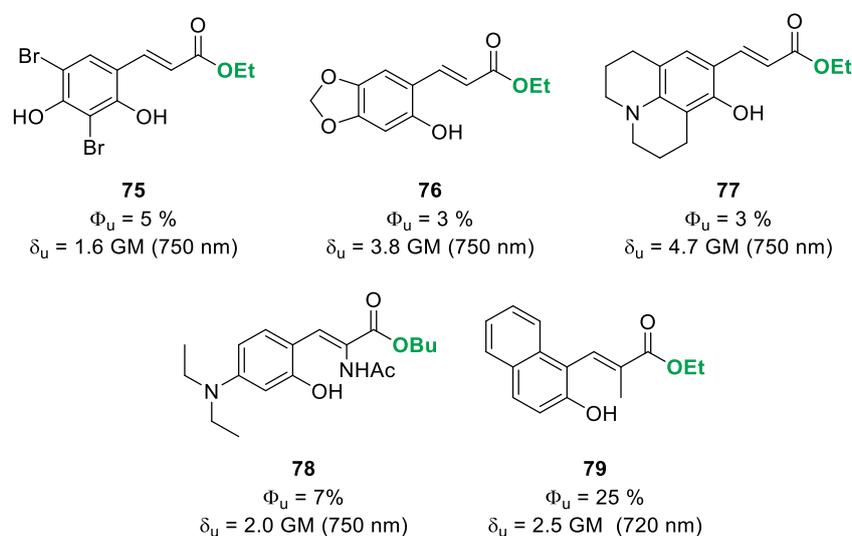


Schéma I.30 : Structures et propriétés de photolibération par excitation biphotonique des principales cages de la famille des oHC.

Finalement, le composé **75** étant le plus adapté aux expériences physiologiques, l'utilisation des oHC a pu être testée *in vivo* avec succès dans des embryons de zébrafish irradiés à 750 nm.^[194] Outre les nombreux avantages propres à cette famille, il faut ajouter que les sections efficaces de photolyse à deux photons enregistrées sont particulièrement élevées compte tenu de la relative simplicité des structures mises en jeu. Elles sont cependant réservées à la libération d'alcools, pour des phénomènes physiologiques compatibles avec une libération lente de substrats.

III.3.1.g. L'émergence de nouvelles structures photosensibles

Si ces six familles de PPG rassemblent à ce jour une très grande majorité des articles dans le domaine de la photolibération, il existe une multitude d'autres structures capables de se fragmenter sous irradiation lumineuse.^[99] Certaines sont déjà largement utilisées en études biologiques, d'autres sont en phase de découverte et d'optimisation mais possèdent déjà des caractéristiques intéressantes (schéma I.31).

Au milieu des structures de cages purement organiques abordées dans ce manuscrit, il faut citer l'existence de complexes organométalliques qui tiennent une part non négligeable dans la libération de neuromédiateurs. Ainsi, le complexe de ruthénium (II) RuBi, développé au milieu des années 2000,^[198] est capable de libérer un de ses ligands amine par excitation dans sa bande MLCT, centrée à 450 nm en solution aqueuse. Le dérivé **RuBi-[Glu]**, cageant du

glutamate, a été préparé par Salierno *et al.*, et photolysé en excitation biphotonique à 800 nm dans des neurones.^[199] Une expérience de photolyse comparative a pu mettre en évidence une activation du potentiel d'action plus de deux fois plus rapide que dans le cas de **MNI-[Glu]**. La réaction de photolibération est effectuée en moins de 50 ns, ce qui place le complexe parmi les cages les plus rapides disponibles.^[199] Ce complexe de Ruthénium ne modifie pas l'intégrité des membranes ni des neurones vivants aux concentrations testées, et présente une photosensibilité à deux photons de 0,14 GM ce qui en fait une alternative intéressante aux nitroindolines. La palette de neuromédiateurs cagés par le complexe RuBi s'est depuis élargie, avec notamment **RuBi-[Dopa]**^[200] ou **RuBi-[GABA]**^[90] disponibles commercialement.

Les carbazoles sont des hétérocycles riches en électrons couramment utilisés en optique non linéaire, électronique organique ou encore photopolymérisation. En 2016, Pradeep Singh et coll. ont rapporté les premiers exemples d'applications de carbazoles à l'*uncaging*.^[201] Dotés d'une structure pouvant s'apparenter à la famille des phénacyles, les mono- ou bisacétylcarbazoles tels que **80** sont capables de libérer respectivement une ou deux biomolécules semblables ($Z = Z'$) ou non ($Z \neq Z'$). Il est postulé que, comme dans le cas des phénacyles, la photolyse s'effectue à partir de l'état triplet. La rupture de liaison peut être hétérolytique, ou homolytique suivie d'un transfert d'électrons.

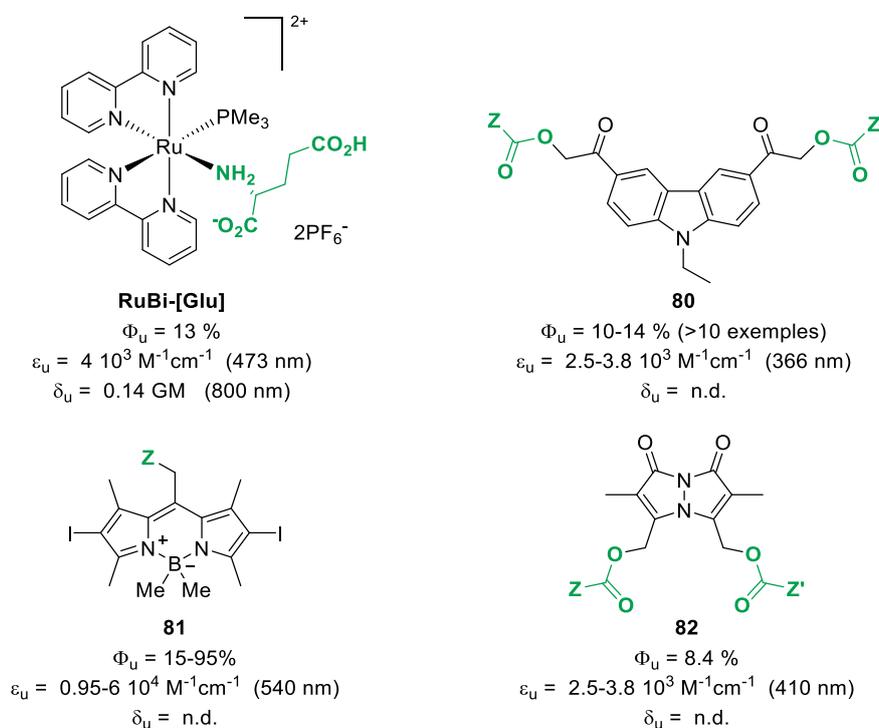


Schéma I.31 : Structures et propriétés photophysiques de nouveaux composés photosensibles applicables à l'*uncaging*.

Les résultats montrent une photolyse quantitative sur plus d'une dizaine d'exemples, pour des rendements quantiques de l'ordre de 10 à 15% dans un mélange d'eau tamponnée et de 30% d'acétonitrile. Aucune expérience de photolibération à deux photons n'a été rapportée à ce jour, mais les composés ont déjà été appliqués plusieurs fois à la libération d'agents anticancéreux (acide caféique et chlorambucil). L'expérience de photolibération sur des cellules HeLa a dans ce cas montré un taux de cellules inertes de 82% dans le noir, chutant à 45% après irradiation.^[202,203] Un élégant système à trois branches permettant à la fois thérapie, ciblage et imagerie a également été élaboré à partir d'un cœur carbazole et d'un agent de reconnaissance (biotine) lié *via* l'azote du carbazole.^[204]

Les chromophores à base de BODIPY sont bien connus pour être d'excellents fluorophores, mais ce n'est que très récemment que Šolomek *et al.* ont suggéré que les contributions orbitales des HOMO et LUMO suivaient une répartition semblable à celles retrouvées dans d'autres PPG, et pouvaient donc potentiellement entraîner le clivage d'une liaison.^[150] La particularité des cages basées sur une structure de BODIPY réside dans la présence de deux positions photosensibles. Urano *et coll.* ont montré en 2014 la possibilité de cliver une liaison B-O pour la libération de phénols avec de la lumière verte,^[205] et appliqué récemment cette stratégie pour la libération de capsaïcine.^[206] Malgré les très forts coefficients d'absorption des BODIPY à 560 nm, les rendements quantiques de photolibération sont extrêmement faibles. Cependant, les groupes de Feringa^[207] et Klán^[208] ont montré, en accord avec les calculs empiriques de répartition électronique, que les méso-méthyl BODIPY présentaient une sensibilité largement accrue à l'irradiation. Une étude d'optimisation structurelle a permis de mettre au point le composé diiodé et diméthylé **81**, qui présente un Φ_u impressionnant de 95% pour la libération d'ions chlorure dans le méthanol dégazé.^[208] Cette valeur chute à 32% pour la libération de phénylalanine en solution oxygénée, ce qui révèle une forte contribution de l'état triplet dans le mécanisme. Aucune étude d'excitation biphotonique n'a été menée jusqu'à présent, et la solubilité en milieux physiologique reste pour l'instant un obstacle, mais les valeurs de ϵ_u mesurées sont parmi les plus élevées ; particulièrement à des longueurs d'ondes aussi hautes.^[208]

D'autres composés de structures différentes, mais présentant des similitudes mécanistiques avec les autres familles, continuent d'être découverts. C'est notamment le cas des bimanés comme le composé **82**, qui permettent, comme les carbazoles, de libérer deux acides carboxyliques différents de façon séquentielle. Les exemples rapportés indiquent un

rendement chimique en composé décagé atteignant 87%, pour un rendement quantique de 8,4 % dans un mélange H₂O/MeCN (19/1).^[209]

Le travail d'optimisation structurale des cages pour l'absorption à un comme à deux photons s'avère donc viable, mais fastidieux et imprévisible. D'excellentes valeurs de δ_u , atteignant les 20 GM pour la libération d'acide carboxyliques, ont pu être obtenues dernièrement *via* cette stratégie. Pourtant, les résultats peu satisfaisants sont aussi nombreux que les succès. Pour pallier à ces difficultés, il est possible de contourner le problème en découplant le phénomène d'absorption de la photochimie en utilisant une « antenne à énergie ».

III.3.2. Photosensibilisateurs et « effet d'antenne »

Plutôt qu'optimiser les propriétés photochimiques et les performances d'*uncaging* par modifications structurales directement sur la cage, il est possible d'améliorer sa capacité d'absorption de lumière par l'introduction d'un second chromophore agissant comme photosensibilisateur. Le chromophore photosensibilisateur agit comme une « antenne » pour capter l'énergie lumineuse plus efficacement que la cage, et transfère ensuite son état d'excitation au module responsable de la photochimie par l'intermédiaire des processus décrits dans le paragraphe II.3. L'efficacité du processus est par conséquent dépendante de la distance entre les deux modules, qui sont généralement liés entre eux par un espaceur aliphatique ou une « plateforme ».

Le phénomène d'excitation indirecte d'une cage fut rapporté pour la première fois en 2004, par Zhao *et al.* dans le cas particulier d'un fluorophore cagé par un groupement NPE.^[210] La 7-hydroxycoumarine cagée par sa fonction phénol, et non fluorescente, est libérée en excitation mono- et biphotonique avec une efficacité supérieure de deux ordres de grandeur aux valeurs rapportées jusque-là ($\delta_u = 0.68$ GM). Les auteurs attribuent cette augmentation à une assistance du fluorophore dans le processus d'absorption, et à un transfert d'énergie inverse entre la coumarine et le NPE. Un effet coopératif du même ordre a été observé pour un dérivé cagé d'acide rétinoïque.^[211] Dans ces cas particuliers, la molécule protégée sert elle-même d'antenne dans le processus d'excitation. Cependant le phénomène peut être exploité comme base d'une stratégie d'ingénierie à part entière.

À partir de cette idée, l'équipe de Corrie et coll. a synthétisé un système coopératif comportant une antenne chromophorique de type benzophénone sensibilisant *via* l'état triplet un décageur de type NI (schéma I.32).^[144,212,213] L'antenne benzophénone du composé **83** peut être fonctionnalisée par des groupements hydrophiles (aspartate, phosphate...)^[213] pour

atteindre des concentrations importantes en milieux aqueux. Le transfert d'énergie est mis en évidence par une importante diminution du temps de vie de l'état triplet,^[144] et ce type de système synergique a conduit à des augmentations significatives (jusqu'à un facteur 20) de l'efficacité de photolibération en solution oxygénée par rapport à **MNI-[Glu]** isolé. La stratégie a été validée par des expériences concluantes de libération de glutamate dans des neurones de l'hippocampe à 300 nm.^[144] L'absorption à deux photons est cependant en dehors de la gamme des lasers TiS (580 nm).

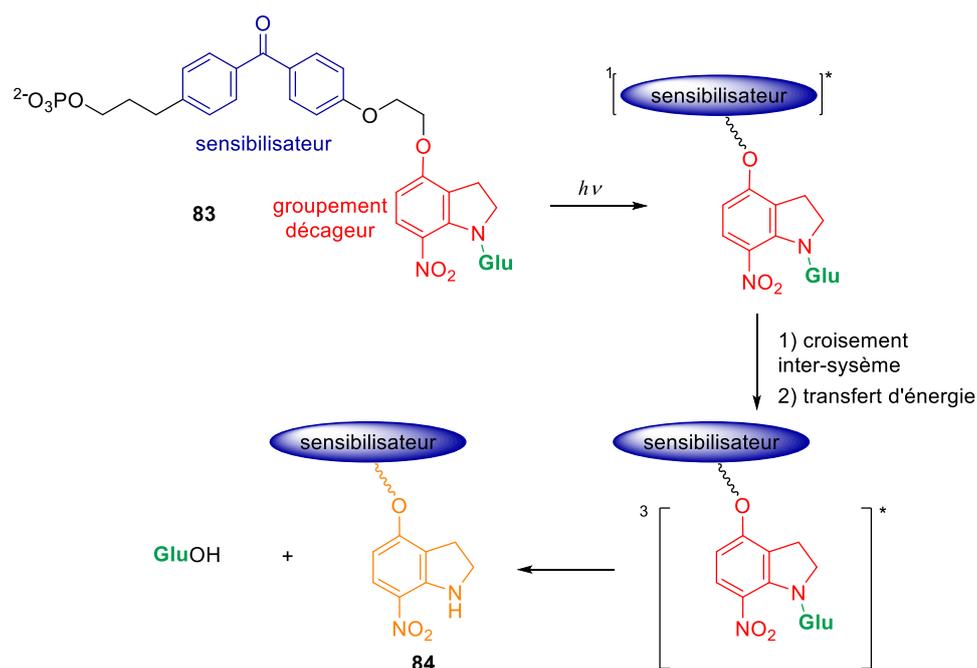


Schéma I.32 : Mécanisme de la déprotection de l'analogue de MNI-[Glu] par l'intermédiaire d'un photosensibilisateur covalent.^[144]

Dans le but d'adapter cette stratégie à l'absorption biphotonique, des systèmes tandem absorbant dans le PIR ont récemment été synthétisés au laboratoire et dans l'équipe d'Anderson et coll. Ces derniers ont ainsi désigné des quadripôles bis-donneurs avec un cœur fluorényle dont les chaînes latérales sont fonctionnalisées par des groupements pyridinium,^[214] excellents accepteurs d'électrons et capables de déprotéger des acides carboxyliques par un mécanisme de transfert d'électrons.^[215] L'idée de cette structure était d'adapter à l'excitation biphotonique un précédent système rapporté par Sundararajan et Falvey dix ans plus tôt, dans lequel le même sel de pyridinium est activé par la photoréduction d'une antenne de type benzophénone.^[216] Les puissants donneurs azotés présents sur la structure conjuguée du quadripôle lui confèrent un σ_2 supérieur à 1000 GM, tout en permettant un rendement de transfert de charge vers le pyridinium estimé à 98%. La photolyse comparative du composé **85** a permis d'évaluer sa photosensibilité

à 10 GM ; cependant le remplacement du groupement pyridinium par des cages traditionnelles du type *o*NB et phénacyle perturbe totalement la réaction de photolyse, et les acides aminés cagés ne sont alors plus libérés qu'avec un rendement chimique inférieur à 20%.

Une stratégie analogue permettant l'utilisation de ces cages traditionnelles a été développée au laboratoire. Des édifices tri-modulaires appelés « triades », capables de libérer deux équivalents de glutamate après transfert d'énergie de l'antenne vers la cage, ont été mis au point dans l'équipe en 2013.^[217] Ces triades sont constituées de deux sous-unités NI greffables assemblées par chimie click sur un quadrupôle absorbant à deux photons ayant le rôle d'antenne. La sous-unité quadrupolaire est choisie de façon à rendre possible du FRET avec la sous-unité cage absorbant dans l'UV ; l'émission étant décalée autant que possible vers le proche UV par l'utilisation de groupements donneurs ($X = O$) ou accepteurs ($X = SO_2$). Les expériences de photolyses effectuées montrent que le δ_u du composé **86** est dix fois supérieur à celui de **MNI-[Glu]** seul, ce qui valide la méthodologie utilisée.^[217]

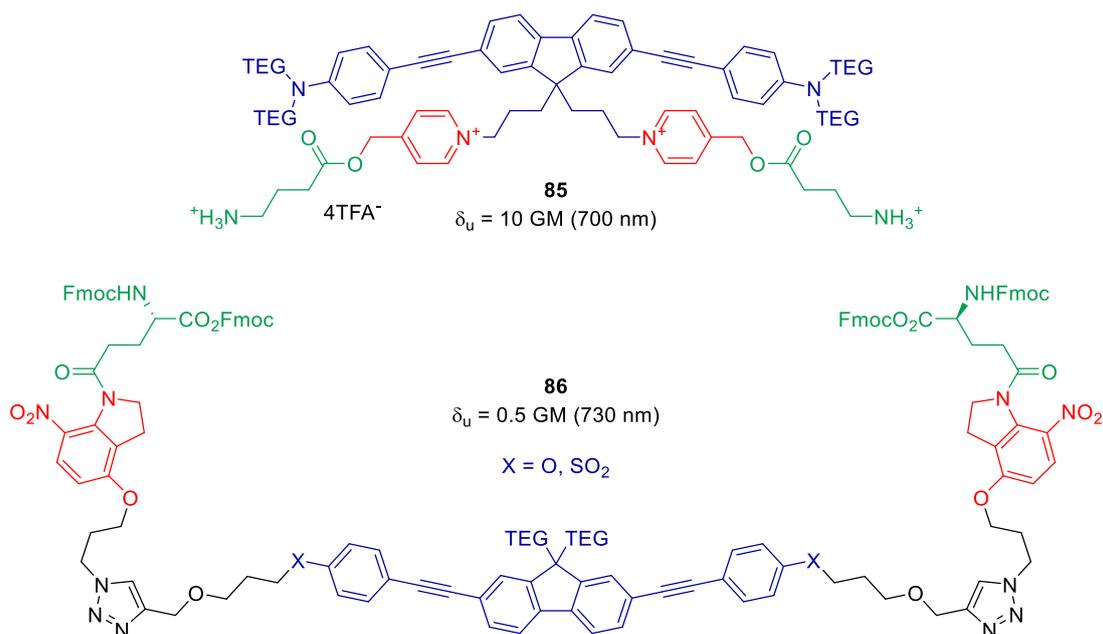


Schéma I.33 : Structures des systèmes coopératifs à base d'antennes quadrupolaires développés par Korzycka *et al.*^[214] et Picard *et al.*^[217]

Par la suite, d'autres systèmes coopératifs de type « dyades » (schéma I.34) ont alors été synthétisés dans le but de concentrer le FRET sur une seule sous-unité cage. Différentes dyades constituées de quadrupôles bis-donneurs et bis-accepteurs pour une cage de type *o*NV, reliées de façon covalente par l'intermédiaire d'un clip phosphoré, ont été synthétisées.^[218] Les cages *o*NV utilisées dans cette étude, bien que possédant un rendement quantique Φ_u inférieur au

MNI, présentent toutefois une absorption légèrement décalée vers le rouge par rapport à ce dernier, et sont donc potentiellement plus compatibles avec l'émission des antennes choisies. Des efficacités de transfert d'énergie allant jusqu'à 38%, en accord avec le recouvrement des courbes des différents modules, ont pu être déterminées. Cette stratégie a permis de mettre en évidence une augmentation d'un facteur 5 à 6 de la section efficace de photolibération à deux photons par rapport à la cage seule. La dyade $(C_3N_3)^{NV}D_3$ est rapportée avec un δ_u de 0,25 GM pour la libération d'acide acétique dans le chloroforme.

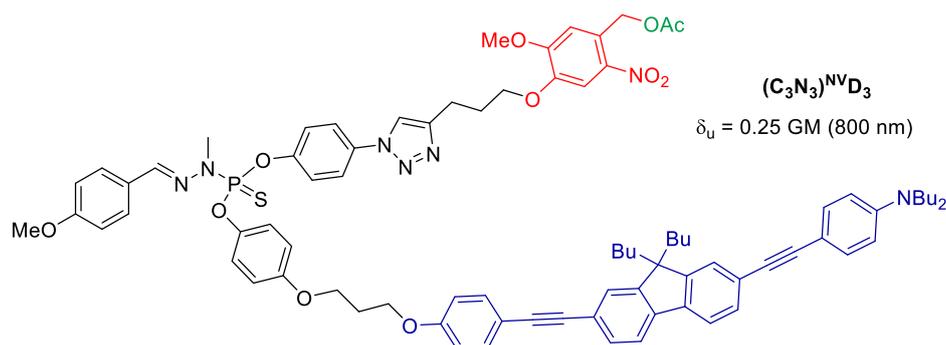


Schéma I.34 : Structure d'une dyade pour la photodéprotection induite par le FRET développée dans l'équipe.

IV. Cadre des recherches et hypothèses de travail

Les travaux présentés dans ce manuscrit furent entamés dans le contexte de la préparation de systèmes coopératifs analogues au composé $(C_3N_3)^{NV}D_3$. Les résultats prometteurs enregistrés pour les triades MNI et les dyades σNV nous ont encouragés dans un premier temps à compléter la bibliothèque de composés en incluant des quadripôles bis-donneurs plus efficaces, et à étudier leurs effets topologiques et synergiques plus en détail. Les résultats seront présentés dans le chapitre II.

La suite logique de cette étude était d'améliorer l'efficacité de transfert d'énergie qui semblait être un facteur limitant des systèmes à base d' σNV et MNI. Notre hypothèse était que le design de systèmes synergiques utilisant une cage plus efficace, combinée avec un absorbeur à deux photons ayant une réponse large et surtout un bon recouvrement entre les spectres d'absorption et d'émission des modules pourrait alors mener à de très larges sections efficaces de photolibération dans la fenêtre de transparence biologique. Dans cette optique, les cages de nouvelle génération rapportées très récemment, et possédant des propriétés d'absorption à un photon décalées vers le rouge étaient particulièrement intéressantes pour se rapprocher de la zone d'émission de nos quadripôles. Nous avons postulé que la DEAC450 d'Ellis-Davies et coll. était en cela un excellent candidat pour la synthèse de nouvelles dyades. Des systèmes

multi-coopératifs comportant plusieurs quadrupôles ont aussi été envisagés. Cette étude fera l'objet du chapitre III.

La problématique principale, et probablement une des défis les plus ardues, dans le design de cages pour les applications biologiques réside dans l'hydrosolubilité et la biocompatibilité des structures organiques synthétisées. Le remplacement de l'acétate, servant d'acide carboxylique modèle, par une molécule d'intérêt biologique était un pas supplémentaire à franchir vers des applications concrètes de nos systèmes. Les travaux menés en ce sens seront présentés dans le chapitre IV, respectivement avec deux finalités différentes : le développement d'outils moléculaires pour les neurosciences, et d'édifices amphiphiles potentiellement auto-assemblables pour la thérapie anticancéreuse.

Enfin, un dernier chapitre présentera les efforts menés dans l'ingénierie de nouvelles cages par modification directe de la structure conjuguée de PPGs connus. L'influence du transfert de charge sur le σ_2 et le Φ_u sera étudiée dans des systèmes *push-pull* de la famille des coumarines. La série de nouveaux décageurs dipolaires synthétisés sera utilisée pour la libération de neuromessagers.

Dans les prochains chapitres de ce manuscrit, les systèmes coopératifs, sous-unités quadrupolaires, et modules décageurs finaux seront dénommés selon un code permettant d'identifier leur composition, et avec un code couleur particulier :

- (i) Les monomères quadrupolaires greffables seront nommés **A_n** où n (de 1 à 4) traduit le pouvoir donneur croissant des groupements auxochromes terminaux. Le cas échéant, les espaceurs particuliers et/ou fonctions de greffage seront indiqués en préfixe entre parenthèses. Ils seront représentés en bleu (ou nuances de bleu/violet, selon la couleur de leur fluorescence).
- (ii) Les modules décageurs seront nommés selon leurs appellations couramment acceptées, rappelées dans la liste des abréviations. Leur structure sera représentée en rouge. Le cas échéant, les espaceurs particuliers et/ou fonctions de greffage seront indiqués en préfixe, et dessinées en orange. La molécule cagée sera rappelée entre crochets en suffixe de l'abréviation, et représentée en vert.
- (iii) Les systèmes coopératifs seront nommés selon une lettre ou une abréviation indiquant leur famille (dyade D, triade T, tétrade Tet...). Le préfixe en exposant

indiquera la sous-unité cage constitutive. Le suffixe en indice indiquera l'antenne quadripolaire utilisée. Dans ces conditions, la dyade présentée dans le schéma I.34 devient ${}^{\text{NV}}\mathbf{D}_3$, constituée d'une antenne \mathbf{A}_3 et d'une cage $(\text{C}_3\text{N}_3)\text{NV}-[\mathbf{Ac}]$.

Pour plus de rigueur, les études comparatives concerneront, sauf cas particulier, des séries de PPGs cageant la même molécule. Aussi par souci de clarté, et lorsque cela n'entraîne pas d'ambiguïté, le suffixe indiquant la molécule cagée pourra être ponctuellement omis pour raccourcir le nom.

Chapitre II.

Synthèse et étude de dyades coopératives

I. Design et préparation des systèmes coopératifs

Les dyades sont des systèmes synergiques dissymétriques combinant dans un assemblage covalent un absorbeur à deux photons et une seule cage. Ces systèmes ont été mis au point avec l'hypothèse sous-jacente que la présence d'une deuxième cage sur le quadrupôle, comme dans les systèmes de type triade, pouvait potentiellement affecter son efficacité de FRET si l'énergie est piégée par le sous-produit de la photolyse.

Les dyades comportant un PPG greffable dérivé du nitrovératryle, synthétisées précédemment dans le groupe, ont permis de multiplier par 6 l'efficacité de photolyse à deux photons. L'objectif des travaux présentés dans ce chapitre est d'étudier la portée ainsi que la polyvalence de la stratégie précédemment adoptée en complétant la gamme de dyades synthétisée. Pour cela, aux cages de type *o*NV seront rajoutées des cages de type MNI utilisées dans les triades. L'*o*NV présente une absorption légèrement décalée vers 350 nm, alors que le MNI absorbe dans l'UV plus lointain mais possède un Φ_u plus de dix fois supérieur, ce qui les rend de fait complémentaires pour cette étude. Ces deux PPG présentent, seuls, des valeurs de δ_u très faibles. L'acide acétique a été choisi en tant que molécule cagée modèle, afin de faciliter le suivi de la photolibération lors des études cinétiques. Les structures types des dyades de ce chapitre sont présentées sur le schéma II.1.

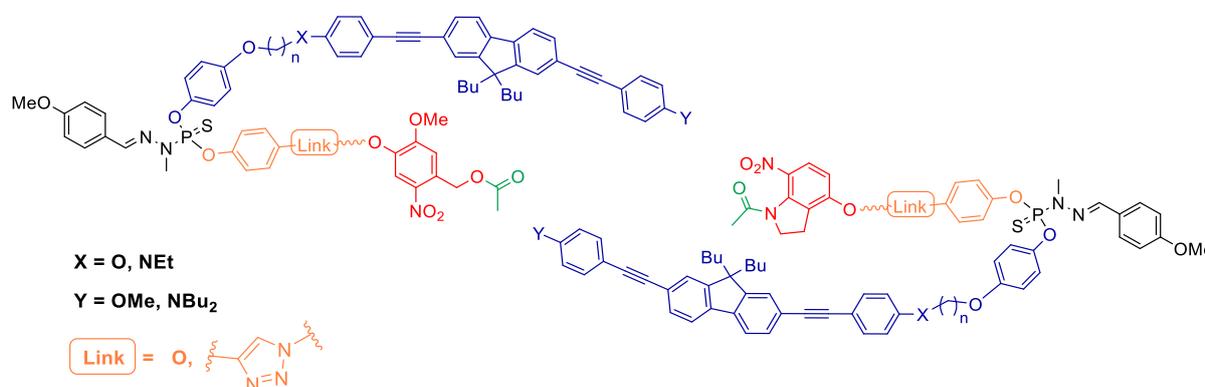


Schéma II.1 : Structures générales des dyades étudiées dans ce chapitre. Les trois composants principaux sont représentés en bleu (antenne quadrupolaire), rouge (décageur), et noir (plateforme). Différents espaceurs (orange) ont été utilisés pour le greffage. L'acide acétique (vert) a été choisi comme acide carboxylique modèle.

Dans chaque cas, différentes sous-unités quadrupolaires présentant des émissions dans le violet-bleu, compatibles avec un transfert d'énergies vers les cages, seront utilisées comme antenne. Les quadrupôles (ou « pseudo-quadrupôles ») utilisés seront de type bis-donneurs D- π -D symétriques, ou D- π -D' dissymétriques, avec des groupements électrodonneurs oxygénés ou azotés. Il faut noter que la rupture de symétrie engendrée dans les systèmes

D- π -D' rend la transition vers l'état excité de plus basse énergie, normalement interdite de symétrie dans les chromophores centrosymétriques, autorisée. Un décalage vers l'IR de la bande d'absorption à deux photons est alors observé, ce qui permet d'atteindre des longueurs d'ondes autour de 800 nm, comme pour la dyade $^{NV}D_3$. En outre, les quadrupôles bis-accepteurs ayant donné lieu à des σ_2 plus faibles que les bis-donneurs dans les travaux précédents, ces derniers seront privilégiés dans cette étude.

Enfin, l'influence de l'espaceur utilisé entre les modules sera étudiée. Les modules déchargeurs seront en effet greffés sur la plateforme thiophosphorylée par l'intermédiaire de liens de tailles, de structures, et de rigidités différentes.

I.1. Approche rétrosynthétique

Les dyades sont des structures comprenant trois modules principaux : la cage, le fluorophore absorbant à deux photons, et une plateforme sur laquelle sont combinés les deux modules précédents. Le schéma rétrosynthétique (schéma II.2) de ces composés repose donc sur l'assemblage des trois composants, et sur le choix des fonctions de greffage.

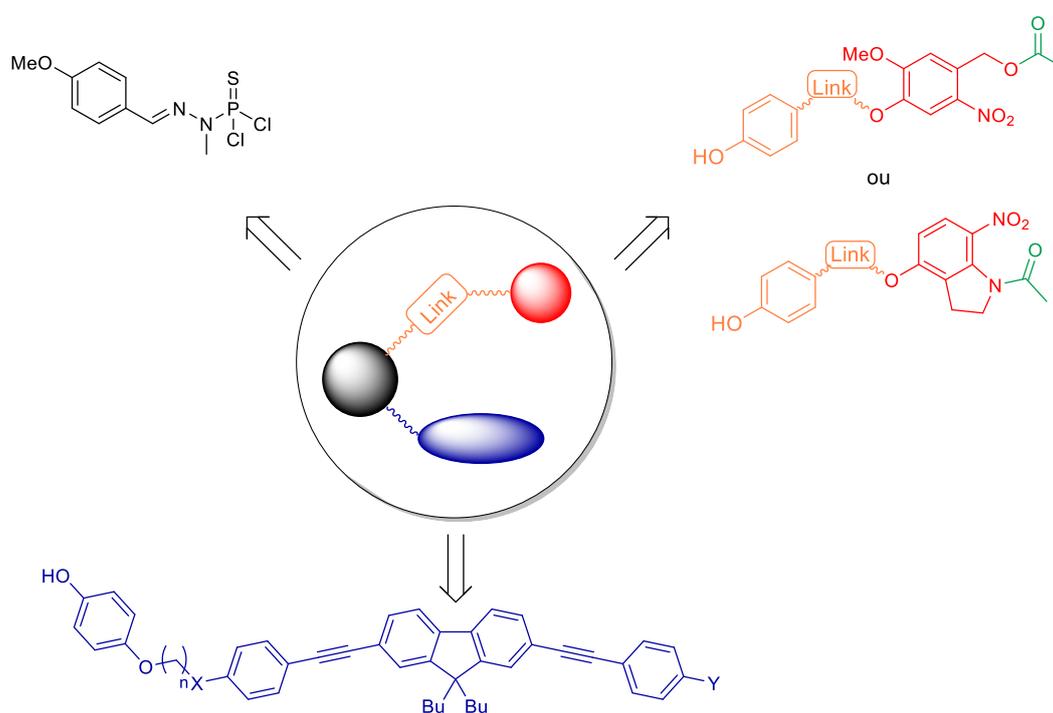


Schéma II.2 : Schéma de rétrosynthèse présentant les 3 modules constitutifs d'une dyade synergique.

La plateforme choisie (en noir) est un dérivé du type chlorure de thiophosphoryle utilisé notamment dans les macromolécules dendritiques. Le choix de ce motif repose premièrement sur la réactivité de la liaison P-Cl, permettant une fonctionnalisation par des fonctions phénol

dans des réactions de substitutions nucléophiles. Une fois disubstituée, sa forme de pince permet aussi de rapprocher les modules donneurs et accepteurs d'énergie dans l'espace.

Les deux autres modules sont par conséquent modifiés de façon à introduire un phénol terminal pour la réaction de greffage. Pour cela, les groupements donneurs de la sous-unité quadrupolaire (en bleu) sont dissymétrisés afin d'incorporer en bout de chaîne un éther d'hydroquinone. La même ingénierie est effectuée sur les modules *o*NV-[Ac] et MNI-[Ac] (en rouge) dont la synthèse a été remaniée pour incorporer différents espaceurs greffables (en orange) à la place d'un groupement méthoxy.

Les cages dérivés *o*NV et MNI greffables étant déjà disponibles au laboratoire (schéma II.3), leur synthèse ne sera pas détaillée ici. Les espaceurs choisis sont des chaînes aliphatiques de longueurs différentes (C_1 à C_6). Leur flexibilité est modulée par la présence d'une fonction éther du même type que celle introduite sur les quadrupôles, ou d'un groupement triazole plus rigide (espaceur C_1N_3).

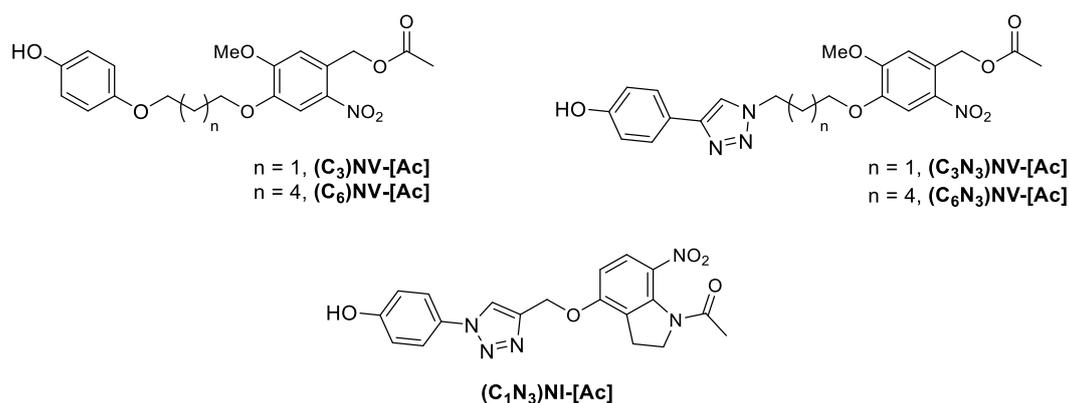


Schéma II.3 : Structures des dérivés *o*NV et MNI greffables utilisés dans la synthèse de la bibliothèque de dyades.

I.2. Synthèse de la plateforme thiophosphorylée

La plateforme thiophosphorylée **P₁** est synthétisée par réaction de condensation entre le *p*-anisaldéhyde **87** commercial et la monométhylhydrazine **MMH-PSCl₂** pour former l'hydrazone correspondante.

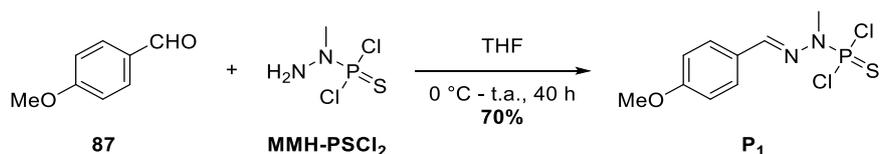


Schéma II.4 : Synthèse de la plateforme thiophosphorylée **P₁**.

Les réactions impliquant ce motif phosphorylé présentent l'avantage de pouvoir être contrôlées aisément par RMN ^{31}P . Les expériences de suivi de la réaction en RMN ^{31}P découplée montrent que le pic initial de la **MMH- PSCl_2** à 70 ppm disparaît au profit d'un singulet à 64 ppm caractéristique de l'hydrazone **P₁**. Cette technique de suivi sera plus amplement développée en partie I.4 lors de l'assemblage des modules. La plateforme **P₁** est finalement purifiée par simple lavage avec de l'éther tiède permettant d'éliminer les traces de réactif.

I.3. Synthèse des modules quadrupolaires greffables

Les fluorophores utilisés comme antenne dans ce manuscrit sont constitués d'un cœur fluorényle comportant deux branches phényléthynyles agrémentées de deux groupements électrodonneurs (schéma II.5). Le cœur du quadrupôle est substitué de deux chaînes butyle pour améliorer sa solubilité en solvant organique et faciliter l'étude, tout en prévenant le π -stacking qui quencherait l'émission. Les liens éthynyles ont été privilégiés de façon à limiter le décalage bathochrome de l'émission observé avec des ponts vinyliques, et être plus en adéquation avec la zone spectrale d'absorption des cages. Les monomères quadrupolaires greffables **A_n** ($n = 1$ à 4, de l'antenne bis-oxygénée à l'antenne bis-azotée) seront greffés par l'intermédiaire d'un motif hydroquinone (HQ).

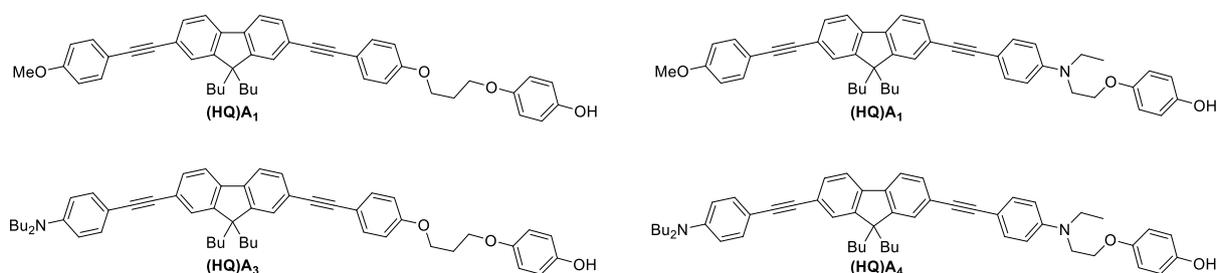


Schéma II.5 : Structures des quadrupôles greffables synthétisés au cours de cette étude.

Leur préparation est effectuée en 8 à 9 étapes, selon le synthon de départ utilisé, par une succession de réactions d'halogénations et de couplages croisés de Sonogashira. Les deux étapes critiques de la voie de synthèse résident dans la formation de l'éther d'hydroquinone et la désymétrisation du cœur fluorène.

La préparation du synthon dihalogénofluorène intermédiaire (schéma II.6) peut s'effectuer à partir du fluorène **88**, qui est iodé par une source d'iode électrophile obtenue en mélangeant du diiode dans une solution d'acide periodique. Alternativement, le 2,7-dibromofluorène **90** disponible commercialement peut aussi être utilisé pour des résultats tout

aussi satisfaisants. Le pont méthylène du fluorène est ensuite alkylé par le 1-bromobutane par catalyse par transfert de phase. Les composés **91** et **92** sont obtenus avec de très bons rendements sur des échelles allant jusqu'à la vingtaine de grammes.

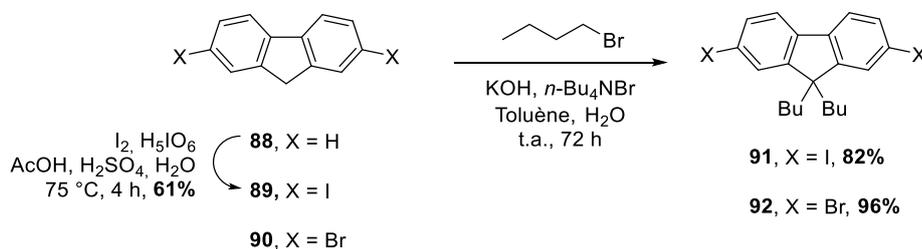


Schéma II.6 : Préparation des synthons 9,9-Dibutyl-2,7-dihalogénofluorènes intermédiaires.

Dans une approche de synthèse convergente, les branches phényléthynyles électrodonneuses sont préparées séparément de façon à être couplées sur le fluorène en dernière étape. Elles sont synthétisées par réaction de Sonogashira à partir des synthons iodés correspondants.

Les branches donneuses terminales (non greffables) oxygénées et azotées sont préparées respectivement à partir de l'iodoanisole commerciale **95**, et de la *N,N*-dibutylaniline **93** préalablement iodée en position 4- avec un rendement quantitatif (schéma II.7).

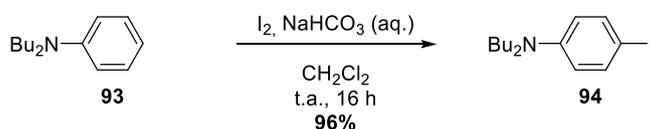


Schéma II.7 : Iodation de la *N,N*-dibutylaniline.

Les composés **94** et **95** sont ensuite engagés dans un couplage croisé avec le triméthylsilylacétylène qui permet d'introduire efficacement la triple liaison (schéma II.8). Les intermédiaires clés **96** et **97** sont isolés avec de très bons rendements après purification par chromatographie. La force du donneur a une influence non négligeable sur la réaction de par la demande électronique du couplage. Le donneur oxygéné, moins fort, rend la réaction bien plus efficace. Le rendement en produit **97** est quantitatif avec une charge catalytique deux fois moindre, et en seulement deux heures à température ambiante (cf. annexes expérimentales). Le donneur azoté défavorise sans doute l'addition oxydante et diminue l'efficacité de la réaction.

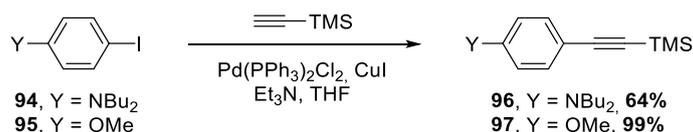
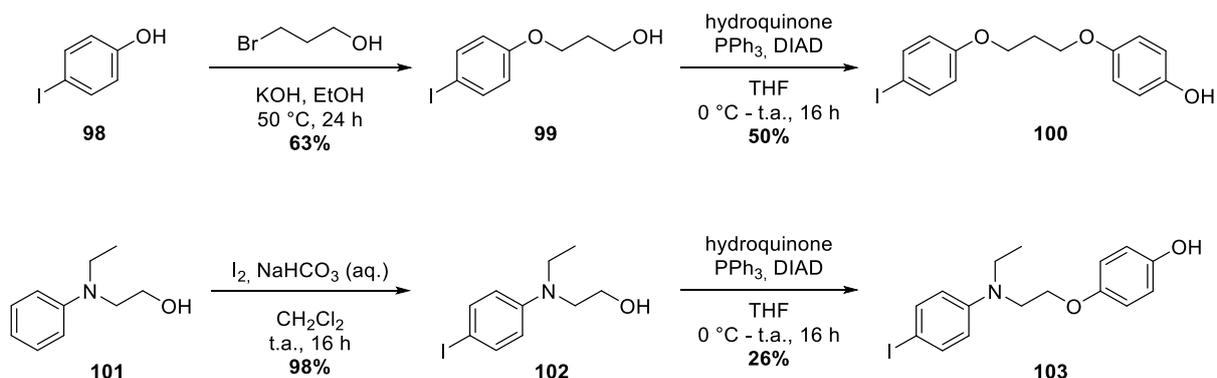


Schéma II.8 : Synthèse des branches donneuses terminales du quadrupôle par réaction de Sonogashira.

Par souci de symétrie, des synthons de force donneuse comparable doivent être utilisés pour la seconde branche greffable du quadrupôle. La synthèse de la branche oxygénée s'effectue à partir du *p*-iodophénol, qui est d'abord alkylé par le 3-bromopropan-1-ol de façon à introduire en bout de chaîne une fonction hydroxyle (schéma II.9). Le mono-éther d'hydroquinone **100** est synthétisé à partir de l'intermédiaire **99** précédent par réaction de Mitsunobu. Un large excès de réactif est utilisé de façon à privilégier la mono-fonctionnalisation de l'hydroquinone, et le produit **100** est obtenu avec un rendement de 50% après purification sur colonne de silice.

Schéma II.9 : Synthèse des intermédiaires iodés **100** et **103** contenant le motif hydroquinone greffable.

Dans le cas du donneur azoté, il a été choisi de travailler sur la *N*-Éthyl-*N*-hydroxyéthylaniline **101** disponible commercialement, qui est iodée quantitativement dans les mêmes conditions que son analogue **102**. Une réaction de Mitsunobu permet là aussi d'introduire le motif greffable, avec un rendement de 26% pour l'intermédiaire **103**. Aucune protection de l'hydroquinone n'a été effectuée dans cette voie de synthèse, ni pour l'étape de substitution par réaction de Mitsunobu, ni pour les couplages de Sonogashira consécutifs. L'introduction de la triple liaison sur ces branches est finalement effectuée avec le triméthylsilylacétylène dans les mêmes conditions que précédemment (schéma II.10), et les alcynes protégés **104** et **105** sont obtenus avec des rendements supérieurs à 70%.

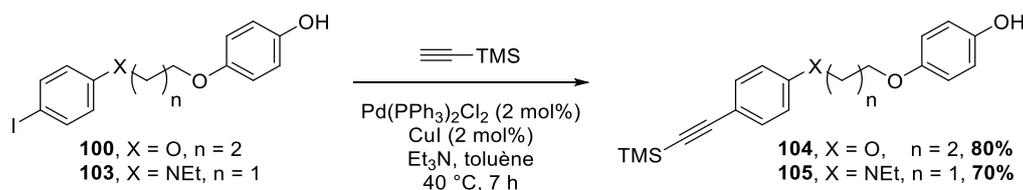


Schéma II.10 : Synthèse des branches greffables 104 et 105 par couplage de Sonogashira.

L'assemblage des branches et du cœur est effectué par deux couplages de Sonogashira avec ajout d'une source de fluorure (TBAF) pour déprotéger les alcynes *in situ*. La synthèse des monomères quadripolaires **A3** et **A4** sera présentée ici. La synthèse de **A1** et **A2** a été décrite précédemment dans le groupe.^[218]

La désymétrisation est effectuée lors du premier couplage sur les dihalogénofluorènes **91** ou **92** (schéma II.11). Pour maximiser la formation du produit de monocouplage et diminuer la probabilité de disubstitution, un large excès de fluorène (3 à 4 équivalents) est introduit dans le milieu. Pour la synthèse de **A3** et **A4**, le couplage de la partie donneuse terminale **96**, commune aux deux chromophores visés, est effectuée en premier. Les intermédiaires monobranchés iodé **106** ou bromé **107** sont obtenus avec des rendements satisfaisants après purification par chromatographie, et l'excès de réactif peut être aisément recyclé grâce à son importante différence de polarité.

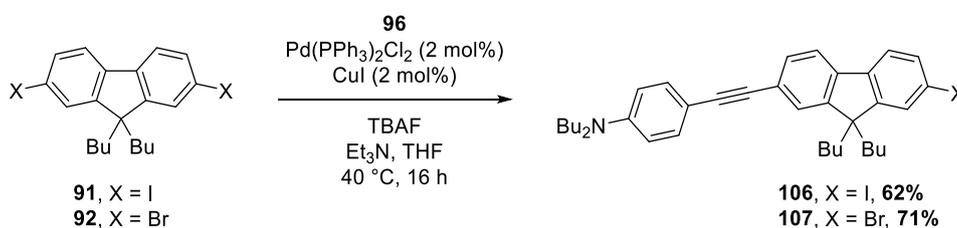


Schéma II.11 : Désymétrisation du cœur fluorène par couplage de Sonogashira, et synthèse des intermédiaires clé 106 et 107.

Les quadripôles greffables **A3** et **A4** sont finalement obtenus par couplage des secondes branches sur les intermédiaires **106** ou **107** avec déprotection des groupements TMS *in situ* (schéma II.12), avec de très bons rendements sur ces étapes (75 et 85% respectivement).

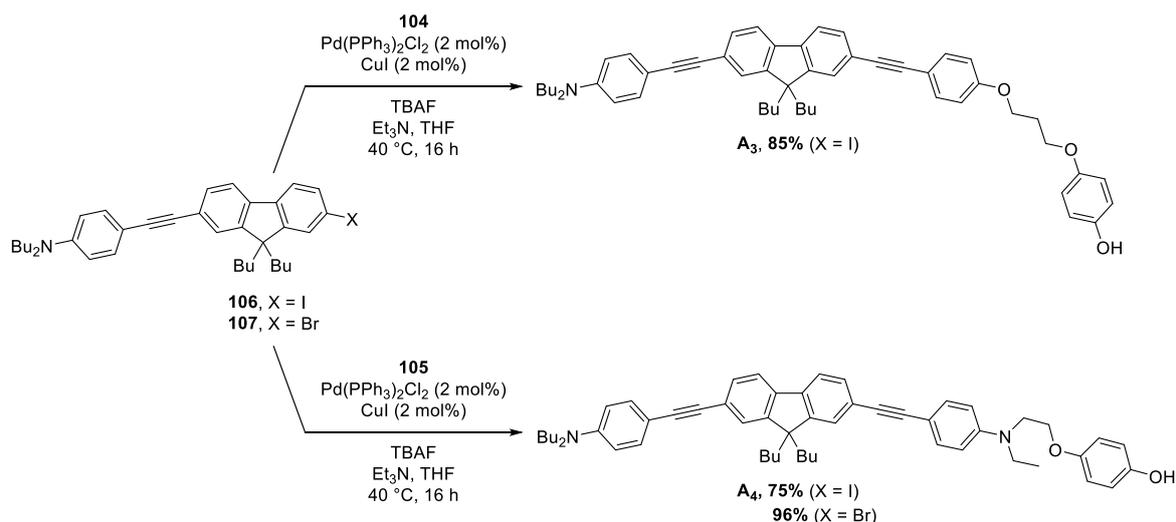


Schéma II.12 : Synthèse des quadropoles A₃ et A₄ par couplage de la branche greffable sur le cœur fluorène désymétrisé.

Il est à noter que la voie de synthèse s'est avérée plus efficace lorsque le cœur dibromofluorène **92** est utilisé ; la synthèse étant raccourcie d'une étape et les rendements étant globalement meilleurs. L'étape critique reste la réaction de Mitsunobu, peu économe en atomes et au rendement parfois décevant. La voie de synthèse est cependant maîtrisée et les quadropôles greffables ont été obtenus sans difficulté majeure.

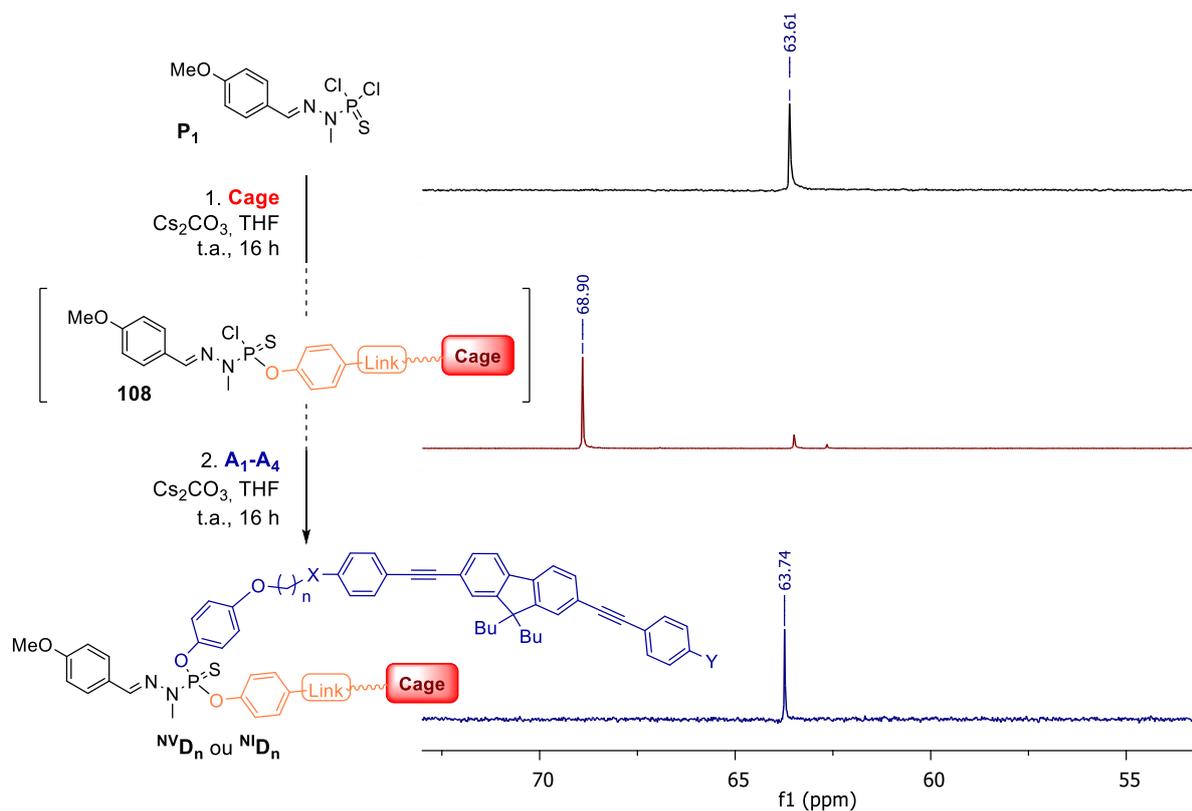
I.4. Assemblage des modules : synthèse des dyades

Une fois les différentes sous-unités en main, elles sont assemblées dans deux réactions de substitutions nucléophiles séquentielles sur la plateforme **P1**. Pour cela, un protocole de double substitution « *one-pot* », avec ajout successif des deux modules greffables, a été implémenté au laboratoire. La clé de la réussite de cette réaction réside dans la mono-fonctionnalisation de **P1**, et la formation d'un intermédiaire du type P(S)(OAr)Cl, désactivé et moins réactif, permettant la désymétrisation. Une synthèse de dyade type est illustrée sur le schéma II.13.

Dans un premier temps, le module décageur greffable souhaité est ajouté goutte à goutte sur un milieu réactionnel contenant **P1** et du carbonate de césium, une base adaptée aux réactions de substitution impliquant les phénols.^[219] La stœchiométrie étant de 1:1, un ajout lent de réactif est préférable pour éviter la disubstitution. À ce stade, après une nuit à température dans une salle noire, les sels de césium sont généralement filtrés de façon à réaliser un contrôle de l'avancement et de l'état de substitution par RMN ³¹P (schéma II.13). Comme observé sur le spectre ci-dessous, le singulet (ou quadruplet, dans le cas d'expériences non découplées) situé à 63,6 ppm caractéristique de **P1** disparaît presque totalement pour laisser la place à un singulet

plus déblindé. Ce déplacement est caractéristique de l'intermédiaire monosubstitué **108**. On notera dans le cas présent la présence d'un deuxième pic autour de 62 ppm traduisant la formation de produit disubstitué en petite quantité, ce qui laisse par conséquent des traces de produit de départ non converti dans le milieu.

Cette première réaction peut aussi être suivie par CCM, et le second module est alors ajouté « *one-pot* » au milieu réactionnel. Dans le cas où l'intermédiaire a été isolé, il est alors réengagé dans les mêmes conditions, avec cette fois la sous-unité quadrupolaire. Une fois encore, la RMN ^{31}P est un outil très utile pour visualiser l'avancement de la réaction. La disparition du pic de l'intermédiaire monosubstitué à 69 ppm et l'apparition d'un singulet dans la zone plus blindée des produits disubstitués indique la fin de la réaction. Les dyades sont alors isolées après chromatographie sur gel de silice.



analogue ${}^{\text{N}}\text{D}_2$, ${}^{\text{N}}\text{D}_3$ ou ${}^{\text{N}}\text{D}_4$ basé sur le MNI. De cette façon, l'influence de la cage, de l'antenne et du recouvrement pourra être étudiée au cas par cas pour tenter de rationaliser les tendances observées. Dans cette optique, les propriétés photophysiques à un et deux photons, ainsi que l'efficacité de photolibération des dyades ont été déterminées.

Tableau II.1. Structures des différentes dyades ${}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_1$ - ${}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_4$ et ${}^{\text{N}}\text{D}_2$ - ${}^{\text{N}}\text{D}_4$ synthétisées dans ce chapitre.

| $(\text{C}_3) {}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_1$ -[Ac] | $(\text{C}_3\text{N}_3) {}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_1$ -[Ac] |
|--|--|
| | |
| $(\text{C}_6) {}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_1$ -[Ac] | $(\text{C}_6\text{N}_3) {}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_1$ -[Ac] |
| | |
| ${}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_2$ -[Ac] | ${}^{\text{N}}\text{D}_2$ -[Ac] |
| | |
| ${}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_3$ -[Ac] | ${}^{\text{N}}\text{D}_3$ -[Ac] |
| | |
| ${}^{\text{N}}\text{V}\text{D}_4$ -[Ac] | ${}^{\text{N}}\text{D}_4$ -[Ac] |
| | |

II. Études photophysiques et photolyses

Au cours de cette étude, les propriétés photophysiques et de 2PA des dyades ont été étudiées dans le chloroforme, et les photolyses effectuées dans le chloroforme deutéré. Ces données sont résumées dans les paragraphes suivants.

II.1. Propriétés d'absorption et d'émission

Les propriétés d'absorption et d'émission de la série de composés étudiés se déclinent en deux temps. Il convient tout d'abord d'étudier les modules isolés en solution, particulièrement pour déterminer le recouvrement entre les courbes d'absorption d'**oNV-[Ac]** et de **MNI-[Ac]** et d'émission de **A1-A4**. Cette comparaison permettra d'évaluer la possibilité de FRET dans les dyades correspondantes. Dans un second temps, une étude des propriétés optiques des dyades sera effectuée dans le but de mettre en lumière les différences avec les sous-unités isolées. Les données issues des mesures à un photon sont rassemblées dans le tableau II.2.

Les quadrupôles bis-donneurs **A14** possèdent tous une bande d'absorption intense entre 358 et 385 nm dans le chloroforme. Leur maximum d'absorption $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ est de plus en plus décalé vers le rouge à mesure que la force du pouvoir donneur des groupements terminaux augmente, de **A1** à **A4**. Avec des coefficients d'extinction molaire de l'ordre de $6-8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, ils présentent tous une forte capacité d'absorption à un photon compatible avec une utilisation en tant qu'antenne d'énergie.

Les modules quadrupolaires **A1-4** présentent également de bonnes propriétés d'émission, avec des rendements quantiques de fluorescence compris entre 65 et 75% dans le chloroforme. Dans le cas des dérivés azotés, ces valeurs peuvent même être sous-estimées à cause de potentielles photo-oxydations ayant lieu dans ce solvant. La longueur d'onde maximale d'émission $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ est fortement influencée par la force des groupements électrodonneurs, mais aussi par la symétrie du système. Ainsi, le quadrupôle symétriques bis-oxygéné **A1** présente une émission à 384 nm, alors que son analogue bis-azoté **A4** est décalé de presque 50 nm. En revanche, il est intéressant de noter que le module **A3**, bien que présentant une absorption décalée vers le bleu par rapport à **A4**, montre au contraire une émission décalée vers le rouge. Cette observation pourrait être liée à la dissymétrie intrinsèque de **A3** par rapport à **A4**. La présence de groupements donneurs dissymétriques favorise la rupture de symétrie dans l'état excité, conduisant à des états excités plus polaires. Dans des environnements de polarité

moyenne à élevée tels que le chloroforme, l'état excité est alors plus stabilisé, ce qui induit à une émission décalée vers le rouge.^[220]

Tableau II.2. Propriétés optiques à un photon des dyades et de leurs sous-unités correspondantes dans CHCl₃.

| Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | ε^{max} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | $\varepsilon_{365\text{nm}}$ [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ [nm] | $\Phi_f^{\text{[a]}}$ |
|---|---|--|--|--|-----------------------|
| oNV-[Ac] | 341 | 5.9 10 ³ | 4.0 10 ³ | ..[b] | ..[b] |
| MNI-[Ac] | 302 | 4.8 10 ³ | 1.9 10 ³ | ..[b] | ..[b] |
| A₁ | 358 | 7.2 10 ⁴ | 6.6 10 ⁴ | 384 | 0.70 |
| (C₃)^{NV}D₁ | 358 | 7.5 10 ⁴ | 6.8 10 ⁴ | 383 | 0.41 |
| (C₃N₃)^{NV}D₁ | 358 | 9.0 10 ⁴ | 7.2 10 ⁴ | 383 | 0.45 |
| (C₆)^{NV}D₁ | 358 | 8.1 10 ⁴ | 7.4 10 ⁴ | 383 | 0.49 |
| (C₆N₃)^{NV}D₁ | 358 | 8.3 10 ⁴ | 7.5 10 ⁴ | 383 | 0.38 |
| A₂ | 368 | 7.8 10 ⁴ | 7.7 10 ⁴ | 435 | 0.69 |
| ^{NV}D₂ | 367 | 7.6 10 ⁴ | 7.6 10 ⁴ | 433 | 0.57 |
| ^{NI}D₂ | 367 | 6.9 10 ⁴ | 6.9 10 ⁴ | 434 | 0.58 |
| A₃ | 375 | 6.5 10 ⁴ | 6.1 10 ⁴ | 446 | 0.65 |
| ^{NV}D₃ | 373 | 6.8 10 ⁴ | 6.5 10 ⁴ | 446 | 0.57 |
| ^{NI}D₃ | 375 | 6.5 10 ⁴ | 6.2 10 ⁴ | 446 | 0.57 |
| A₄ | 385 | 7.9 10 ⁴ | 5.6 10 ⁴ | 431 | 0.75 |
| ^{NV}D₄ | 386 | 7.0 10 ⁴ | 5.4 10 ⁴ | 431 | 0.65 |
| ^{NI}D₄ | 386 | 7.1 10 ⁴ | 5.4 10 ⁴ | 431 | 0.67 |

^[a] Rendement quantique de fluorescence, standard : QBS dans H₂SO₄ 0.5 M ($\Phi_f = 0.546$). ^[b] Pas d'émission observée.

Ces observations ont une conséquence directe sur le recouvrement des courbes d'absorption des cages et d'émission des quadrupôles, directement responsable de l'efficacité de FRET. La superposition des spectres normalisés (figure II.1) confirme que **A₁** possède le meilleur recouvrement spectral tant avec l'oNV que le MNI, et est *a priori* le meilleur candidat si l'on se base uniquement sur ce paramètre. Au contraire, le quadrupôle dissymétrique **A₃** possède l'émission la plus décalée et la moins adéquate.

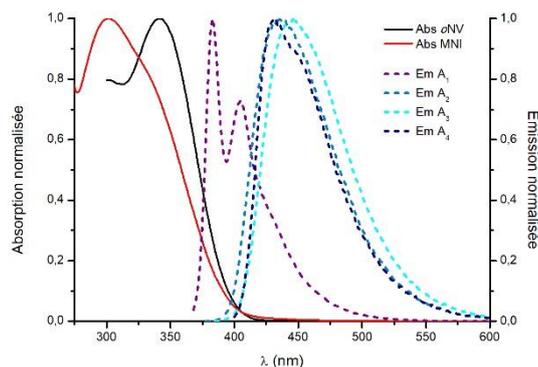


Figure II.1 : Spectres d'absorption normalisée des cages oNV et MNI, et d'émission normalisée des modules quadripolaires greffables dans le CHCl_3 .

Cette tendance se confirme en observant le quenching de fluorescence relatif à la mise en présence des deux sous-unités sur les dyades coopératives. En comparant le rendement quantique de fluorescence des dyades avec celui du fluorophore isolé, une diminution est observée dans chaque cas, ce qui indique bien la présence d'un phénomène compétitif, et potentiellement de FRET. De plus, la diminution la plus prononcée est effectivement observée dans le cas de la série de dyades $^{\text{NV}}\text{D}_1$, dans laquelle le Φ_f tombe jusqu'à 38%, contre 70% pour A_1 en solution dans le chloroforme. En accord avec une émission plus éloignée, une diminution de 8 à 12% est constatée dans le cas des autres dyades, avec une tendance légèrement plus prononcée sur les dyades $^{\text{NV}}\text{D}_{2-4}$ que sur $^{\text{NI}}\text{D}_{2-4}$. En effet, l'absorption du module oNV est aussi légèrement plus décalée vers le rouge que celle du MNI, et le recouvrement légèrement meilleur dans les dyades correspondantes. Toutes les mesures vont cependant dans le sens d'un système basé sur le transfert d'énergie.

À ce titre, la topologie de la dyade semble avoir une influence sur l'ampleur du quenching de fluorescence. Assez logiquement, un espaceur plus court tel que C_3 semble conduire à une diminution de Φ_f plus prononcée que C_6 . À longueurs similaires toutefois, la présence d'un triazole dans l'espaceur C_3N_3 semble avoir un effet bénéfique sur le transfert d'énergie supposé par rapport à C_6 . Cet effet est encore plus significatif dans le cas de C_6N_3 , possédant pourtant le lien le plus long, qui montre la plus forte extinction de fluorescence. Cette observation inhabituelle met en évidence une possible implication du motif triazole en tant que chromophore « passif » dans le transfert d'énergie entre le module 2PA et la cage.^[221]

Les capacités d'absorption à un photon des dyades ont aussi été mesurées, et présentent des allures dictées par l'antenne qui la compose. De façon intéressante, des valeurs de ϵ_{max}

jusqu'à 25% plus importantes ou plus faibles que celles du fluorophore seul sont mesurées, traduisant ainsi des effets coopératifs ou anti-coopératifs lorsque l'environnement moléculaire de l'antenne est modifié.

II.2. Absorption à deux photons

Les spectres de 2PA des fluorophores et des dyades ont été mesurés dans le chloroforme dans la gamme du PIR entre 700 et 900 nm en étudiant la technique de fluorescence par excitation à deux photons (TPEF, cf. annexes). Les modules quadrupolaires et les dyades correspondantes montrent tous une large bande de 2PA dans cette région. Toutefois, l'intensité de la réponse dépend fortement de la nature du quadrupôle et du transfert de charge. Les résultats sont rassemblés dans le tableau II.3.

Tableau II.3. Propriétés d'absorption à deux photons des dyades et de leurs sous-unités correspondantes dans CHCl₃.

| Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | $2\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | $\lambda_{2\text{PA}}^{\text{max}}$ [nm] | σ_2^{max} [GM] ^[a] |
|---|---|--|---|--|
| oNV-[Ac] | 341 | - | - | - |
| MNI-[Ac] | 302 | - | - | - |
| A₁ | 358 | 716 | 720 | 30 |
| (C₃)^{NVD}₁ | 358 | 716 | 730 | 55 |
| (C₃N₃)^{NVD}₁ | 358 | 716 | 730 | 50 |
| (C₆)^{NVD}₁ | 358 | 716 | 730 | 45 |
| (C₆N₃)^{NVD}₁ | 358 | 716 | 730 | 30 |
| A₂ | 368 | 736 | 750 | 195 |
| ^{NVD}₂ | 367 | 734 | 750 | 160 |
| ND₂ | 367 | 734 | 770 | 170 |
| A₃ | 375 | 750 | 800 | 240 |
| ^{NVD}₃ | 373 | 746 | 800 | 310 |
| ND₃ | 375 | 750 | 800 | 300 |
| A₄ | 385 | 770 | 710 | 1370 |
| ^{NVD}₄ | 386 | 772 | 710 | 1300 |
| ND₄ | 386 | 772 | 710 | 1270 |

^[a] Section efficace d'absorption à deux photons à la longueur d'onde $\lambda_{2\text{PA}}^{\text{max}}$, dérivée d'expériences de TPEF

(1 GM = 10⁻⁵⁰ cm⁴ s⁻¹)

De par la symétrie de leurs groupements électrodonneurs, seuls **A₁** et **A₄** sont essentiellement de nature quadrupolaire. Ainsi, la transition située à $2\lambda_{1\text{PA}}^{\text{max}}$ est d'intensité modeste car l'état excité de plus basse énergie est ici interdit par symétrie en absorption biphotonique. La transition vers l'état d'énergie supérieure au contraire, fortement autorisé à deux photons, est clairement observée pour **A₄** à 710 nm, avec une intensité de 1370 GM, de

très loin la plus forte valeur des quatre quadrupôles. Dans le cas de **A₁**, possédant des donneurs de force bien moindre, cette même transition est décalée en dessous de 700 nm et donc en dehors de la plage de mesure. Le σ_2^{\max} n'est que de 30 GM pour ce quadrupôle bis-oxygéné.

À l'inverse, **A₂** et **A₃** ont un caractère quadrupolaire atténué car ils portent deux groupements électrodonneurs terminaux différents, ce qui lève l'interdiction de symétrie pour l'état excité de plus basse énergie en 2PA. En conséquence, les deux fluorophores affichent des réponses importantes dans la gamme spectrale de 750 à 800 nm, et des valeurs de σ_2^{\max} correspondantes de 160 GM et 300 GM respectivement.

Comme dans le cas des propriétés d'absorption à un photon, il est intéressant d'observer que la présence du fragment décageur *o*NV ou MNI à proximité du module 2PA influence la capacité d'absorption à deux photons de la dyade, positivement ou négativement (figure II.2). La comparaison des spectres 2PA de la série de dyades ^{NV}**D₁** avec celle de leur module 2PA **A₁** est l'exemple le plus flagrant. La présence de la sous-unité cage augmente en effet la réponse maximale de 2PA de l'édifice jusqu'à 85% (cf. tableau II.2). Un effet semblable est constaté dans le cas de **A₃** et ^{NV}**D₃**/^{NI}**D₃** avec une augmentation de 25% du σ_2^{\max} . Au contraire la réponse en 2PA est légèrement atténuée dans le cas des dyades ^{NV}**D₂**/^{NI}**D₂** et ^{NV}**D₄**/^{NI}**D₄**. Cette tendance inverse peut être liée à une orientation défavorable des moments dipolaires du module 2PA et de la cage.

Il est particulièrement intéressant de noter que l'effet coopératif positif observé dans les dyades de la série ^{NV}**D₁** diminue avec la distance entre les modules. L'effet est à son maximum pour la dyade (**C₃**)^{NV}**D₁**, dans laquelle les deux modules sont les plus proches, et finit par disparaître pour le (**C₆N₃**)^{NV}**D₁** possédant le plus long espaceur de la série. Là encore, cette observation irait dans le sens d'un important effet du champ électrique généré par le fragment décageur dipolaire sur le module **A₁** ; effet qui dépend donc nettement de la proximité. Des rapports antérieurs ont effectivement montré que la réponse en absorption biphotonique de chromophores dipolaires et quadrupolaires peut être influencée par des interactions électrostatiques.^[222,223]

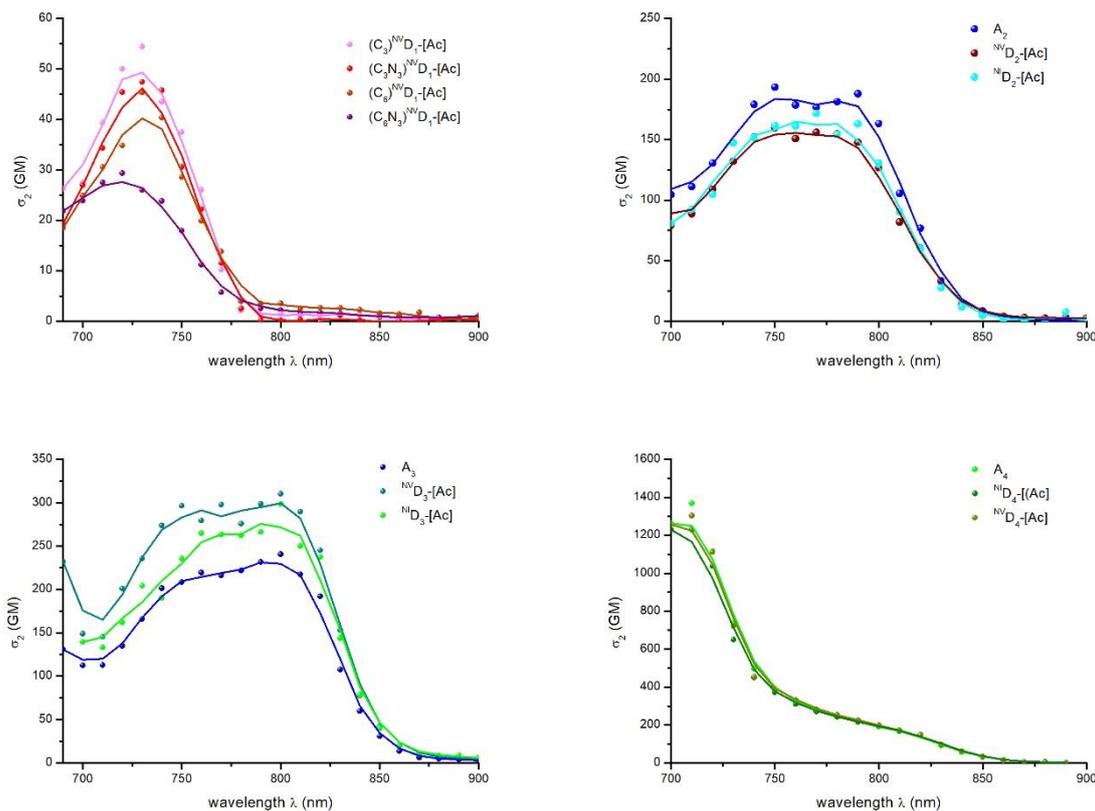


Figure II.2 : Spectres d'absorption à deux photons des dyades ${}^{\text{NVD}}\text{D}_1\text{-}{}^{\text{NVD}}\text{D}_4$, ${}^{\text{NVD}}\text{D}_2\text{-}{}^{\text{NVD}}\text{D}_4$ et monomères $\text{A}_2\text{-A}_4$ dans CHCl_3 .

Par conséquent, la nature dipolaire des sous-unités cages peut être exploitée indirectement pour influencer sur la capacité d'absorption à un et deux photons, bien que ces effets, tantôt positifs, tantôt négatifs soient difficiles à anticiper. Les propriétés optiques des composés synthétisés montrent bien dans tous les cas une capacité à absorber la lumière accrue de plusieurs ordres de grandeurs par rapport aux cages isolées. Les propriétés de photolibération des composés à un et deux photons ont donc été évaluées.

II.3. Expériences de photolyse

Le rendement quantique de photolibération d'un composé par excitation monophotonique peut être exprimé en fonction de sa cinétique, et de sa capacité à absorber la lumière d'une source d'intensité donnée. L'équation II.1 est souvent utilisée pour définir la valeur de Φ_u dans des conditions et un milieu donné^[224] :

$$\Phi_u = \frac{1}{I \cdot \sigma \cdot t_{90}} = \frac{1}{I \cdot 1000 \cdot \varepsilon \cdot t_{90}} \quad (\text{Eq. II.1})$$

Où ε est le coefficient d'extinction molaire du composé à la longueur d'onde d'excitation, I l'intensité de la source lumineuse en $\text{einstein}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et t_{90} le temps correspondant à un avancement de 90% de la réaction de photolyse (en s).

Afin d'évaluer l'efficacité de photolibération des nouveaux composés synthétisés, il est donc nécessaire de déterminer l'intensité de la source lumineuse utilisée. Pour cela, on effectue une actinométrie relative à une référence connue, qui peut être un composé dont la réaction photochimique a été étudiée dans la littérature (par exemple la photo-oxydation du ferrioxalate de potassium^[225]), ou bien un décaiseur de structure voisine des nouveaux composés étudiés.

Dans ces travaux, nous avons considéré qu'il était judicieux de comparer directement des composés ayant des structures et des réactions photochimiques le plus semblable possible. Ainsi, nous avons opté pour la méthode consistant en une série de photolyses comparatives avec **oNV-[Ac]** et **MNI-[Ac]** en tant que références, effectuées dans des conditions rigoureusement identiques. Dans ce cas, en effectuant le rapport de l'équation II.1 appliquée à la référence et à la cage, on obtient :

$$\frac{\varepsilon^{ech} Q_u^{ech}}{\varepsilon^{ref} \Phi_u^{ref}} = \frac{\left(\frac{1}{1000 \cdot I \cdot t_{90}^{ech}} \right)}{\left(\frac{1}{1000 \cdot I \cdot t_{90}^{ref}} \right)} = \frac{t_{90}^{ref}}{t_{90}^{ech}} \quad (\text{Eq. II.2})$$

Où Q_u^{ech} est le rendement quantique déterminé de façon relative de l'échantillon inconnu. En d'autres termes, le rapport des photosensibilités en excitation monophotonique, pour une source lumineuse, dans un milieu et à une longueur d'onde donnés, est égal au rapport des t_{90} de la nouvelle cage et de sa référence. Cette expression permet ainsi de s'affranchir de la détermination de l'intensité lumineuse. En outre, en considérant que, pour une cinétique d'ordre 1, $t_{90} = \ln(0,1)/k$, où k est la constante de vitesse de la réaction de photolyse, l'expression II.2 devient :

$$Q_u^{ech} = \frac{k^{ech} \varepsilon^{ref}}{k^{ref} \varepsilon^{ech}} \Phi_u^{ref} \quad (\text{Eq. II.3})$$

Les propriétés de photolibération des nouvelles dyades ont donc été étudiées dans un premier temps selon cette démarche, en effectuant une photolyse comparative par excitation à

un photon. L'avancement de la réaction est contrôlé à intervalle de temps réguliers par analyse RMN ^1H , l'irradiation de la solution d'échantillon dans le CDCl_3 est donc effectuée directement dans un tube RMN en quartz (cf. annexe expérimentale). La production de l'acide acétique photo-libéré est alors mise en évidence par l'apparition d'un singulet tabulé à 2,10 ppm (δ_{CH_3}) ; le signal du groupement acétyle cagé, enregistré autour de 2,20 ppm selon les dyades, disparaissant de manière concomitante (figure II.3-a). L'analyse quantitative de ces signaux permet de déterminer le taux de conversion ξ au fil du temps, et de tracer le profil cinétique de la réaction.

Le tracé de la droite $\log(1/1-\xi) = f(t)$ a permis de vérifier l'obtention d'une cinétique de premier ordre pour tous les composés, et de déterminer les constantes de vitesses apparentes correspondantes. À partir des valeurs de Φ_u rapportées dans la littérature pour les cages de référence oNV et MNI de référence et de l'équation II.3, des valeurs de Q_u relatives sont alors déterminées pour chaque dyade (tableau II.4). Les valeurs de photosensibilités à un et deux photons sont ensuite déduites grâce aux valeurs de ε^{max} et σ_2^{max} mesurées précédemment.

Tableau II.4. Propriétés de 1PU et 2PU des dyades et de leurs sous-unités oNV et MNI correspondantes dans CHCl_3 .

| Composé | Q_u/Φ_u^{ref} | $\varepsilon^{\text{max}}Q_u$ [$\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$] ^[a] | δ_u [GM] ^[b] |
|--|---------------------------|--|-----------------------------------|
| oNV-[Ac] | 1 | 35 | 0.03 ^[c] |
| MNI-[Ac] | 1 | 384 | 0.06 ^[d] |
| A_1 | - | - | - |
| $(\text{C}_3)^{\text{NV}}\text{D}_1$ | 0.32 | 146 | 0.11 |
| $(\text{C}_3\text{N}_3)^{\text{NV}}\text{D}_1$ | 0.36 | 197 | 0.11 |
| $(\text{C}_6)^{\text{NV}}\text{D}_1$ | 0.36 | 174 | 0.10 |
| $(\text{C}_6\text{N}_3)^{\text{NV}}\text{D}_1$ | 0.26 | 128 | 0.05 |
| A_2 | - | - | - |
| $^{\text{NV}}\text{D}_2$ | 0.11 | 48 | 0.10 |
| $^{\text{NI}}\text{D}_2$ | 0.26 | 1510 | 3.7 |
| A_3 | - | - | - |
| $^{\text{NV}}\text{D}_3$ | 0.13 | 55 | 0.25 |
| $^{\text{NI}}\text{D}_3$ | 0.09 | 490 | 2.3 |
| A_4 | - | - | - |
| $^{\text{NV}}\text{D}_4$ | 0.13 | 53 | 0.98 |
| $^{\text{NI}}\text{D}_4$ | 0.19 | 1130 | 20 |

^[a] Photosensibilité sous excitation à un photon, déduite d'expériences de photolyses comparatives à 365 nm en utilisant des valeurs de $\Phi_u^{\text{ref}} = 0,006$ pour **oNV -[Ac]** et $\Phi_u^{\text{ref}} = 0,08$ pour **MNI -[Ac]**. ^[b] Photosensibilité sous excitation à deux photons ($\delta_u = \sigma_2^{\text{max}}Q_u$) ^[c] Cf. réf. ^[109] à 740 nm, ^[d] Cf. réf. ^[87] à 730 nm.

II.3.1. Photosensibilité à un photon

Toutes les dyades synthétisées présentent une cinétique de libération supérieure au module décapeur isolé (figure II.3-b), ce qui confirme l'effet positif de l'antenne sur l'efficacité de la photolyse. Les rapports Q_u/Φ_u^{ref} , pondérés par le ϵ des dyades, sont toutefois logiquement inférieurs à 1. De façon générale, les dyades de la série $^{\text{NV}}\text{D}_1$ présentent les Q_u les plus importants, ce qui est en accord avec un meilleur recouvrement spectral. En conséquence, les photosensibilités en excitation à un photon des dyades $^{\text{NV}}\text{D}_1$ sont augmentées d'un facteur 4 à 6 en comparaison avec $^{\text{oNV}}\text{-[Ac]}$. Au contraire, les dyades $^{\text{NV}}\text{D}_2\text{-}^{\text{NV}}\text{D}_4$ présentent des ϵ_u à peine plus importants que celui d' $^{\text{oNV}}\text{-[Ac]}$.

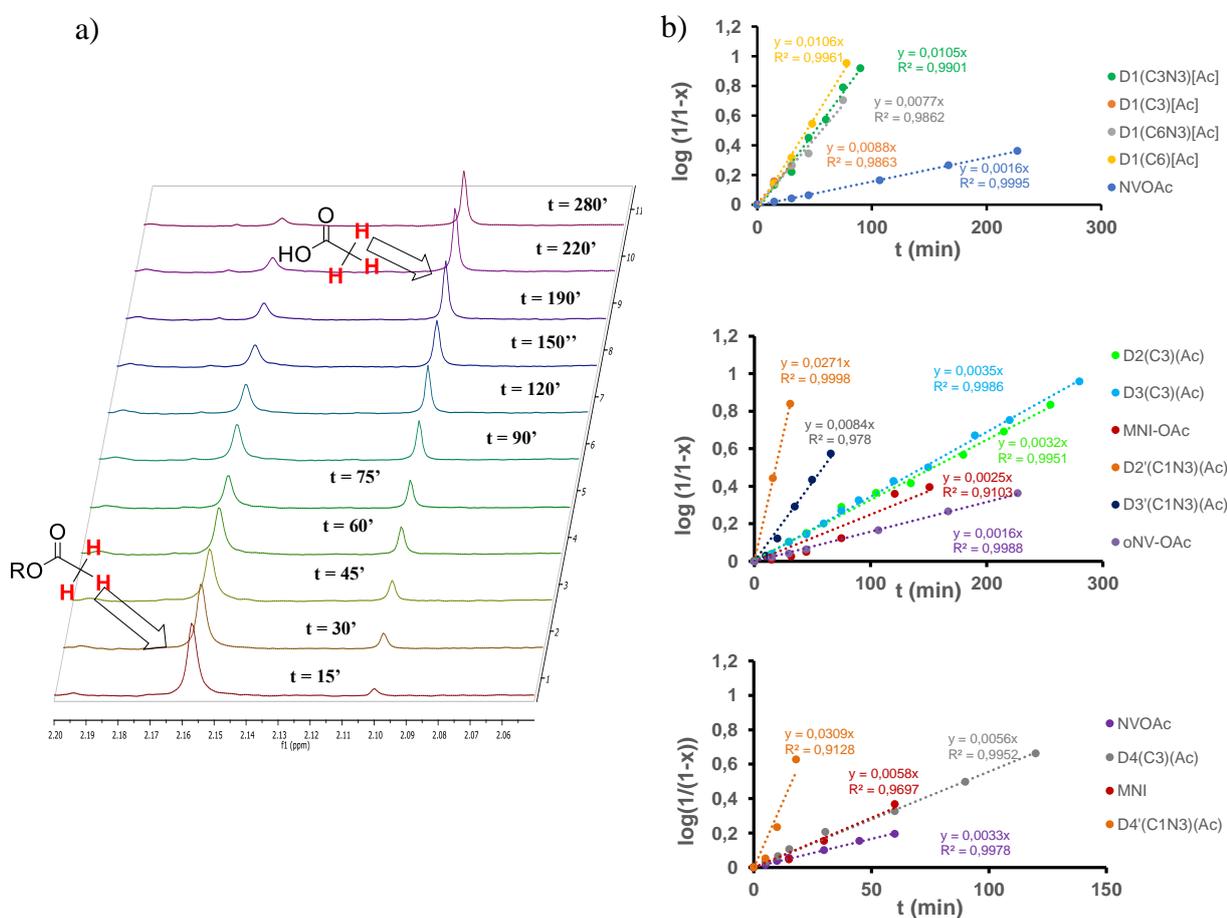


Figure II.3 : a) Suivi cinétique de la photolibération d'acide acétique sous excitation à 365 nm par RMN ^1H (300 MHz) dans CDCl_3 . b) Tracé des lois de vitesse d'ordre 1 issues des expériences de photolyse.

Les résultats des photolyses comparatives des dyades $^{\text{NV}}\text{D}_1$ mettent aussi en évidence un léger effet de la longueur et la nature de l'espaceur sur l'efficacité de la photolibération dans la série de dyades $^{\text{NV}}\text{D}_1$. En effet, la comparaison des valeurs de Q_u montre que le rapport le plus faible (0,26) est obtenu pour l'espaceur le plus long (C_6N_3). L'espaceur le plus court (C_3)

présente une valeur intermédiaire, alors que les espaceurs à 6 chaînons (C_6 et C_3N_3) semblent posséder une longueur d'espaceur « optimale » avec un rapport Q_u/Φ_u^{ref} plus élevé (0,36).

D'autre part, les cinétiques de photolibération à 365 nm des dyades ${}^NI\mathbf{D}_2$ - ${}^NI\mathbf{D}_4$ s'avèrent beaucoup plus rapides que leurs homologues ${}^NV\mathbf{D}_2$ - ${}^NV\mathbf{D}_4$ basées sur l'*o*NV. En cela, la stratégie mise en œuvre, basée sur la sensibilisation de modules décageurs possédant un rendement quantique de photolibération plus important tels que le MNI, est validée, et l'on obtient des dyades avec des sensibilités plus élevées (typiquement de 500 à 1500 $M^{-1}cm^{-1}$).

Cependant, l'ampleur de cet écart d'efficacité entre dyades ${}^NI\mathbf{D}$ et ${}^NV\mathbf{D}$ est très variable et dénote d'effets intéressants. En effet, la dyade ${}^NI\mathbf{D}_3$ montre une faible valeur de rapport Q_u/Φ_u^{ref} (0,09), légèrement plus petite que celle de ${}^NV\mathbf{D}_3$. Cette observation est cohérente avec un recouvrement spectral inférieur dans ${}^NI\mathbf{D}_3$, et donc d'un système coopératif moins efficace. Pourtant, les dyades ${}^NI\mathbf{D}_2$ et ${}^NI\mathbf{D}_4$ présentent des valeurs de rapport Q_u (0,26 et 0,19) significativement plus grandes que celles des dyades ${}^NV\mathbf{D}_2$ et ${}^NV\mathbf{D}_4$ (0,11 et 0,13) correspondantes. Ce comportement singulier suggère que, outre le transfert d'énergie dicté par le recouvrement spectral, des processus additionnels pourraient aussi être impliqués dans le mécanisme de sensibilisation des dyades ${}^NI\mathbf{D}_2$ et ${}^NI\mathbf{D}_4$. Des phénomènes de sensibilisation triplet-triplet,^[144] ou de déprotection par transfert d'électrons photo-induit,^[214,215,226] déjà rapportés dans le cas de systèmes photosensibilisés dérivés du MNI, pourraient contribuer à améliorer l'efficacité du système. La contribution du transfert d'électrons du module quadrupolaire vers le fragment MNI pourrait être significative dans le cas de ${}^NI\mathbf{D}_4$, dans laquelle les groupements électrodonneurs sont les plus forts. Dans le cas de la dyade ${}^NI\mathbf{D}_2$, le transfert d'électrons pourrait être favorisé d'un point de vue topologique, en raison de la plus grande proximité du groupement électrodonneur azoté (situé du côté greffable) avec le module décageur.

En conséquence, la sensibilité d'*uncaging* par excitation à un photon de ${}^NI\mathbf{D}_2$ et ${}^NI\mathbf{D}_4$ est améliorée respectivement d'un facteur 30 et 20 par rapport à celle de ${}^NV\mathbf{D}_2$ et ${}^NV\mathbf{D}_4$. En revanche, ${}^NI\mathbf{D}_3$ n'est que 9 fois plus photosensible que ${}^NV\mathbf{D}_3$ dans les mêmes conditions. Ces facteurs d'amélioration nettement différents soulignent clairement le rôle de la topologie des dyades dans l'ampleur des effets coopératifs mis en jeu dans le processus de photolibération.

II.3.2. Photosensibilité à deux photons

À partir des valeurs de σ_2^{\max} et de Q_u déterminées expérimentalement, et en effectuant l'approximation que les rendements quantiques de photolibération à un et à deux photons sont les mêmes – c'est-à-dire que la réaction photochimique est indépendante du mode d'excitation –, des valeurs de sections efficaces de photolibération à deux photons $\delta_u = \sigma_2^{\max} Q_u$ ont pu être calculées pour tous les systèmes coopératifs synthétisés.

À l'exception du dérivé $(C_6N_3)^{NV}D_1$, le moins efficace de la série, les dyades $^{NV}D_1$ présentent des photosensibilités à deux photons environ 3 fois supérieures au composé oNV parent, quel que soit l'espaceur ; les variations de σ_2 détaillées dans le paragraphe II.2 étant finalement compensées par les variations opposées enregistrées sur les rendements quantiques d'*uncaging*. Entre les dyades $^{NV}D_1$ et $^{NV}D_4$, les variations de σ_2 étant largement plus importantes que celles du Φ_u , les valeurs de δ_u sont suivent l'ordre imposé par la force du transfert de charge. Ainsi, la dyade $^{NV}D_4$ affiche la plus grande photosensibilité à deux photons parmi les dyades dérivées du vératryle, avec un δ_u proche de 1 GM plus de 30 fois supérieur à celui de l' oNV seul.

De façon encore plus marquante, le remplacement de la sous-unité greffable oNV par une cage de type MNI possédant un rendement quantique 10 fois supérieur a conduit à une augmentation significative des sections efficaces d'*uncaging*. Les dyades $^{NI}D_2$, $^{NI}D_3$ et $^{NI}D_4$ se sont avérées plus sensibles en excitation biphotonique de plus de deux ordres de grandeur par rapport au MNI de référence, avec des valeurs de δ_u de respectivement 3,7 GM (à 770 nm), 2,3 GM (à 800 nm) et 20 GM (à 710 nm). En particulier, la dyade $^{NI}D_4$, qui bénéficie à la fois d'une transition fortement autorisée à deux photons à 710 nm de par le caractère quadrupolaire de son antenne, d'un rendement quantique d'*uncaging* significatif, et de potentiels effets coopératifs additionnels au FRET, affichait au moment de ces travaux un δ_u record pour la libération d'acides carboxyliques.

Sur la base de ces résultats, des expériences de photolyse à deux photons ont été menées avec les dyades dérivées du MNI pour confirmer leur activité en 2PU. Les dyades ont alors été dissoutes dans du $CDCl_3$ et irradiées, sous agitation, à des longueurs d'onde correspondant aux maximum de leur bande d'absorption en utilisant un laser TiS délivrant des impulsions de 140 fs, à un taux de répétition de 80 MHz. L'irradiation est maintenue pendant plusieurs heures compte tenu du très faible volume d'excitation dans la cuvette. Après une durée suffisante, la

conversion a pu être évaluée par RMN ^1H (cf. figure II.4), confirmant la production d'acide acétique et l'activité en tant que décageur à deux photons.

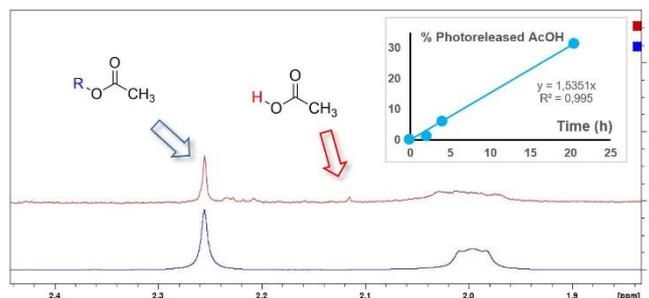


Figure II.4 : Spectres RMN ^1H (300 MHz) de la dyade $^{\text{NV}}\text{D}_4$ dans CDCl_3 à $t = 0$ (en bleu) et après 4 h d'irradiation biphotonique à 720 nm (en rouge).

Compte tenu de la forte influence de la topologie de la dyade sur ses propriétés photophysiques et photochimiques, et compte tenu des observations précédentes, nous avons envisagé d'utiliser une plateforme différente afin d'étudier l'influence du rapprochement des modules.

III. Systèmes coopératifs assistés par interactions supramoléculaires

Dans l'optique d'étudier l'influence de la plateforme sur la coopérativité de nos systèmes, nous avons tenté de synthétiser des dyades dans lesquelles les modules seraient maintenus dans une topologie favorable au transfert d'énergie (ou d'électrons) en réduisant l'espace qui les sépare et en apportant de la rigidité. Pour cela, nous avons repensé la synthèse des dyades de façon à inclure un motif différent du clip thiophosphorylé **P1**. Les plateformes du type pyrido-2,6-dicarboxamide (PDC) ont attiré notre attention pour les interactions supramoléculaires intramoléculaires qu'elles engendrent. Ces motifs, très utilisés dans des études sur les édifices supramoléculaires en hélices,^[227] sur les quadruplexes d'ADN^[228-230] ou encore les rotaxanes,^[231] sont capable de former des liaisons hydrogène intramoléculaires entre l'azote de la pyridine et les N-H des amides avec une constante d'association de l'ordre de 10^{10} M^{-1} . Ainsi, contrairement par exemple à leurs analogues isophthaloyles, les « branches » des PDC adoptent naturellement une conformation *cisoid*e susceptible de rapprocher les deux modules de nos dyades.

Nous avons ainsi imaginé des édifices analogues à la dyade $^{\text{NI}}\text{D}_4$ dans lesquels les deux modules sont assemblés sur une plateforme PDC par l'intermédiaire de motifs triazoles (schéma II.14). Pour l'ingénierie de ces nouvelles dyades, nous nous sommes concentrés sur les modules ayant donné les meilleurs résultats jusqu'alors, à savoir le quadrupôle donneur bis-azoté, et une

cage du type de **MNI-[Ac]**. Un analogue basé sur le MDNI, possédant un Φ_u plus de 5 fois supérieur, a également été visé pour améliorer encore l'efficacité du système coopératif. Enfin, les triazoles intermédiaires ont été incorporés dans l'édifice pour trois raisons : la facilité d'assemblage des modules par chimie « click », la possible contribution du π -stacking à la stabilité de l'édifice contribuant à maintenir les modules dans une conformation favorable, et la potentielle médiation du transfert d'énergie mentionnée précédemment.

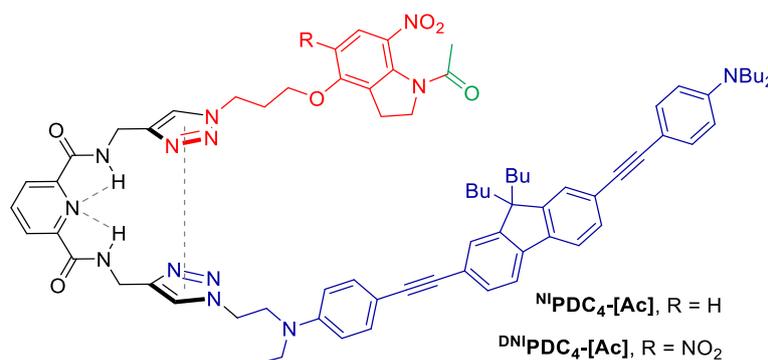


Schéma II.14 : Schéma des dyades « supramoléculaires » visées dans ce paragraphe, et des interactions mises en jeu.

III.1. Synthèse de la plateforme PDC

La plateforme pyridine dicarboxamide est élaborée de façon à pouvoir réagir avec les modules dans une réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée au cuivre (CuAAC), en formant les liens triazole. Pour cela, il était possible d'inclure soit les alcynes soit les azotures sur la plateforme. Il s'est avéré au cours des expériences menées que la seconde option était la plus abordable synthétiquement, tant au niveau de la plateforme pyridine elle-même que du module quadrupolaire (*vide infra*).

Finalement, la plateforme **P₂** sélectionnée a été synthétisée à partir du dichlorure d'acide **109** et de la propargylamine disponibles commercialement (schéma II.15).

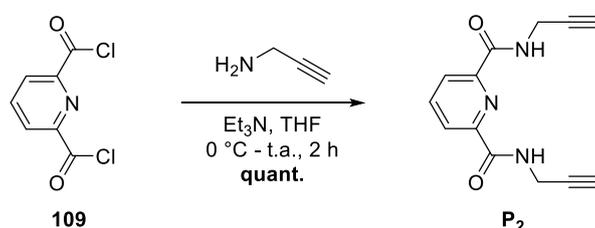


Schéma II.15 : Synthèse de la plateforme « clickable » **P₂**.

La réaction entre le chlorure d'acide et l'amine est effectuée en présence de triéthylamine pour piéger l'acide chlorhydrique dégagé. Le THF est choisi comme solvant de

réaction de façon à faire précipiter les sels de triéthylamine au cours de la réaction, et à faciliter le traitement. Dans ces conditions, la plateforme difonctionnalisée **P₂** est obtenue avec un rendement quantitatif après un simple lavage à l'éther diéthylique.

III.2. Modification de la fonction de greffage de l'antenne

Pour pouvoir introduire l'antenne quadropolaire sur la plateforme **P₂** par chimie click, il s'est avéré nécessaire de repenser la synthèse de sa partie greffable. En effet, des essais préliminaires d'alkylation du phénol de **A₄** n'ayant pas apporté de résultats satisfaisants, il a été décidé de soustraire l'éther d'hydroquinone de la branche greffable pour travailler directement sur l'alcool libre, de façon à le transformer en azoture en fin de synthèse.

Dans cette optique, le quadropôle **(OH)A₄**, analogue direct de **(HQ)A₄** possédant une fonction hydroxyle terminale, a été synthétisé en deux étapes. Comme dans la voie de synthèse présentée en I.3, une première réaction de Sonogashira réalisée cette fois directement sur l'intermédiaire **102** a permis d'obtenir l'alcyne protégé **110**. Celui-ci est ensuite couplé avec l'intermédiaire dissymétrique **106**, avec déprotection du groupement TMS *in situ*, pour obtenir **(OH)A₄** avec un rendement de 54%.

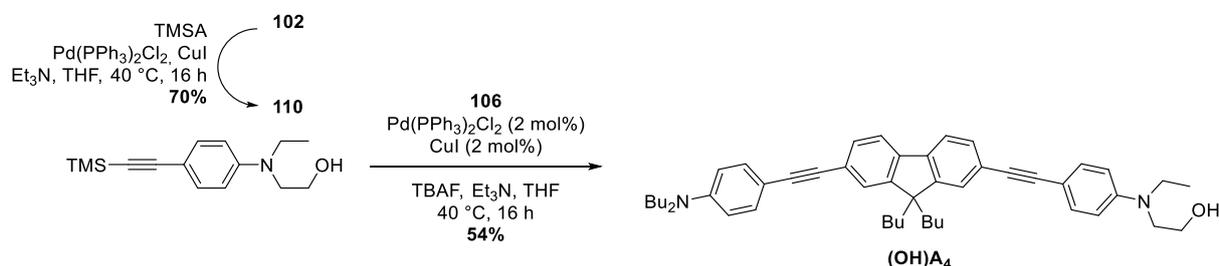


Schéma II.16 : Synthèse du quadropole **(OH)A₄** par couplages successifs de Sonogashira.

Les dernières étapes de synthèse du module consistent à modifier la fonction de greffage du quadropôle afin de la rendre compatible avec le mode de greffage imposé par la plateforme. Pour cela, il faut transformer l'alcool primaire en nucléofuge. Cette transformation s'est toutefois avérée plus délicate que prévue, et une réactivité très particulière a été mise en évidence pour ce β -anilino alcool. Les essais effectués sont résumés dans le tableau II.5.

Tableau II.5. Conditions étudiées pour la transformation de l'alcool intermédiaire (OH)A₄ en quadropole greffable.

| Entrée | Conditions | X = | Conversion ^[a] (Rendement [%]) | Observations |
|--------|--|-----|--|--------------|
| 1 | MsCl, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C – t.a. | | Totale | Dégradation |
| 2 | TsCl, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C – t.a. | | Incomplète | Dégradation |
| 3 | Bromure de propargyle, NaH, NaI THF, 0 °C – 60 °C | | Aucune | - |
| 4 | I ₂ , PPh ₃ , imidazole, CH ₂ Cl ₂ t.a. | | Totale (97%) | - |

^[a] Conversion estimée par plaque CCM

La réaction de (HO)A₄ avec le chlorure de mésyle (entrée 1) a d'abord été envisagée. Si la disparition du produit de départ est bien observée après 16 h à température ambiante, de nombreuses tâches faiblement fluorescentes ont été détectées sur CCM. Aucune fraction majoritaire et aucun produit n'ont pu être isolés purs après chromatographie sur colonne de silice, ce qui montre une probable dégradation du produit dans le milieu réactionnel. Les mêmes observations sont effectuées lors de l'utilisation de chlorure de tosyle, préalablement purifié par recristallisation (entrée 2), avec cependant une conversion incomplète traduisant une moindre réactivité de ce réactif. Une tentative de propargylation de l'alcool a été menée avec du bromure de propargyle en conditions basiques (entrée 3). De façon toute aussi étonnante, aucune conversion n'est observée après 24h, malgré l'ajout d'iodure de sodium. Le produit de départ est récupéré à 88% après filtration sur silicagel. Finalement, face à ces difficultés, il a été envisagé de transformer l'alcool en halogénure. Plutôt que la transformation en chlorure ou en bromure, c'est une iodation dans les conditions de Garegg^[232] qui a été sélectionnée (entrée 4). En effet, cette réaction en présence de triphénylphosphine présente un mécanisme s'apparentant à celui d'une réaction de Mitsunobu ; réaction ayant été effectuée avec succès sur le synthon **102** pour l'introduction de l'hydroquinone (cf. paragraphe I.3). Il s'avère effectivement que dans ces conditions, l'alcool est converti totalement en 2 h à température ambiante, ce qui donne accès à un quadropole iodé (I)A₄ de façon quasi-quantitative. La purification sur colonne de silice a même pu être évitée grâce à l'utilisation de triphénylphosphine supportée. Il faut noter que le produit prend rapidement une coloration verte très prononcée qui traduit sa très forte

réactivité, et l'éventuelle formation de l'iodure d'aziridinium résultant de l'attaque nucléophile de l'azote voisin.

L'intermédiaire clé (**I**)**A**₄ ouvre la porte à de nombreux types de fonctionnalisations et de greffages. Ici, compte tenu de la fonctionnalité de la plateforme **P**₂, il a été choisi de substituer l'iode par un azoture en présence de NaN₃ (schéma II.17).

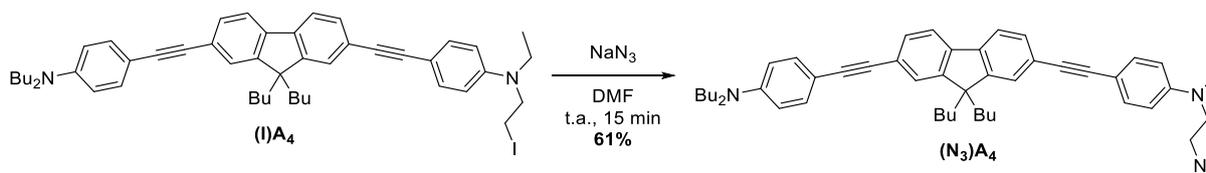


Schéma II.17 : Synthèse du quadropole (**N**₃)**A**₄ par substitution nucléophile avec de l'azoture de sodium.

La très forte réactivité de l'iodure (**I**)**A**₄ est à nouveau mise en évidence par un changement de couleur quasi instantané de la solution lors de l'ajout d'azoture de sodium. Le module greffable final (**N**₃)**A**₄ est obtenu avec un très bon rendement en moins d'un quart d'heure. Le solvant choisi pour la réaction a néanmoins ici une importance cruciale. La même réaction effectuée dans l'acétone n'aboutit pas à la conversion totale du produit de départ, même après trois jours à reflux. Cette différence de réactivité peut être attribuée à la forte solubilité dans l'acétone de l'iodure de sodium produit par la substitution, ce qui empêche le déplacement de l'équilibre.

III.3. Assemblage des modules par chimie click

La synthèse des dyades basées sur la plateforme **P**₂ s'effectue par réaction « click » CuAAC en deux étapes distinctes. La difficulté initiale réside dans la désymétrisation induite au cours de la première cycloaddition. Pour favoriser le produit de mono-addition, l'azoture (**N**₃)-**A**₄ est ajouté en solution diluée, goutte à goutte, sur un large excès de **P**₂. Dans ces conditions contrôlées, le produit intermédiaire **111** est obtenu avec un bon rendement après purification. Le double quadropôle issu de la double click est quant à lui isolé à hauteur de 25%, et pourra être utilisé lors des caractérisations photophysiques.

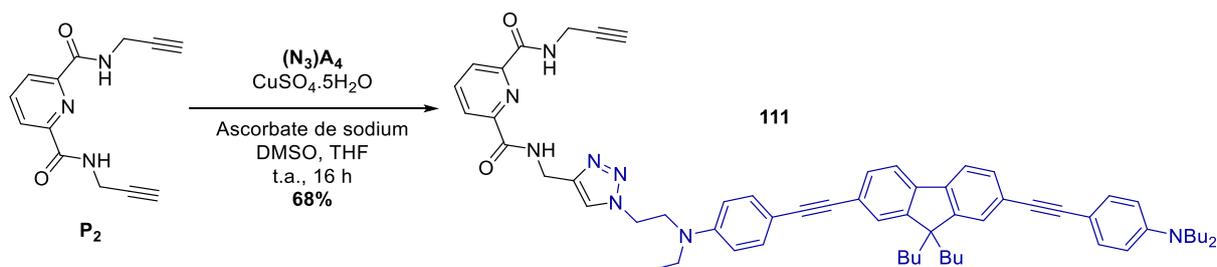


Schéma II.18 : Synthèse de l'intermédiaire dissymétrique **111** par cycloaddition de Huisgen catalysée au cuivre.

L'alcyne terminal restant sur l'intermédiaire **111** est ensuite clické sur deux modules décapeurs **112** et **113** basés respectivement sur le MNI et le MDNI présents au laboratoire à la suite de travaux précédents sur les triades. La réaction est effectuée dans une salle noire, dans les mêmes conditions que pour l'étape précédente.

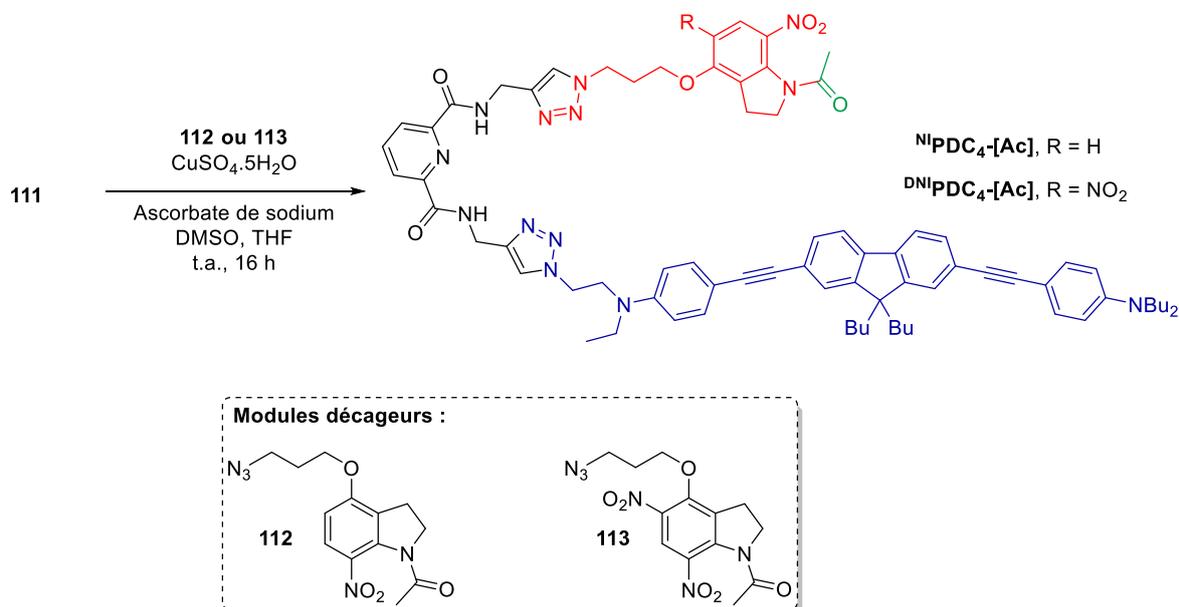


Schéma II.19 : Synthèse des dyades PDC par seconde cycloaddition de Huisgen entre l'alcyne **111** et les azotures photosensibles **112** et **113**.

La réaction avec le module basé sur le MNI **112** devait permettre la comparaison directe avec la dyade NI^{D}_4 obtenue précédemment, de façon à étudier l'influence de la plateforme. Malheureusement, la réaction de cycloaddition entre les sous-unités **111** et **112** a conduit à un mélange complexe d'au moins 5 produits en très faible quantité n'ayant pas pu être identifiés. La dyade NI^{PDC}_4 n'a donc pas pu être isolée jusqu'alors.

Malgré un mélange de plusieurs produits, une fraction majoritaire a toutefois pu être isolée par chromatographie après la réaction entre **111** et **113**. Le produit s'est malheureusement avéré très instable en solution, et malgré les précautions nécessaires pour le conserver à l'abri de la lumière, les analyses RMN et MS montrent rapidement la présence du sous-produit dé-

acétylé censé se former après la photolibération. Ceci pourrait indiquer que la combinaison entre le quadrupôle **A4**, très fort donneur d'électrons, et le module DNI, très appauvri, n'est pas stable dans le noir, et inutilisable en tant que décageur. Une tentative de cristallisation du produit a été effectuée afin de visualiser l'assemblage à l'état solide par DRX, mais elle n'a pas abouti.

Les difficultés de synthèse et le manque de stabilité du produit $^{DNI}PDC_4$ ne nous ont jusqu'ici pas permis d'étudier ses propriétés photophysiques. L'étude de ces deux dyades basées sur la plateforme **P2** n'a pour l'instant pas été poursuivie. Les obstacles synthétiques franchis lors de la modification de la fonction de greffage de **A4** ouvrent toutefois la voie vers la synthèse de nouveaux édifices qui seront abordées dans les chapitres suivants.

IV. Conclusions

Dans ce chapitre, la stratégie que nous avons explorée repose sur l'assemblage covalent, *via* un clip phosphoré ou d'une plateforme PDC, d'une antenne à énergie et d'un module décageur destiné à être sensibilisé par transfert d'énergie. L'étude de la bibliothèque de dyades préparée a démontré la modularité de cette stratégie synergique, tout en révélant des effets coopératifs et topologiques intéressants.

- (i) *L'utilisation d'une cage possédant un meilleur Φ_u a une influence positive sur le système coopératif.* En effet, comme prévu, le remplacement du module décageur *o*NV par une cage de la famille des indolines, ayant un rendement quantique d'*uncaging* 10 fois supérieur, a effectivement conduit à une photosensibilité à deux photons beaucoup plus importante.
- (ii) *Le σ_2 de la dyade est essentiellement dicté par le σ_2 de son antenne quadrupolaire.* En effet, l'absorption biphotonique est un phénomène tellement sensible au transfert de charge intramoléculaire que l'antenne **A4**, possédant les groupements électrodonneurs terminaux les plus forts, affiche une section efficace d'absorption supérieure de presque 1000 GM par rapport à l'antenne mono-oxygénée **A3**. En conséquence, cet effet se ressent très largement sur les dyades correspondantes, avec des δ_u très supérieurs pour $^{NV}D_4$ et $^{NI}D_4$. De façon intéressante, cet effet est bien moins prononcé en excitation monophotonique, et c'est même la dyade $^{NI}D_3$ qui affiche le ϵ_u le plus important de la série.

- (iii) *Les interactions entre les modules 2PA et la cage sont à l'origine d'effets coopératifs ou anti-coopératifs. Le ε^{\max} et le σ_2^{\max} des dyades sont effectivement influencés positivement ou négativement, et de façon non-négligeable (jusqu'à $\pm 30\%$) par toute une série de paramètres liés à la structure des modules, et à leur agencement dans l'espace. De plus, des contributions additionnelles au processus de photolibération ont été mises en évidence dans les dyades basées sur le MNI, avec la potentielle implication de transfert d'électrons dans des cas spécifiques où la capacité donneuse d'électrons du module 2PA et la topologie de la dyade sont favorables.*

Enfin, lorsque ces 3 points sont combinés dans une synergie positive, une amélioration significative de l'efficacité de photolibération est enregistrée, avec par exemple un excellent δ_u de 20 GM pour la dyade NID_4 , dans la gamme nécessaire pour une application biologique.^[233] Sur la base des présents résultats, nous avons souhaité aller plus loin dans l'élaboration de systèmes coopératifs en nous attelant au facteur limitant des systèmes présentés ici : l'efficacité du transfert d'énergie.

Chapitre III.

Nouveaux décageurs décalés vers le rouge pour l'élaboration de systèmes coopératifs

I. Préambule, design et analyses rétrosynthétiques

La stratégie d'élaboration de dyades coopératives pour l'*uncaging* a été validée lors des travaux précédents sur l'*o*NV et le MNI, ce qui a permis d'identifier les facteurs clés influençant l'efficacité du système. La section efficace d'absorption à deux photons des systèmes coopératifs est ainsi principalement dictée par le transfert de charge intramoléculaire de l'antenne quadrupolaire utilisée. L'influence positive d'une augmentation du Φ_u du module décageur incorporé au système a également été démontrée.

Pourtant, les valeurs très encourageantes de δ_u enregistrées jusqu'ici ne concernent que des dyades possédant un recouvrement spectral très limité entre l'antenne et la cage. Dans la continuité de ces études, nous avons postulé qu'une amélioration du recouvrement entre l'émission de nos fluorophores donneurs et l'absorption de nos cages acceptrices entraînerait potentiellement une efficacité de FRET – et par conséquent de photolibération – sensiblement accrue. Suite à la parution récente d'un nombre croissant de cages présentant un maximum d'absorption décalé vers le rouge, nous avons donc entrepris la conception de systèmes tandem analogues incorporant ces nouveaux motifs décageurs.

I.1. Choix des cages

Pour concevoir de nouveaux systèmes coopératifs avec une meilleure efficacité de FRET, il faut opérer à la sélection de deux modules en adéquation. Étant donné qu'il est difficile de décaler la longueur d'onde d'émission de l'antenne vers le bleu en gardant la même intensité de transfert de charge, nous avons décidé de nous concentrer exclusivement sur le fluorophore bis-azoté **A4**, largement meilleur absorbeur à deux photons que **A1-3**.

Le nouveau module décageur à associer à **A4** a donc été sélectionné selon trois critères :

- (i) Son maximum d'absorption doit être compris dans la bande d'émission de **A4** mesurée précédemment dans le chloroforme (400 à 530 nm, figure III.1).
- (ii) Idéalement, son rendement quantique de photolibération doit rester le plus important possible.
- (iii) Une version greffable de la cage doit pouvoir être développée sans altérer les propriétés électroniques du système π -conjugué.

La figure III.1 présente les principales cages rapportées à cette période dans la littérature, ainsi que leurs propriétés photophysiques (λ^{\max}) et photochimiques (Φ_u). La mise en perspective de ces valeurs avec l'émission du module **A4** montre que la plupart des cages absorbent effectivement trop loin dans l'UV, comme le MNI ou l'*o*NV utilisés précédemment. La famille des BODIPY est, elle, dans la partie supérieure de la courbe d'émission, et présentait surtout à cette période un rendement quantique de photolibération très faible le rendant inadapté à notre utilisation. La figure III.1 permet toutefois de mettre en lumière quatre candidats potentiels : un dérivé biphenyle (EANBP), et trois dérivés coumarinyles (DEAC, DEAC450 et DEATC).

Le maximum d'absorption de l'EANBP et de la DEAC se situe juste en dehors de la plage spectrale désirée. Ces composés sont cependant susceptibles de présenter un recouvrement suffisant pour augmenter significativement l'efficacité de FRET, tout en gardant un Φ_u supérieur à 10%. L'analogue thiocarbonylé de la DEAC est décalé à 470 nm, ce qui est tout à fait compatible avec l'émission de **A4**, mais souffre d'une efficacité et d'une stabilité moindres.

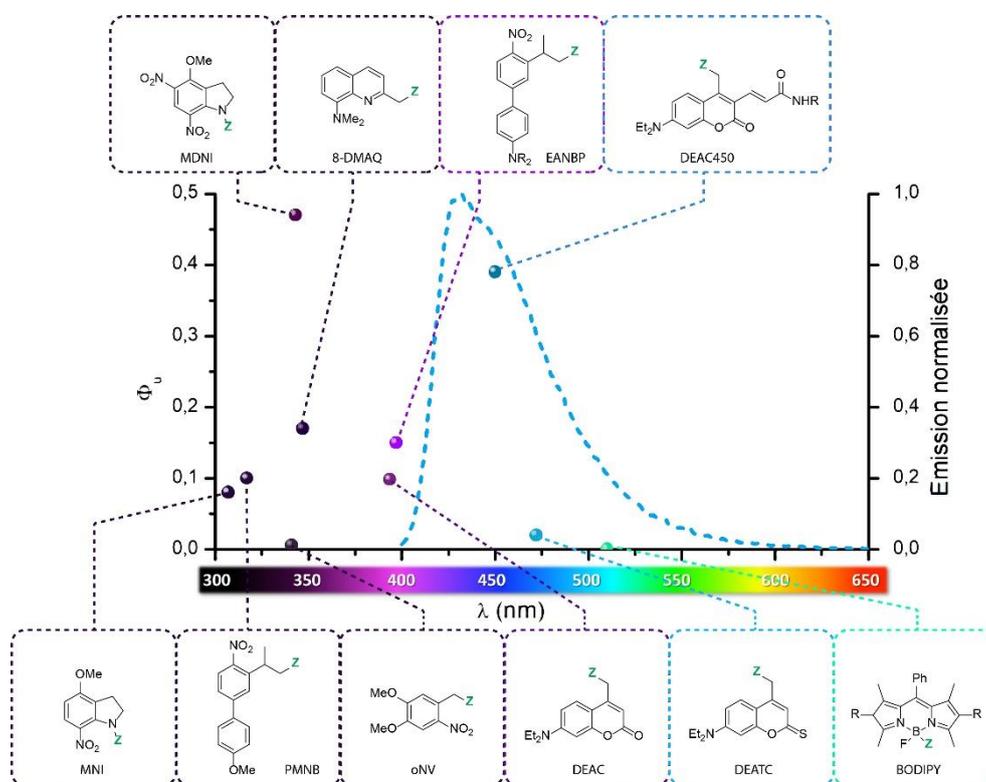


Figure III.1 : Cartographie des propriétés photophysiques et photochimiques (rapportées en milieux aqueux) des principales cages décrites dans la littérature, et mise en correspondance avec la courbe d'émission normalisée de l'antenne **A4** dans le chloroforme.

Finalement, comme mis en évidence sur la figure III.1, la DEAC450 rapportée récemment par Ellis-Davies et coll. semblait allier parfaitement les propriétés d'absorption recherchées avec une efficacité de photolibération très importante (39% dans le cas des acides carboxyliques que nous considérons dans notre étude). Parmi ces quatre cages, c'est donc vers ce dérivé que s'est portée principalement notre attention, et dont un analogue greffable a été imaginé.

I.2. Rétrosynthèse des modules ciblés

Les cibles visées dans un premier temps sont des analogues directs des dyades ${}^{\text{NV}}\text{D}_4$ et ${}^{\text{NI}}\text{D}_4$; la seule modification envisagée étant l'incorporation d'une version de la DEAC450 greffable par une fonction phénol. Cette modification de la structure de la cage peut avoir lieu par l'intermédiaire de deux fonctions présentes sur le squelette de la DEAC450 : l'acrylamide électroattracteur en position 3-, ou le diéthylamino électrodonneur en position 7-.

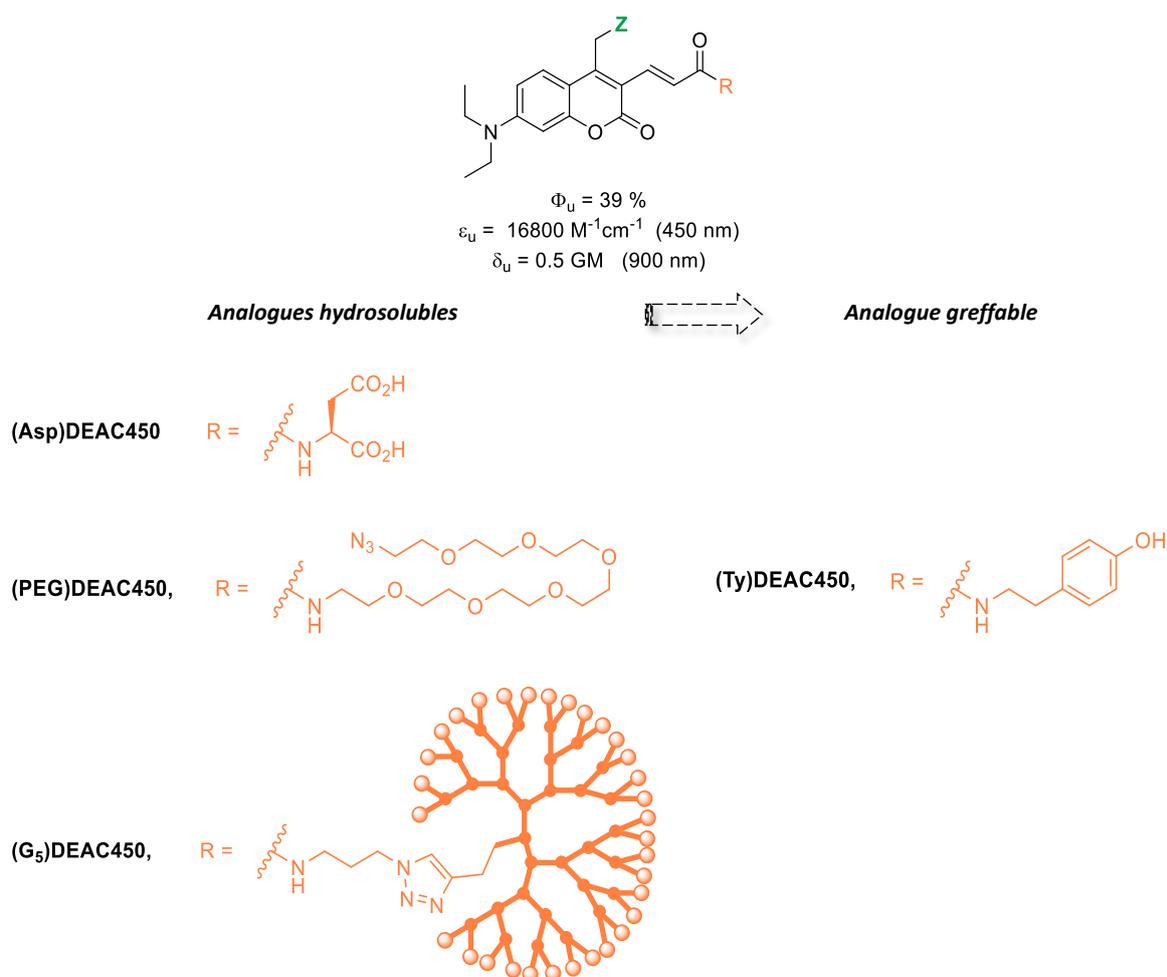


Schéma III.1 : Analogues structurels rapportés et envisagés pour la DEAC450.

Le greffage par la position 7- de la coumarine nécessite de modifier la voie de synthèse très en amont, de façon à remplacer une chaîne éthyle par un espaceur greffable analogue à ceux retrouvés dans les dyades ^{NV}D₁. Au contraire, Ellis-Davies et coll. ont eux-mêmes rapporté plusieurs analogues de la DEAC450 en faisant varier le groupement présent sur l'azote de l'acrylamide en position 3-, à l'extrémité du système *push-pull*. Les analogues (**Asp**)DEAC450 et (**PEG**)DEAC450, depuis rejoints par le dendrimère (**G₅**)DEAC450, possèdent trois groupements hydrosolubilisants différents introduits par couplage peptidique en fin de synthèse. Ces modifications structurelles n'ont en outre aucune influence directe sur le système π -conjugué de la cage, ou sur ses propriétés de photolibération. En ce sens, nous avons fait le choix de reproduire cette voie de synthèse décrite dans la littérature, en remplaçant simplement les synthons aspartate et amino-PEG (schéma III.1, en orange) par une molécule de tyramine, dérivé biosourcé décarboxylé de la tyrosine.

La rétrosynthèse de la nouvelle dyade cible ⁴⁵⁰D₄ (schéma III.2), basée sur le décageur greffable (**Ty**)DEAC450, est essentiellement semblable à celle présentée dans le chapitre II. La même réaction séquentielle d'assemblage des modules **P₁**, (**HQ**)A₄ et (**Ty**)DEAC450 est envisagée. La rétrosynthèse de la sous-unité DEAC450 greffable est ensuite basée quasi-exclusivement sur le chemin synthétique linéaire rapporté par Olson *et al.*,^[162,164] avec quatre transformations principales. La formation de la liaison amide est envisagée par couplage peptidique entre la tyramine et l'acide acrylique, introduit préalablement par un couplage de Heck avec l'acrylate de *tert*-butyle. L'utilisation d'un couplage catalysé au palladium pour l'allongement du système π -conjugué nécessite de bromer la position 3- du squelette de la coumarine. Enfin, l'introduction de la fonction 4-hydroxyméthyle, responsable du caractère photosensible de la molécule lorsqu'elle cage un acide, a lieu par oxydation de la 7-diéthylamino-4-méthylcoumarine **114** disponible commercialement.

La voie de synthèse présentée par Ellis-Davies et coll. implique la protection de la fonction 4-hydroxyméthyle par un groupement silylé (R = TBDMS). Idéalement, l'introduction de l'acide carboxylique d'intérêt biologique pourrait être effectuée après déprotection de l'alcool en toute dernière étape, une fois la structure de la dyade formée. Cependant, ici, nous avons choisi, pour comparaison directe, de décager dans un premier temps de l'acide acétique. L'acétate peut aussi dans ce cas aussi se comporter comme un groupement protecteur de la fonction 4-hydroxyméthyle, et peut être introduit en début de synthèse ; la contrainte étant alors de travailler dans une salle noire. Les deux options ont été étudiées à l'origine, mais la

voie de synthèse envisagée a par la suite évolué en fonction des observations et difficultés rencontrées. Les résultats de synthèse seront présentés dans les paragraphes suivants.

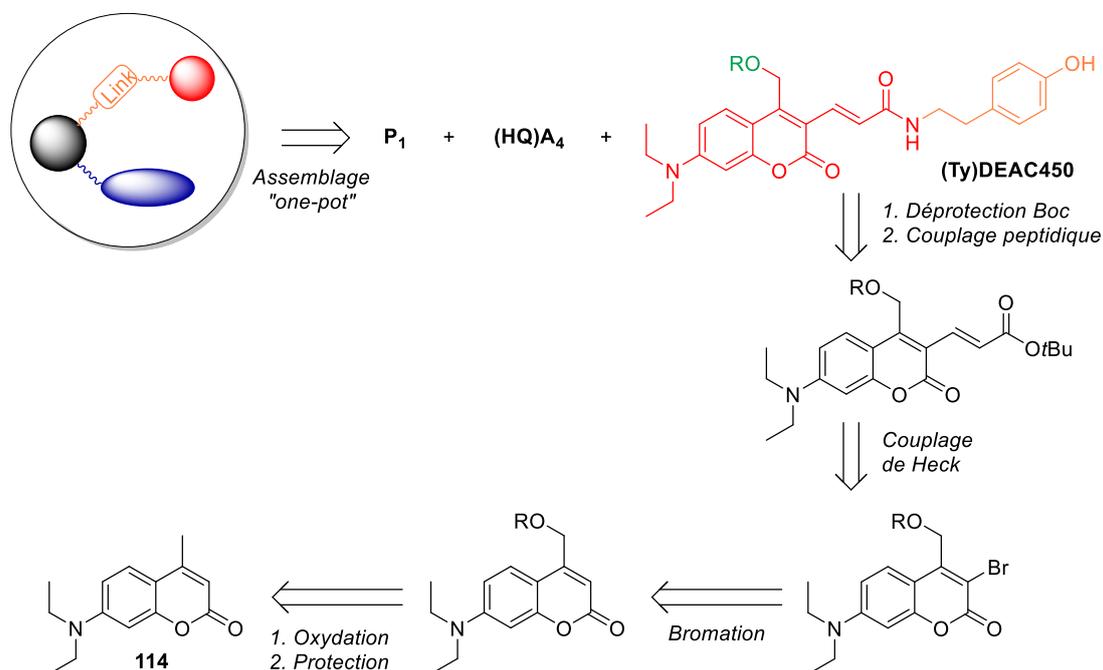


Schéma III.2 : Approche rétrosynthétique initiale des nouvelles dyades basées sur un décageur DEAC450, inspirée de la synthèse rapportée par Ellis-Davies et coll.^[162]

II. Synthèse de dyades basées sur la DEAC450

II.1. Synthèse d'intermédiaires 3-halogénocoumarines

La synthèse des intermédiaires halogénés nécessaires au couplage de Heck pallado-catalysé est réalisée à partir du composé commercial **114**. La première transformation est une oxydation du méthyle en position 4-.

II.1.1. Synthèse de l'intermédiaire 7-diéthylamino-4-hydroxyméthylcoumarine

La synthèse de l'intermédiaire clé 7-diéthylamino-4-hydroxyméthylcoumarine a été extensivement décrite dans la littérature^[177] depuis les premières utilisations de la DEAC en tant que cage. L'oxydation du méthyle en alcool est généralement effectuée de façon indirecte ; en réalisant de façon séquentielle l'oxydation en aldéhyde, suivie d'une réduction du composé **115** en alcool. De par le caractère pseudo-allylique du méthyle, dans l'immense majorité des rapports, l'étape d'oxydation est réalisée avec du dioxyde de sélénium. En se fixant sur la position 3- libre du composé **114**, le sélénium induit un réarrangement sigmatropique [2,3] d'un de ses atomes d'oxygène vers la position 4- voisine, aboutissant consécutivement à la formation

d'un aldéhyde. La réduction de l'aldéhyde est ensuite réalisée dans des conditions douces à l'aide de borohydrure de sodium, sans forcément isoler l'intermédiaire **115**.

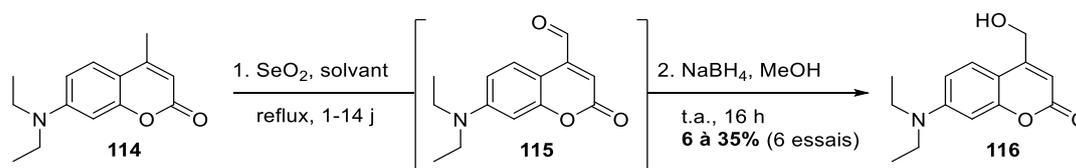


Schéma III.3 : Synthèse de l'intermédiaire clé **116** par oxydation au dioxyde de sélénium, et réduction consécutive.

Bien que décrite dans la littérature, cette séquence a été réalisée à plusieurs reprises avec des rendements décevants, compris entre 35 et 6% après chromatographie, et qui n'ont pas semblé reproductibles (schéma III.3). Malgré la variation des conditions d'oxydation et l'utilisation de plusieurs solvants différents (toluène, xylène, dioxane/H₂O), aucune amélioration n'a été observée. En outre, il a été observé que l'alcool **116** obtenu par cette méthode d'oxydation et chromatographié une seule fois (après l'étape de réduction) entraînait des rendements plutôt faibles sur les étapes suivantes, ce qui pourrait indiquer la présence de sels de sélénium résiduels dans le produit obtenu. De meilleurs rendements ont en effet été obtenus sur ces étapes lorsque l'aldéhyde intermédiaire **115** était lui aussi purifié par chromatographie avant la réduction, ce qui pourrait étayer cette supposition.

Face à ces résultats très handicapants pour une première étape de synthèse, une voie alternative a été étudiée. Nous avons postulé que, de par la répartition électronique de l'hétérocycle, le méthylène benzylique pouvait être suffisamment activé pour engendrer une attaque nucléophile sur un acétal de formamide.^[234,235] La nouvelle séquence étudiée implique alors la formation intermédiaire d'une énamine sur la position benzylique (schéma III.4).^[236] L'intermédiaire **117** est obtenu par double élimination de méthanol avec du diméthylacétal de DMF (DMFDMA) à reflux. Le composé est obtenu par simple précipitation avec un rendement quantitatif. La double liaison de l'énamine subit ensuite un clivage oxydant à l'aide d'un excès de periodate de sodium, et l'aldéhyde **115** ainsi obtenu peut être réduit dans les conditions classiques.

Cette séquence, décrite depuis dans un nombre croissant de publications,^[160,179] présente plusieurs avantages, dont l'absence de sels de sélénium potentiellement toxiques et persistants (également en vue d'applications biologiques). Surtout, elle a permis d'obtenir l'intermédiaire clé **116** sur une échelle de plusieurs dizaines de grammes, avec un rendement global en alcool de 70%.

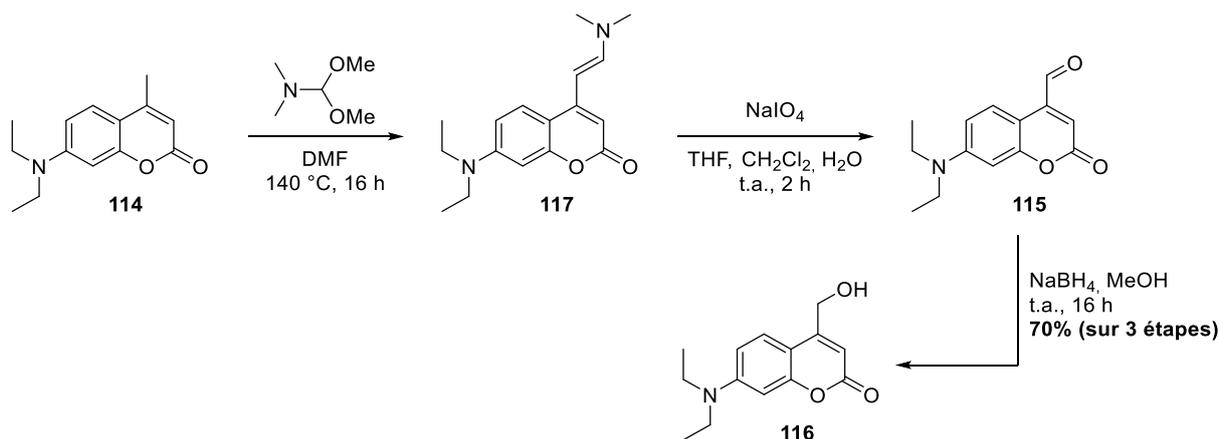


Schéma III.4 : Séquence synthétique alternative de l'alcool **116** par condensation de la 7-diéthylamino-4-méthylcoumarine sur du DMFDMA, clivage oxydant et réduction.

La purification de **116** a été généralement réalisée par chromatographie *flash* sur gel de silice, mais des conditions de recristallisation sont en cours de mise au point au laboratoire. L'optimisation de cette voie de synthèse représente une avancée majeure pour la démocratisation des cages de la famille des coumarines.

II.1.2. Acétylation et protection de l'alcool

La protection de l'alcool **116** a été réalisée par introduction d'un groupement silylé TBDMS dans les conditions décrites par Olson *et al.*^[162] L'alcool protégé a été obtenu avec des rendements variable selon le batch de **116** utilisé, ce qui supporte l'hypothèse de la présence de sels de sélénium dans le produit lorsque l'oxydation est réalisée par SeO₂ (schéma III.5). Après optimisation des conditions d'oxydation, le produit **118** peut finalement être obtenu avec d'excellents rendements, généralement sans chromatographie.

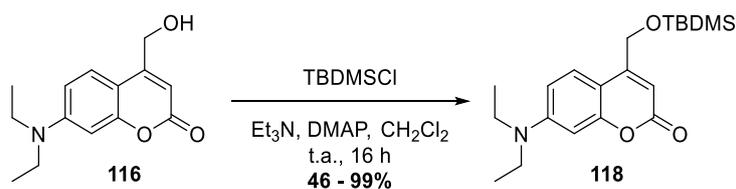


Schéma III.5 : Protection de l'alcool **118** par un groupement TBDMS.

Alternativement, le groupement acétyle peut être utilisé pour protéger l'alcool dans la voie de synthèse. La méthode d'acétylation au chlorure d'acétyle dans le THF s'est avérée la plus efficace (schéma III.6). Le produit acétylé **DEAC-[Ac]**, photosensible, est obtenu quantitativement par simple filtration.

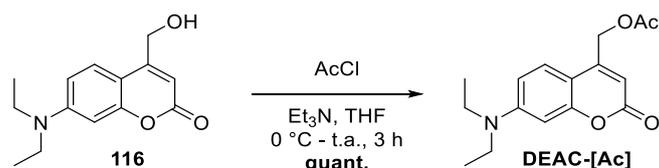


Schéma III.6 : Synthèse du décaeur de référence et intermédiaire de synthèse DEAC-[Ac] par acétylation de l'alcool 116.

Il faut noter qu'en plus de son utilité synthétique, **DEAC-[Ac]** a pu être utilisée par la suite comme référence de photolyse à 365 nm (cf. section V). Pour cette utilisation particulière, le produit a été préalablement purifié par chromatographie (cf. annexe expérimentale).

II.1.3. Halogénéation de la position 3-

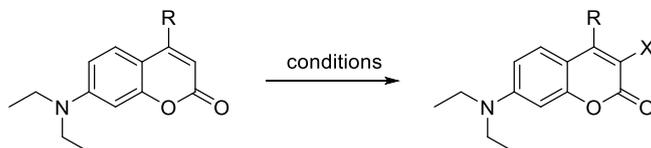
Dans l'optique de procéder à des couplages organométalliques pour étendre le système π -conjugué, l'halogénéation de la position 3- de la coumarine a été réalisée. Le couplage avec l'acrylate de *tert*-butyle décrit dans la voie de synthèse de la DEAC450 est effectué sur un intermédiaire bromé, aussi c'est cette réaction qui a été reproduite en premier. Toutefois, face aux nombreuses difficultés et évolutions de la voie de synthèse (*vide infra*), il s'est avéré nécessaire d'abord de varier les substrats, puis d'envisager la synthèse d'un substrat iodé, non décrit mais potentiellement plus réactif en conditions de couplage au palladium. Les conditions d'halogénéation sont résumées dans le tableau III.1.

La bromation électrophile de la position 3-, activée par le groupement 7-diéthylamino, est réalisée par le *N*-bromosuccinimide dans l'acétonitrile. Dans ces conditions, la réaction est efficace quel que soit le substituant présent en position 4-. Les composés silylé **118** (entrée 1), acétylé **DEAC-[Ac]** (entrée 2), ou hydroxylé **116** (entrée 3) sont bromés avec des rendements bons à quantitatifs.

Le cas de la double bromation (entrée 4) est particulier. En effet, afin d'éviter l'oxydation au SeO_2 , il a été envisagé de bromer de façon séquentielle à la fois la position 3- et la position benzylique. De cette façon, la molécule à cager peut être introduite au cours d'une réaction de substitution nucléophile de l'halogène (cf. paragraphe III). Cette séquence, décrite sur la 7-méthoxy-4-méthyl coumarine, s'est avérée inefficace dans le cas d'un donneur azoté. En effet, malgré la présence de peroxyde de benzoyle dans du tétrachlorure de carbone, aucune bromation radicalaire de la position benzylique n'est observée. Au contraire, l'introduction de 2 équivalents de NBS entraîne à la place la double bromation électrophile de la position 3, ainsi que des positions 6- et 8- dans un mélange inséparable de produits. Cette observation indique

que le donneur azoté favorise exclusivement les réactions électrophiles vis-à-vis d'halogénations radicalaires initiées thermiquement.

Tableau III.1. Etude des conditions d'halogénéation de la position 3- de la DEAC.



| Entrée | Réactif | Produit | Conditions | Rendement (conversion ^[a]) [%] |
|--------|--|--|---|---|
| 1 | R = CH ₂ OTBDMS (118) | X = Br (119) | NBS, NaOAc, MeCN, t.a. | 99 |
| 2 | R = CH ₂ OAc (DEAC-[Ac]) | X = Br (120) | NBS, NaOAc, MeCN, t.a. | 86 |
| 3 | R = CH ₂ OH (116) | X = Br (121) | NBS, NaOAc, MeCN, t.a. | 57 |
| 4 | R = CH ₃ (114) | R = CH ₂ Br, X = Br (122) | NBS (2 eq.), peroxyde de benzoyle, CCl ₄ , reflux | - |
| 5 | R = CH ₂ OTBDMS (118) | X = I (123) | NIS, NaOAc, MeCN, t.a. | 10 |
| 6 | R = CH ₃ (114) | X = I (124) | I ₂ , pyridine, dioxane, t.a. | 96 |
| 7 | R = CH ₂ OTBDMS (118) | X = I (123) | I ₂ , pyridine, dioxane, 100 °C | -(20) |
| 8 | R = CH ₂ OH (116) | X = I (125) | I ₂ , pyridine, dioxane, 100 °C | 41 |
| 9 | R = CH ₂ OH (116) | X = I (125) | NIS, BF ₃ .Et ₂ O, CHCl ₃ , 0 °C | 70 |
| 10 | R = CH ₂ OTBDMS (118) | X = I (123) | NIS, BF ₃ .Et ₂ O, CHCl ₃ , 0 °C | 51 |

^[a] Déterminée par RMN ¹H.

L'iodation électrophile de la position 3-, très encombrée stériquement, s'est avérée beaucoup plus délicate. L'adaptation directe des conditions de bromation (entrée 5) entraîne une réaction très lente, et seulement 10% de produit iodé sont isolés après séparation des produits et réactifs sur gel de silice. D'autres méthodes d'iodation ont alors été testées, avec en premier lieu l'utilisation de diiode en présence de pyridine. Cette méthode donne d'excellents résultats sur le substrat de départ **114** (entrée 6), mais elle s'avère là aussi trop douce dès lors qu'un substituant -CH₂OR est présent. Après deux semaines de réaction à reflux, l'alcool libre **116** est iodé à hauteur de 41% (entrée 8), alors que seulement 20% de conversion sont déterminés pour le substrat silylé (entrée 7).

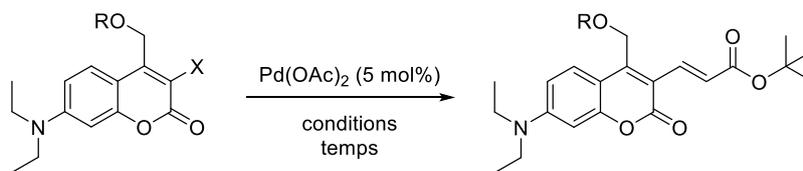
Finalement, face à ce manque de réactivité, une source d'iode plus électrophile a été utilisée. La complexation d'un acide fort de Brønsted ou de Lewis sur les carbonyles des succinimides est en cela une méthode connue pour exacerber le caractère électrophile de l'halogène et faciliter ainsi l'iodation de noyaux aromatiques appauvris ou désactivés. Ici, l'introduction de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ permet de créer une source d'iode hyper-électrophile suffisamment réactive pour halogéner très efficacement l'alcool libre **116** (entrée 9). Grâce à cette optimisation, le synthon clé **125** a pu être synthétisé à l'échelle d'une quinzaine de grammes. Les mêmes conditions appliquées à l'alcool protégé **118** sont légèrement moins efficaces, possiblement à cause de l'encombrement accru, mais permettent tout de même d'obtenir l'intermédiaire **123** avec un rendement de 51%.

II.2. Couplage de Heck

L'introduction de la double liaison en position 3-, responsable d'un fort décalage bathochrome de la bande d'absorption de la DEAC, s'effectue selon le schéma de synthèse initial par réaction de Heck dans les conditions plus vigoureuses décrites par Jeffery.^[237,238] De nombreux essais de couplage infructueux ont été réalisés avant d'obtenir des conditions optimisées. Au cours de ces essais, certaines tendances ont pu être dégagées, et sont présentées par l'intermédiaire du tableau III.2.

La réaction de Heck dans les conditions de Jeffery est réalisée dans le DMF à très haute température, dans un milieu saturé en sels organiques et inorganiques. L'objectif de ces conditions est de créer des nano-agrégats très réactifs de palladium (0), stabilisés par la présence de sels d'ammonium empêchant leur agglomération en particules de palladium *black* non réactives. Dans le cas présent, en plus d'être très encombrées, les 3-halogénocoumarines synthétisées sont très désactivées par la présence d'un fort donneur en position 7- entraînant une demande électronique inverse. Le but est ici de coupler ces substrats avec l'acrylate de *tert*-butyle, un monomère commercial, de façon à étendre le système π -conjugué et augmenter le transfert de charge intramoléculaire. Des essais préliminaires réalisés en adaptant le protocole décrit dans la littérature aux substrats bromés acétylé **120** (entrée 1) et hydroxylé **121** (entrée 2), n'ont pas permis d'isoler le produit attendu. La reproduction exacte du protocole tel que présenté par Ellis-Davies et coll. sur le substrat silylé **119** (entrée 3) n'a pas non plus permis d'identifier le produit dans le mélange réactionnel brut.

Tableau III.2. Etude des conditions de couplage de Heck entre les intermédiaires 3-halogénocoumarines et l'acrylate de *tert*-butyle.



| Entrée | X = | R = | Conditions | Temps | Rdt [%] |
|--------|-----|-------------------------|---|--------|---------|
| 1 | Br | -CH ₂ OAc | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (commercial) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 90 min | - |
| 2 | | -CH ₂ OH | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (commercial) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 90 min | - |
| 3 | | -CH ₂ OTBDMS | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (commercial) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 90 min | - |
| 4 | | -CH ₂ OTBDMS | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (commercial) P(<i>o</i> -tolyl) ₃ (20 mol%), Et ₃ N, toluène, 110 °C | 48 h | - |
| 5 | | -CH ₂ OTBDMS | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (commercial) PCy ₃ (20 mol%), Et ₃ N, toluène, 110 °C | 48 h | - |
| 6 | | -CH ₂ OTBS | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (commercial) <i>n</i> -Bu ₄ NHSO ₄ , NaHCO ₃ , 4Å MS, DMF, 110 °C | 30 min | - |
| 7 | | -CH ₂ OTBS | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (sans inhibiteur) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 30 min | 15 - 80 |
| 8 | | -CH ₂ OH | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (sans inhibiteur) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 60 min | 75 |
| 9 | I | -CH ₂ OTBS | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (sans inhibiteur) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 30 min | 53 |
| 10 | | -CH ₂ OH | Acrylate de <i>tert</i> -butyle (sans inhibiteur) <i>n</i> -Bu ₄ NCl, LiCl, NaHCO ₃ , DMF, 130 °C | 30 min | 70 |

L'échec de ces réactions a conduit à tester un couplage de Heck dans des conditions classiques, afin de voir si le produit se formait ou non. Ces réactions ont permis de mettre en évidence la formation du produit (détecté en RMN, non isolé), et surtout la difficulté de mener à bien la réaction sur cette position. En effet, en présence de ligands riches en électrons comme la tri(*ortho*-tolyl)phosphine (entrée 4) ou la tricyclohexylphosphine plus réactive (entrée 5), la réaction est très lente et la conversion reste très faible (environ 20% après 48 h à reflux) dans les deux cas. Ces essais préliminaires ont mis en évidence la formation du produit en conditions

classiques, mais l'absence totale de produit attendu en conditions de Jeffery, qui semblent pourtant nécessaires pour accélérer la conversion du produit de départ. Nous avons émis l'hypothèse que le problème pouvait venir des réactifs utilisés, et en particulier des sels d'ammonium et de lithium, ou de l'acrylate commercial.

Si le sel d'ammonium a une influence prépondérante dans la réaction de Jeffery,^[238] le chlorure de tétra-*n*-butylammonium et le chlorure de lithium utilisés ici sont aussi extrêmement hygroscopiques. Afin de mettre en lumière le problème, un sel d'ammonium moins hygroscopique a été utilisé et le chlorure de lithium supprimé des conditions opératoires (entrée 6). La réaction, lancée en présence de tamis moléculaire n'a pas permis l'obtention du produit de couplage croisé, mais a permis d'isoler l'aldéhyde **115**, issu d'une séquence de déhalogénéation-déprotection-oxydation, en tant que sous-produit très majoritaire (environ 70%).

L'acrylate de *tert*-butyle étant un synthon facilement polymérisable, le produit commercial est stabilisé par du *p*-méthoxyphénol. La réaction a de nouveau été effectuée en éliminant ce stabilisant par filtration de l'acrylate (pur) sur une colonne courte d'alumine basique (entrée 7). Dans ces conditions, la disparition du produit de départ est effectivement observée en 30 minutes, et le produit de couplage croisé a ainsi pu être isolé avec un rendement allant jusqu'à 80%. Dans le cas du substrat bromé **119**, il semblerait donc que les difficultés réactionnelles aient été liées à la présence de cet inhibiteur dont la fonction phénol peut potentiellement empoisonner le catalyseur, et peut être à une dégradation rapide du produit formé dès la consommation totale du réactif de départ.

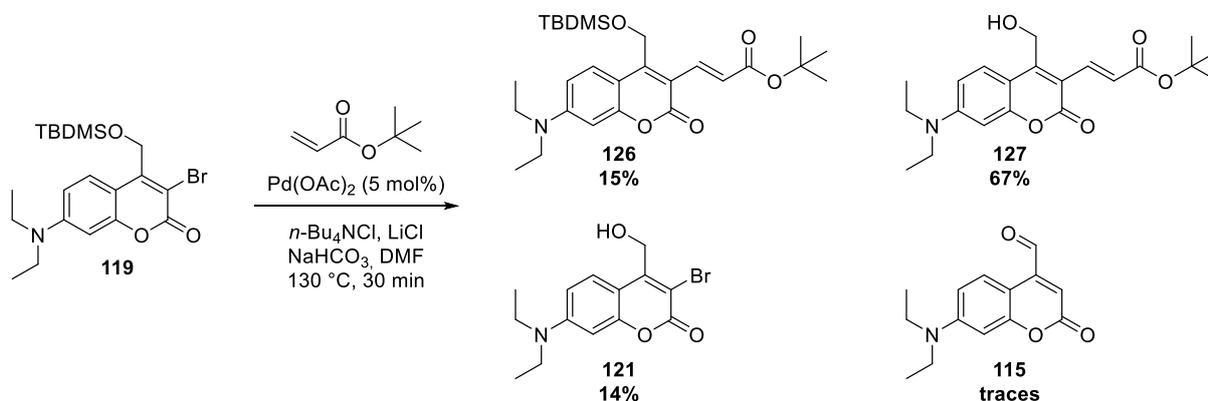


Schéma III.7 : Sous-produits obtenus dans les conditions de Jeffery lors du couplage de l'acrylate de *tert*-butyle sur l'intermédiaire protégé **119**.

À ce titre, il faut noter que ce même produit a été repréparé par la suite avec des rendements extrêmement variables (jusqu'à 15%). Ce manque de reproductibilité est causé par la formation de nombreux sous-produits déprotégés et/ou oxydés qui ont pu être isolés et caractérisés (schéma III.7), traduisant une relative instabilité du produit de couplage **126** dans ces conditions réactionnelles.

Suite à ces observations, la réaction a été à nouveau menée à bien sur l'alcool libre **121** dans les conditions optimisées (entrée 8), de façon à s'affranchir des réactions parasites liées à la présence du groupement silylé. Le produit souhaité est alors isolé avec un très bon rendement de 75%. Dans ce cas, le principal sous-produit observé est généralement l'aldéhyde **115** issu d'une double réaction de déhalogénéation et oxydation. Cette oxydation de l'alcool pseudo-allylique catalysée au palladium,^[239,240] est probablement liée à la très forte similitude des conditions de Jeffery avec les conditions d'oxydation rapportées par Choudary.^[241] La réaction parasite semble de plus favorisée en présence de traces d'eau. Lorsque les réactifs sont préalablement séchés au lyophilisateur, et l'acrylate filtré sur alumine basique, le produit de couplage de Heck est quasi-exclusivement observé en CCM et RMN ¹H.

Finalement, face aux difficultés de synthèse rencontrées lors de l'optimisation, la réaction avait été mise en œuvre sur les 3-iodocoumarines **125** et **123** (tableau III.2, entrées 9 et 10). Les produits de couplage ont ainsi pu être obtenus avec des rendements de respectivement 53% et 70%, sans qu'une différence de cinétique notable n'ait été observée. Les 3-iodocoumarines ont cependant permis une plus grande reproductibilité des rendements, et tolèrent surtout une plus grande variété de substrats (*vide infra*).

II.3. Introduction de l'espaceur tyramine

II.3.1. Formation de la liaison amide par couplage peptidique

Suite à l'obtention du produit de couplage de Heck, la tyramine doit être introduite de façon analogue au synthon aspartate de la cage (Asp)DEAC450. Suite à la déprotection de l'acide acrylique par traitement du composé **126** par du TFA dans le dichlorométhane, le couplage peptidique est effectué en conditions classiques. L'agent de couplage EDC est introduit pour activer l'acide carboxylique (schéma III.8).

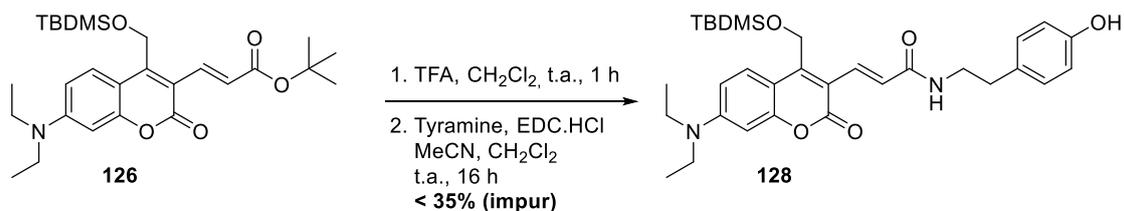


Schéma III.8 : Couplage peptidique entre l'acrylate **126**, préalablement déprotégé, et la tyramine.

Ce premier essai de couplage a permis d'isoler seulement quelques milligrammes de produit après chromatographie. De nombreuses traces de dégradation ont été observées au cours de la purification, et la fraction isolée s'est finalement avérée impure. Il a été montré par la suite par plaque CCM 2D que le produit était effectivement instable sur silice, et sur alumine neutre.

Au cours de cette expérience, la mauvaise solubilité des réactifs et du produit final dans beaucoup de solvants (y compris MeCN et CH₂Cl₂) ont pu être mis en évidence. Le couplage a été à nouveau effectué dans le DMF, avec un rendement de seulement 5%. Face à ces nouvelles difficultés, des méthodes de couplage alternatives ont été envisagées, avec notamment la transformation de l'acide carboxylique en chlorure d'acide ou l'utilisation transitoire de carbonyle diimidazole, qui permettraient potentiellement de s'affranchir de purification sur gel de silice. Aucune méthode d'activation de l'acide carboxylique n'a toutefois été concluante et n'a permis d'obtenir la coumarine greffable **128** en quantité exploitable.

Le manque de solubilité, mais surtout de réactivité de l'acide carboxylique conjugué en position 3- représentent un obstacle synthétique important, et réduisent fortement la viabilité de la voie de synthèse linéaire envisagée initialement. Pour introduire l'espaceur tyramine greffable, nous avons alors décidé de repenser la voie de synthèse de façon à former la liaison peptidique plus en amont.

II.3.2. Synthèse d'un synthon acrylamide et voie de synthèse convergente

La nouvelle voie de synthèse convergente consiste à préparer séparément le fragment acrylamide, afin de l'engager dans le couplage de Heck à la place de l'acrylate de *tert*-butyle, et ainsi atteindre directement la structure finale du motif décageur (Ty)DEAC450. Pour cela, la méthode la plus directe et économe est de coupler la tyramine avec du chlorure d'acryloyle en présence de triéthylamine (schéma III.9). Le synthon intermédiaire **129** est ainsi obtenu avec un très bon rendement, et est assez stable pour être conservé à température ambiante sans qu'une polymérisation ne soit observée.

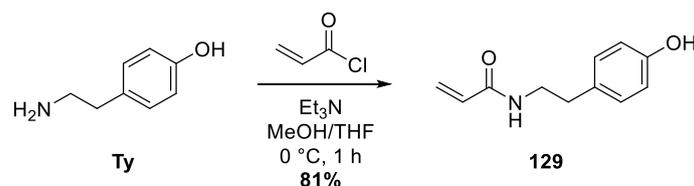


Schéma III.9 : Synthèse de l'acrylamide intermédiaire **129** par réaction entre la tyramine et le chlorure d'acryloyle.

Le couplage de Heck consécutif a d'abord été réalisé entre cet acrylamide **129** et la coumarine bromée protégée **119** (schéma III.10). Dans les conditions de Jeffery optimisées, le produit de couplage n'est cependant pas isolé, et l'aldéhyde **115** issu de la séquence de déprotection-oxydation est formé. Cette observation tendrait à confirmer que la présence d'un phénol dans le milieu freine la réaction de couplage croisé, et favorise les réactions parasites sur le substrat bromé.

Pour s'affranchir au maximum des sous-produits de déprotection et d'oxydation il a été décidé de travailler finalement sur l'alcool **125** iodé en position 3-. Dans les mêmes conditions, le produit a cette fois bien été formé, soulignant la plus grande réactivité et la versatilité du substrat iodé. La réaction peut être menée avec les deux réactifs de couplage en quantité stœchiométrique. De cette façon, et en conditions rigoureusement anhydres et inertes, la réaction de couplage croisé est suffisamment propre et efficace pour s'affranchir de purification sur silice. La DEAC450 greffable **130** est finalement obtenue après lavages et coprécipitations avec un très bon rendement de 77%.

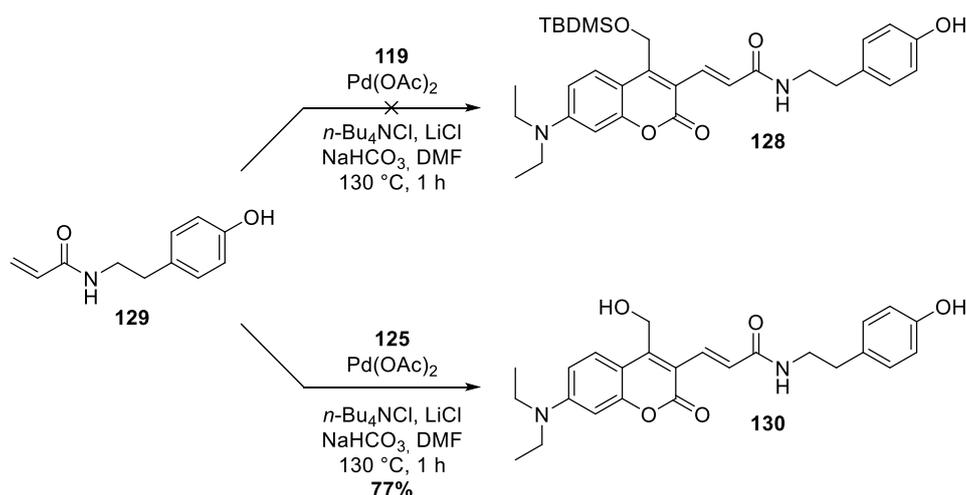


Schéma III.10 : Couplage de l'acrylamide **129** sur les coumarines halogénées **119** et **125** dans les conditions de Jeffery.

Grâce à cette voie de synthèse convergente, les produits de couplages peuvent être obtenus sur des quantités supérieures au gramme. L'optimisation menée sur chaque étape a

permis de rendre la synthèse plus économe et efficace, en s'affranchissant à la fois des groupements protecteurs TBDMS (pour l'alcool) et *t*Bu (pour l'acide).

D'excellents rendements ont finalement été obtenus au cours de la synthèse convergente de **130**, qui a par la suite été adoptée pour la synthèse de toutes les coumarines étendues en position 3-. À ce titre, nous avons appliqué cette stratégie à la synthèse d'(Asp)DEAC450-[Ac] (schéma III.11) qui sera utilisée dans les expériences de photolyses comparatives pour évaluer l'efficacité de nos nouveaux composés.

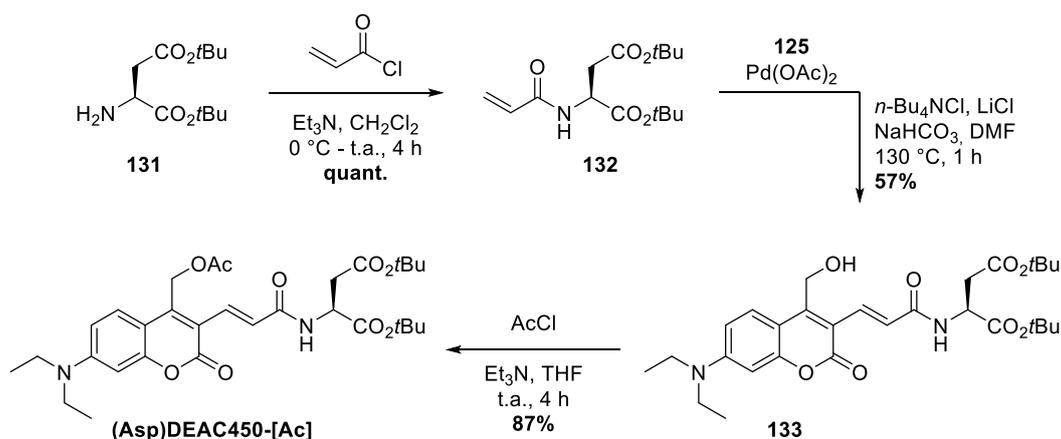


Schéma III.11 : Voie de synthèse optimisée du décapeur (Asp)DEAC450-[Ac].

Pour cela, le synthon acrylamide **132** est synthétisé à partir de l'aspartate protégé **131** dans des conditions similaires à celles employées dans le cas de la tyramine. Le couplage de ce synthon vinylique avec l'intermédiaire iodé **125** permet d'obtenir la cage « libre » **133** avec un rendement de 57% après purification. Enfin, une étape d'acétylation donne accès au composé de référence (Asp)DEAC450-[Ac] avec un excellent rendement isolé après chromatographie, et sur lequel nous avons conservé les groupements *tert*-butyle pour une meilleure solubilité dans les solvants d'étude. L'obtention de ce composé valide notre stratégie de synthèse.

II.4. Tentative d'assemblage des modules

L'obtention du module décapeur greffable **130** a permis d'entreprendre la synthèse d'une dyade grâce à la réaction séquentielle décrite dans le chapitre II. Ici, il a été choisi de laisser la fonction alcool libre au cours du greffage ; celle-ci ne devant a priori pas gêner la substitution de la liaison P-Cl de la plateforme **P1** par la fonction phénol de la tyramine en présence d'une base faible comme le carbonate de césium. L'acétylation de cette fonction alcool aurait alors lieu en toute dernière étape sur la dyade déjà formée, ce qui permettrait aussi par la suite varier les molécules cagées et d'introduire par exemple du glutamate.

En suivant le protocole implémenté au laboratoire, le module décageur **130**, non photosensible à ce stade, doit être introduit en solution goutte à goutte sur la plateforme **P1**. Malheureusement, ce module **130** très polaire étant insoluble dans le THF, nous avons été contraints d'adapter le protocole en conséquence et de l'ajouter à l'état de poudre par portions. Cependant le manque de solubilité est accompagné d'un manque de réactivité de **130** dans les conditions utilisées, et la disparition complète du produit de départ est rarement observée sur CCM. Chauffer le milieu réactionnel n'a eu pour conséquence que d'engendrer la dégradation de la plateforme **P1**. Ainsi, malgré plusieurs tentatives, le produit intermédiaire n'a pu être détecté qu'une seule fois en RMN ^{31}P , sans pouvoir rationaliser les échecs précédents. Au cours de cette réaction, de nombreux sous-produits de dégradation phosphorés ont été détectés en RMN (de -20 à 75 ppm), aussi le produit intermédiaire **131** a été purifié avec succès sur colonne de silice neutralisée et isolé avec un rendement de 48% (schéma III.12).

Ce manque de solubilité se transmet à l'intermédiaire **131** qui ne réagit pas avec le fluorophore (**HQ**)**A4** dans la seconde étape de la réaction. Pour pallier à ce problème, nous avons tenté d'inverser les étapes en greffant d'abord le quadrupôle (**HQ**)**A4**. Si le produit intermédiaire est effectivement détecté sur CCM, l'introduction du module décageur **131** ne conduit pas à la formation de la dyade $^{450}\text{D4}$. Enfin, la réaction de substitution menée dans le DMF, un meilleur solvant pour **131**, entraîne exclusivement la dégradation de **P1**.

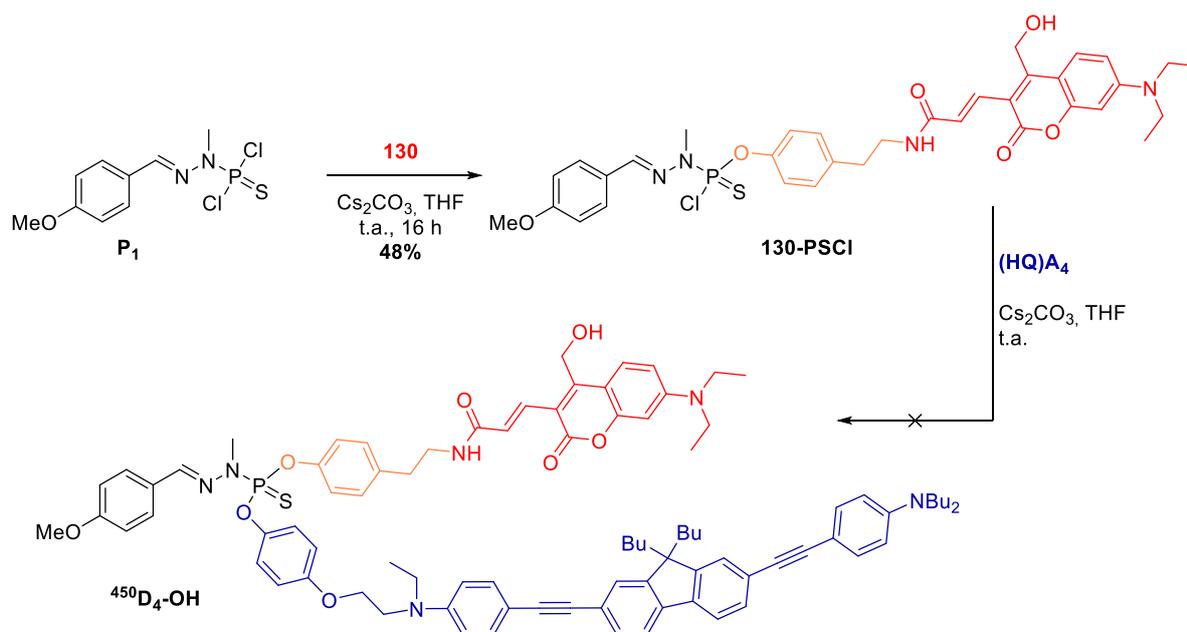


Schéma III.12 : Tentative d'assemblage de la DEAC450 greffable **130** et du quadrupôle (**HQ**)**A4** sur la plateforme **P1**.

Nous avons supposé que le manque de solubilité du module **131** dans les conditions opératoires utilisées était le facteur limitant de cette réaction. Aussi, il a été décidé d'atténuer la forte polarité de la coumarine **131**, liée en partie à la présence de l'alcool libre, en cageant directement une molécule suffisamment lipophile pour la rendre soluble dans le THF. Pour cela ont été introduits par estérification deux analogues de glutamate protégés par des groupements Boc et Fmoc. La réaction a lieu en présence d'un agent de couplage peptidique et d'une quantité catalytique de DMAP indispensable à l'obtention du produit (schéma III.13). Les composés photosensibles (Ty)DEAC450-[GluFmoc] et (Ty)DEAC450-[GluBoc] sont obtenus avec des rendements de 68 et 60% respectivement.

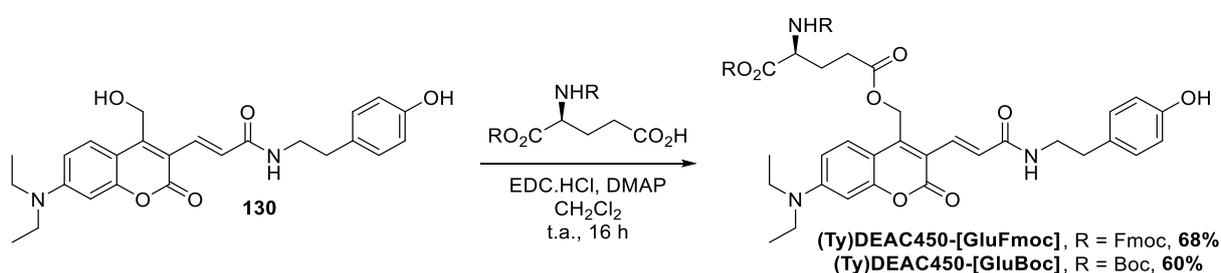


Schéma III.13 : Synthèse des décageurs greffables (Ty)DEAC450 cageant du glutamate protégé.

La réaction de substitution de la plateforme **P1** a alors été reproduite dans une salle noire avec ces modules, tous deux effectivement solubles dans le THF. Dans les deux cas, la disparition du produit de départ est observée par contrôle CCM, mais aucune tâche fluorescente n'est révélée dans le milieu réactionnel. Si cette observation peut être imputée dans le cas de (Ty)DEAC450-[GluFmoc] à possible une instabilité du groupement Fmoc dans les conditions de réactions utilisées, la dégradation du composé (Ty)DEAC450-[GluBoc] est plus surprenante et dénote finalement d'une réelle incompatibilité entre la plateforme **P1** et les modules DEAC450 greffables par la tyramine.

Pour approfondir l'investigation, des tentatives de substitutions ont été réalisées sur une autre plateforme phosphorée. La plateforme **P3** (schéma III.14), est un cyclotriphosphazène disponible commercialement utilisé précédemment au laboratoire en tant que cœur pour des dendrimères fluorescents,^[45] ou encore pour la synthèse de systèmes coopératifs multichromophoriques de génération G_0 , composés de 4 à 5 antennes pour une seule cage. La fonctionnalisation de **P3** implique de faire dans un premier temps réagir un équivalent de sous-unité cage sur une seule liaison P-Cl, dans des conditions analogues à celles utilisées pour la plateforme **P1**.

Malheureusement, dans ces conditions, nous avons été confrontés au même manque de réactivité et de reproductibilité qu'avec **P1**. En effet, si la formation des intermédiaires **134** et **135** a bien été détectée par CCM et RMN ^{31}P , la réaction consécutive avec le module quadrupolaire **(HQ)A4** semble conduire à la dégradation du composé. Les tentatives de reproduire la formation de l'intermédiaire monosubstitué ont été un échec. Finalement, tant dans le cas des dyades que des systèmes multi-coopératifs G_0 , les analyses par spectrométrie de masse n'ont à aucun moment permis de mettre en évidence la présence du produit attendu. Dans le cas des composés $^{450}\text{G}_0\text{-OH}$ et $^{450}\text{G}_0\text{-[GluBoc]}$, aucun profil isotopique correspondant à une substitution partielle de la plateforme n'a même été mis en évidence, et la RMN ^{31}P indique une probable dégradation du cœur cyclotriphosphazène.

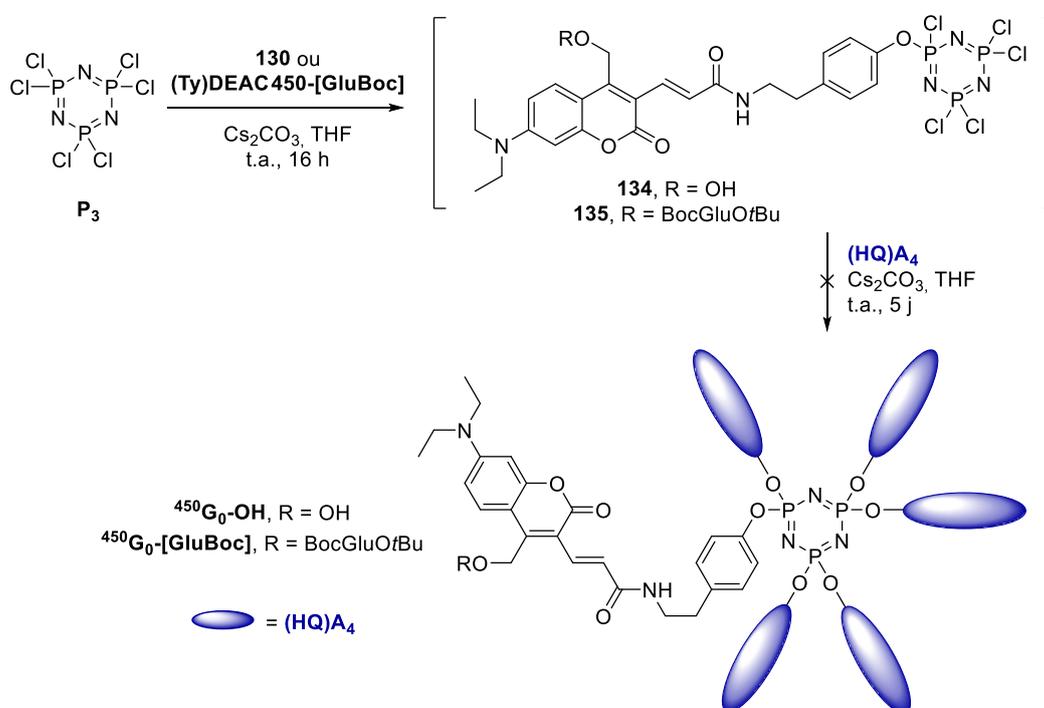


Schéma III.14 : Tentative de synthèse d'un système multichromophorique « G_0 » par assemblage des modules sur la plateforme P_3 .

Les difficultés rencontrées jusqu'à présent nous ont poussés à considérer des modules décapeurs différents. En effet, si la perte de solubilité liée à l'extension du système π -conjugué est un handicap lors de la réaction de substitution sur **P1** et **P3**, il a aussi été envisagé que le manque de réactivité relative du phénol soit lié à l'absence d'oxygène ou de triazole en position *para*, au contraire des analogues **(C1N3)NI** et **(C3N3) ou (C6N3)NV** utilisés dans le chapitre II. Aussi, dans le paragraphe suivant seront présentés des modules basés sur la DEAC ou la DEATC comportant un *linker* greffable du type C_1N_3 .

III. Synthèse de dyades basées sur la DEAC

III.1. Design et stratégie de synthèse

Les décapeurs DEAC et DEATC, non étendus en position 3-, ont été sélectionnés pour leur bonne correspondance avec l'émission de **A4** (figure III.1), mais aussi pour l'expérience emmagasinée jusqu'alors sur la chimie des coumarines. Plusieurs versions greffables de ces analogues peuvent être imaginées, mais il a été décidé de remplacer l'une des chaînes éthyle du groupement donneur par un espaceur C_1N_3 terminé par un phénol (schéma III.15, en orange).

La thionation du carbonyle en position 2- du squelette de la coumarine, connue pour être à l'origine d'un fort décalage vers le rouge, est généralement effectuée à l'aide du réactif de Lawesson. Des essais préliminaires de synthèse ayant montré la fragilité du thiocarbonyle dans de nombreuses conditions opératoires (haute température, milieu acide, halogénéation...), il a été décidé de l'utiliser en dernière étape de synthèse. En outre, cette stratégie permet d'obtenir des analogues greffables de la DEAC et de la DEATC strictement identiques. Les décapeurs $(C_1N_3)EAC-[Ac]$ et $(C_1N_3)EATC-[Ac]$ ciblés sont présentés sur le schéma III.15.

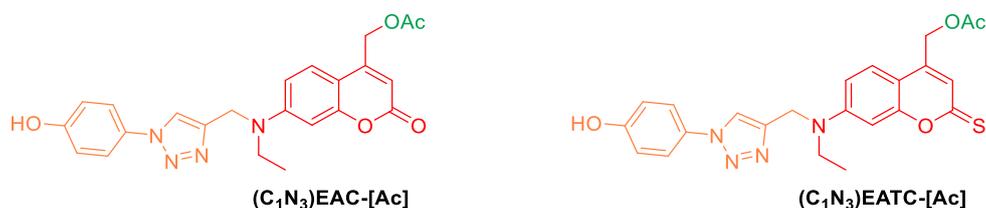


Schéma III.15 : Structure des analogues DEAC et DEATC greffables par un *linker* C_1N_3 .

III.2. Synthèse des modules

Le greffage des sous-unités coumarines *via* la fonction amine en position 7- implique d'utiliser un synthon de départ différent de la 7-diéthylamino-4-méthylcoumarine **114**, et d'adapter la voie de synthèse en conséquence. Bien que la 7-amino-4-méthylcoumarine soit disponible commercialement, une voie de synthèse différente inspirée des travaux de Cürten *et al.*^[154] a été préférée ici. La formation du squelette de la coumarine est alors réalisée par condensation de Pechmann.

La réaction de Pechmann, correspondant à la condensation d'un phénol avec un β -cétoester en milieu acide, est l'une des deux principales méthodes utilisées pour former le squelette des coumarines. De nombreux substituants sont *a priori* tolérés sur toutes les positions des réactifs, ce qui permet d'introduire directement des groupements fonctionnels sur le cycle.

En l'occurrence, le 4-chloroacétoacétate d'éthyle **138** (schéma III.16) est un synthon particulièrement intéressant puisqu'il introduit un groupement chlorométhyle en position 4- de la coumarine ; le chlore pouvant par la suite être substitué pour cager différentes molécules d'intérêt biologique. Cette méthode permet en outre de s'affranchir des étapes d'oxydation allylique et de réduction présentées précédemment.

Des essais préliminaires menés suite aux difficultés de synthèse de la 7-diéthylamino-4-hydroxyméthylcoumarine **139** avaient été effectuées. La condensation du 3-diéthylaminophénol **136** avec le 4-chloroacétoacétate d'éthyle **138** en milieu acide concentré (schéma III.16) n'avait toutefois pas abouti à la formation de la coumarine **139**. La même constatation avait été effectuée avec le 3-aminophénol **137**, ou en remplaçant l'acide de Brönsted (conditions A) par un acide de Lewis (Conditions B & C).



Schéma III.16 : Tentative de synthèse d'aminocoumarines par condensation de Pechmann.

Malgré un certain nombre de références bibliographiques, la réaction n'a pas pu être menée à bien sur les aminophénols **136** et **137**. À ce titre, les travaux de Cürten *et al.* indiquent effectivement que la seule alternative synthétique est de protéger au préalable l'amine **137** avec un groupement carbamate pour obtenir le composé **141** (schéma III.17), de façon à éviter l'oxydation du produit pendant la cyclisation. En reproduisant cette voie de synthèse, le produit de cyclisation **142** a finalement pu être obtenu sur une échelle de plusieurs grammes, avec un très bon rendement après recristallisation.

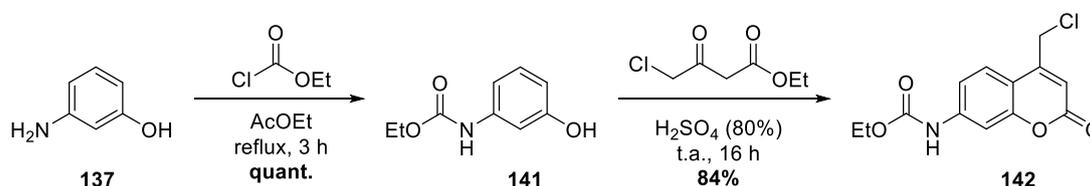


Schéma III.17 : Synthèse de l'aminocoumarine protégée **142** par condensation de Pechmann entre le 4-chloroacétoacétate d'éthyle et le carbamate **141**.

L'amine est ensuite déprotégée en milieu acide fort (schéma III.18) pour obtenir l'intermédiaire clé **143** désiré. L'obtention de ce composé permet alors d'envisager la désymétrisation nécessaire au greffage de la coumarine *via* l'azote. Pour des raisons de

réactivité et de comptabilités chimiques, nous avons choisi de substituer à cet instant le chlore par de l'acétate de potassium, comme dans les travaux de Cürten *et al.* En suivant le protocole indiqué, le décageur **144** est obtenu avec un rendement quantitatif. Il faut noter que cette séquence de quatre étapes à partir du 3-aminophénol commercial **137** s'avère très robuste et ne nécessite que des purifications par lavages et recristallisations, ce qui permet d'obtenir des quantités importantes du composé **144**.

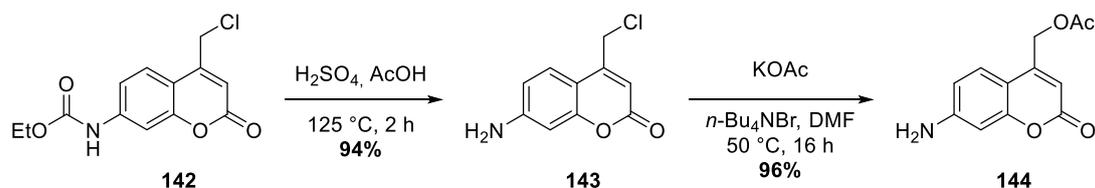


Schéma III.18 : Déprotection de la coumarine **142** et synthèse du décageur **144**.

L'introduction d'une unique chaîne éthyle sur l'azote est ensuite réalisée par amination réductrice (schéma III.19). La réaction a lieu en présence d'un large excès d'acétaldéhyde, très volatil, ce qui n'empêche pas de former quasi-exclusivement le composé monoalkylé **145**. Une réaction d'alkylation avec du bromure de propargyle en milieu basique permet ensuite de fonctionnaliser l'amine secondaire. Le composé acétylénique **146** est obtenu avec un rendement de 67% après chromatographie sur gel de silice.

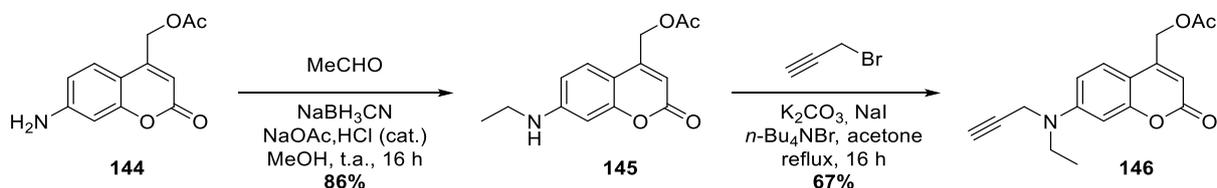


Schéma III.19 : Fonctionnalisation de l'azote en position 7- du décageur **146** par amination réductrice et propargylation.

L'introduction de la fonction phénol greffable est réalisée par cycloaddition de Huisgen entre l'alcyne **146** et un azoture. Pour cela, le 4-azidophénol **148** est préalablement synthétisé par réaction de Sandmeyer sur le composé commercial **147** (schéma III.20). La substitution du diazonium intermédiaire par l'azoture de sodium entraîne la formation du composé souhaité avec un excellent rendement après purification. Cet azoture est alors additionné sur le composé **146** en présence de sulfate de cuivre et d'ascorbate de sodium. Le premier dérivé coumarine ciblé (C₁N₃)EAC-[Ac] est isolé avec un rendement de 66% après purification.

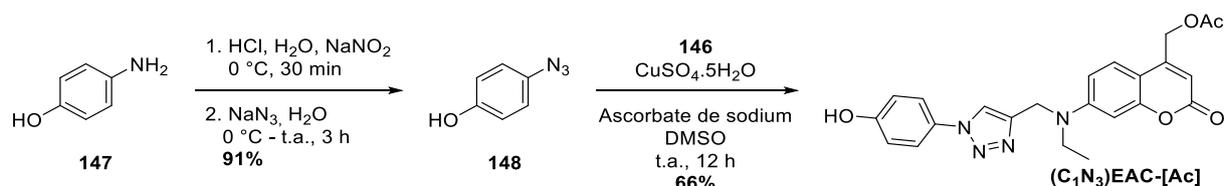


Schéma III.20 : Synthèse de l'azidophénol 148 par réaction de Sandmeyer, et réaction click consécutive sur l'alcyne 146.

Pour compléter l'étude avec une sous-unité possédant une absorption décalée vers le rouge, la coumarine (C₁N₃)EAC-[Ac] a été transformée consécutivement en analogue thiocoumarine (C₁N₃)EATC-[Ac]. Le réactif de Lawesson utilisé pour cette transformation est particulièrement adapté aux coumarines puisqu'il permet la thionation sélective des lactones en thionolactones en présence d'esters non cycliques.^[242] Par ailleurs, si d'autres fonctions chimiques comme les amides sont efficacement transformés par le réactif de Lawesson, peu d'exemples sont décrits sur des fonctions alcool et le mécanisme de la réaction ne permet pas la transformation des phénols en thiophénols. Sur cette base, nous avons tout d'abord synthétisé la cage DEATC-[Ac] de référence selon le protocole décrit par Jullien et coll.^[168] La thiocoumarine est effectivement obtenue avec un très bon rendement après purification sur gel de silice (schéma III.21). Le protocole a ensuite été adapté directement au substrat greffable (C₁N₃)EATC-[Ac], en gardant la fonction phénol libre. Malgré une chute du rendement et la présence de nombreux sous-produits, le composé (C₁N₃)EATC-[Ac] est tout de même isolé avec un rendement de 50%. Le succès de cette réaction nous permet d'obtenir les deux analogues (C₁N₃)EAC-[Ac] et (C₁N₃)EATC-[Ac].

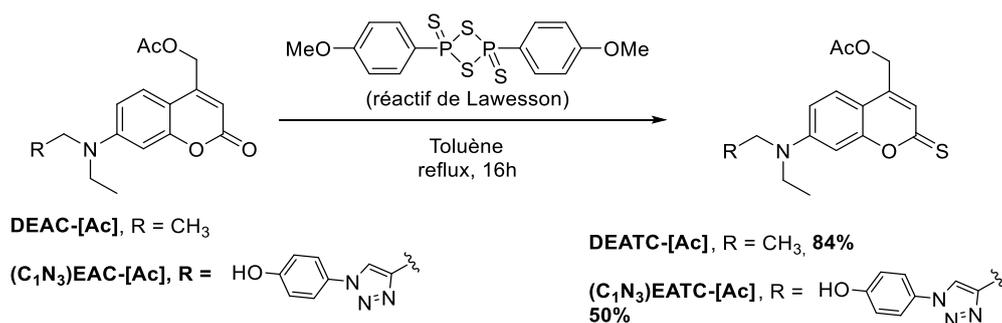


Schéma III.21 : Synthèse de décapeurs thiocoumarines par thionation au réactif de Lawesson.

III.3. Tentative d'assemblage des modules

Les réactions d'assemblages des sous-unités sur les plateformes P₁ et P₃ présentées dans le paragraphe II.3 ont à nouveau été réalisées sur le module C₁N₃-EAC-[Ac] (schéma III.22), en postulant que le triazole, légèrement électrodonneur, permettrait d'augmenter la nucléophilie du phénol.

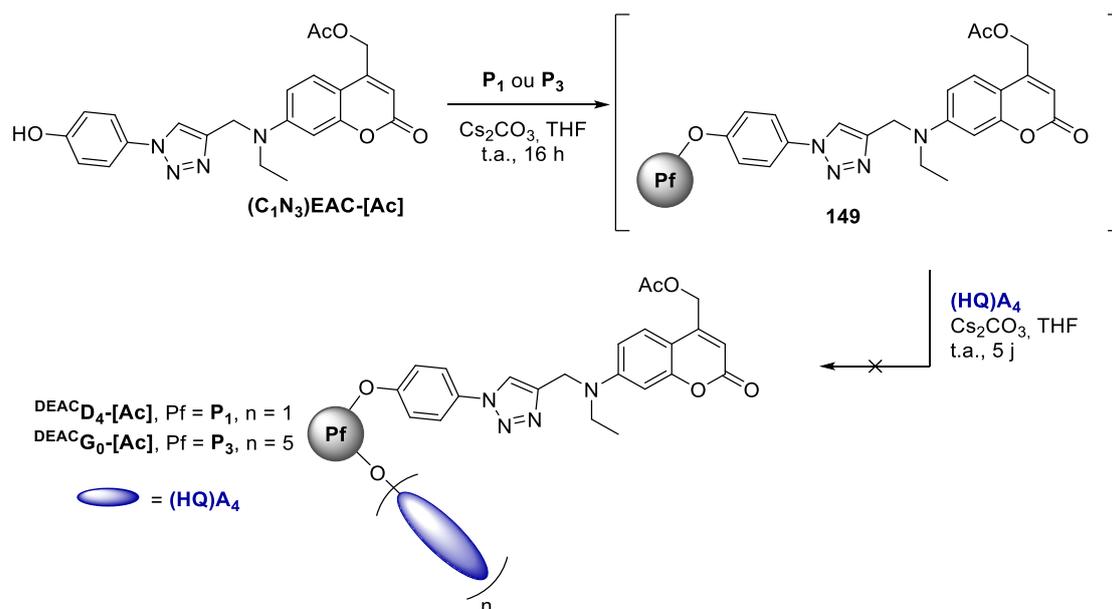


Schéma III.22 : Tentative d'assemblage des modules $(C_1N_3)EAC-[Ac]$ et $(HQ)A_4$ par substitution séquentielle des plateformes P_1 et P_3 .

Comme dans le cas de la DEAC450, et contrairement à son précurseur **146**, le module $(C_1N_3)EAC-[Ac]$ est peu soluble dans le THF. La présence de l'espaceur C_1N_3 est potentiellement une source de polarité et surtout de π -stacking diminuant la solubilité dans le milieu. La réaction de substitution sur les plateformes P_1 et P_3 s'effectue là aussi aléatoirement et difficilement. Dans le cas de P_1 comme de P_3 , le produit intermédiaire a pu être détecté ponctuellement par CCM après plusieurs jours à température ambiante, cependant l'ajout du quadrupôle greffable $(HQ)A_4$ dans le milieu n'aboutit pas à la formation de la structure coopérative souhaitée, celui-ci n'étant pas consommé après plusieurs jours de réaction. Ni le chauffage du milieu réactionnel, ni même l'ajout d'une base plus forte telle que l'hydrure de sodium, censée faciliter la formation de l'anion phénolate, n'ont eu un effet positif sur la réaction.

Les multiples échecs enregistrés sur les plateformes phosphorées P_1 et P_3 fonctionnalisables par substitution nucléophile nous ont finalement conduits à abandonner cette approche. Tour à tour, les problèmes de solubilité ont été réglés avec le module décageur $(Ty)DEAC450-[GluBoc]$, puis un espaceur potentiellement plus nucléophile a été utilisé dans le composé $(C_1N_3)EAC-[Ac]$. Malgré cela, aucune tendance rationnelle n'a malheureusement pu être clairement dégagée des réactions réalisées. D'autres réactions et fonctions de greffage ont alors été investiguées pour palier à l'incompatibilité chimique mise en évidence ici.

IV. Modification de la fonction de greffage et structures synergiques alternatives

Pour parvenir à synthétiser un système coopératif à base de décageurs de la famille des coumarines, l'étude a été étendue à d'autres techniques de greffage. Dans un premier temps, la plateforme PDC **P₂** a été à nouveau considérée.

Compte tenu que la réaction de cycloaddition entre un alcyne et un azoture a été menée à bien avec succès pour former un le dérivé triazole (**C₁N₃**)EAC-[Ac] dans le paragraphe précédent, nous avons postulé qu'elle pourrait être mise à profit comme méthode de greffage. Le quadrupôle (**N₃**)A₄ ayant déjà été clické sur la plateforme **P₂**, nous avons souhaité développer un analogue de la DEAC450 possédant une fonction azoture pouvant réagir avec l'intermédiaire **111** décrit dans le chapitre II.

IV.1. DEAC450 greffable par une fonction azoture

Pour introduire la fonction azoture, le couplage peptidique décrit pour la synthèse de (**PEG**)DEAC450 a d'abord été reproduit (schéma III.23). La réaction de couplage est réalisée à partir de l'intermédiaire **126** préalablement déprotégé par traitement acide, et de l'amino-PEG commercial **150** en présence d'un agent de couplage. Comme dans le cas de la tyramine, la disparition du produit de départ n'est pas observée, même en chauffant le mélange réactionnel à reflux et en présence de DMAP catalytique. Une fois encore la réplique de la voie de synthèse linéaire rapportée s'avère pour nous infructueuse, ce qui, pour l'introduction d'une fonction chimique relativement sensible telle qu'un azoture, complique sensiblement l'approche synthétique.

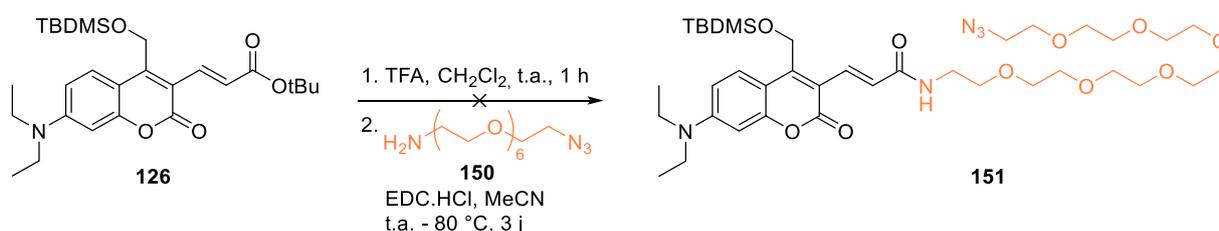


Schéma III.23 : Tentative de synthèse du module (PEG)DEAC450 selon les conditions décrites par Ellis-Davies *et al.*,^[163]

La voie de synthèse convergente mise au point dans le paragraphe II ayant porté ses fruits, nous avons cherché une alternative semblable. Cependant, compte tenu des conditions dures employées lors de la réaction de Heck, il semblait délicat d'introduire l'azoture sur le synthon acrylamide avant le couplage. Nous avons donc considéré la possibilité de synthétiser

une coumarine étendue en position 3- comportant une fonction aniline, qui serait substituée en dernière étape par réaction de Sandmeyer.

Dans cette optique, l'espaceur acrylamide **153** a été synthétisé à partir de l'aniline protégée **152** et du chlorure d'acryloyle (schéma III.24) selon la méthode présentée précédemment. Le synthon vinylique est obtenu aisément et avec un rendement quantitatif sans purification nécessaire. Ce dernier est alors couplé dans les conditions de Jeffery avec l'alcool **125**. Le protocole optimisé permet là aussi d'obtenir le produit **154** désiré très proprement

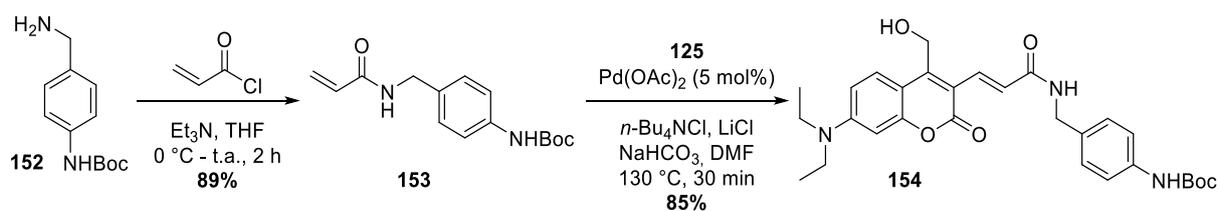


Schéma III.24 : Synthèse d'une coumarine étendue en position 3- par un espaceur contenant une fonction amine protégée.

Le composé **154** est ensuite déprotégé par ajout d'une solution de TFA dans le dichlorométhane suivi d'un traitement basique (schéma III.25). La réaction de Sandmeyer consécutive a été effectuée en conditions aqueuses et organiques.^[243] Dans le premier cas, malgré la mauvaise solubilité en solvant aqueux, la dégradation du réactif est rapidement observée ; hypothèse supportée par l'absence de composés fluorescents sur plaque CCM. La formation du sel de diazonium par ajout de *tert*-butyl nitrite dans l'acétonitrile se fait très lentement, et un mélange complexe de produits est observé après plusieurs jours à reflux. Cette voie n'a donc pas été poursuivie.

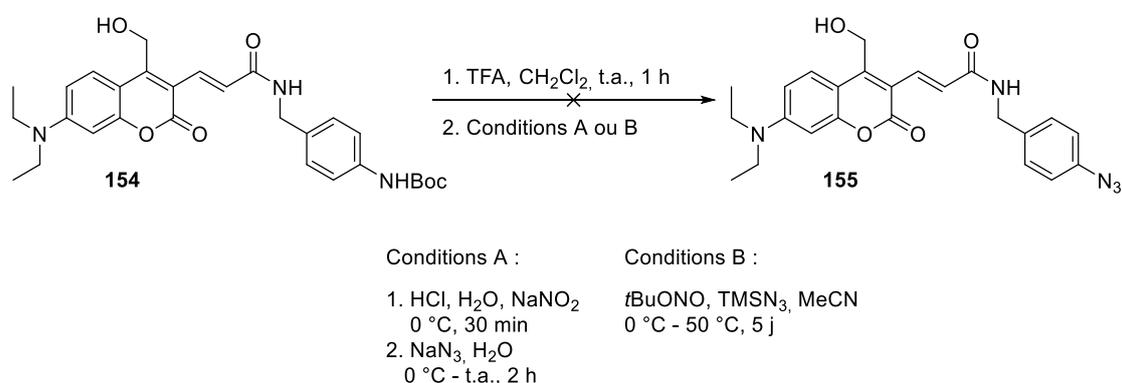


Schéma III.25 : Tentative de synthèse d'un décapeur DEAC450 greffable *via* fonction azoture par réaction de Sandmeyer en milieu aqueux et organique.

Finalement, nous avons souhaité évaluer la résistance de la fonction azoture en conditions de Jeffery. Aussi, nous avons synthétisé par réaction de Sandmeyer l'azoture aromatique **157**, qui est ensuite transformé en acrylamide par réaction avec le chlorure d'acryloyle (schéma III.26) avec un excellent rendement sur les deux étapes.

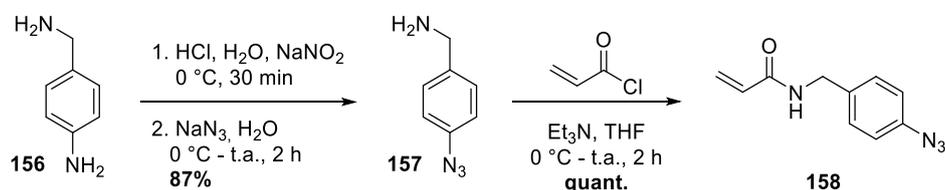


Schéma III.26 : Synthèse d'un espaceur acrylamide contenant une fonction azoture greffable.

Un suivi CCM régulier est effectué lors du couplage de Heck entre l'alcool **125** et l'azoture **158**. Celui-ci montre initialement la formation d'un produit majoritaire. Cependant, de façon à atteindre une conversion totale de **125**, le chauffage est maintenu pendant 1 h 30. Au cours de cette période, la fluorescence de la tâche initialement observée diminue au profit d'au moins deux sous-produits. La séparation du mélange sur colonne de silice n'a pas permis d'isoler le produit **159** pur. Il a cependant été identifié par analyse RMN ^1H , IR et MS dans la fraction identifiée initialement en très faible quantité, ce qui confirme qu'il se dégrade dans les conditions opératoires utilisées.

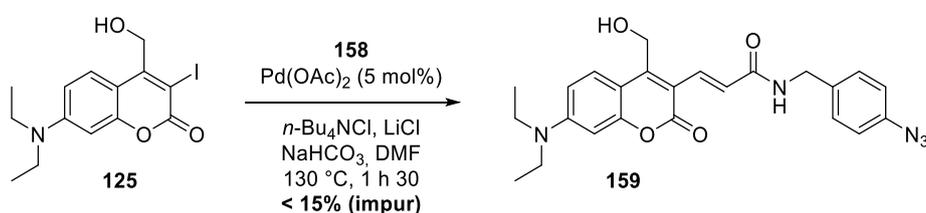


Schéma III.27 : Couplage de Heck dans les conditions de Jeffery entre la coumarine **125** et l'azoture **158**.

La réaction n'a pas été reproduite, et il a été décidé de s'affranchir du triazole pour fonctionnaliser directement un dérivé de la plateforme PDC **P2** par liaison peptidique.

IV.2. DEAC450 et quadrupôles greffables par une fonction amine

La fonctionnalisation directe d'une plateforme PDC par liaison amide nécessite la synthèse de sous-unités décageurs et quadrupolaires comportant une amine terminale. Le décageur **154** présenté dans le paragraphe précédent peut faire office de module greffable *via* sa fonction aniline, cependant un analogue aliphatique a également été préparé.

Pour le design de ce nouvel analogue greffable, nous avons choisi d'incorporer un espaceur diéthylène glycol, plus long et flexible, mais apportant aussi potentiellement plus de solubilité que les linkers aromatiques synthétisés jusqu'ici. Dans cette optique, le dérivé acrylamide intermédiaire **161** est synthétisé par réaction entre le chlorure d'acryloyle et la diamine monoprotégée **160** (schéma III.28).^[244] Il est ensuite couplé avec l'intermédiaire iodé **125** pour former **162** avec un très bon rendement. Ce produit présente effectivement une solubilité en solvants organiques supérieure aux analogues synthétisés dans les paragraphes précédents.

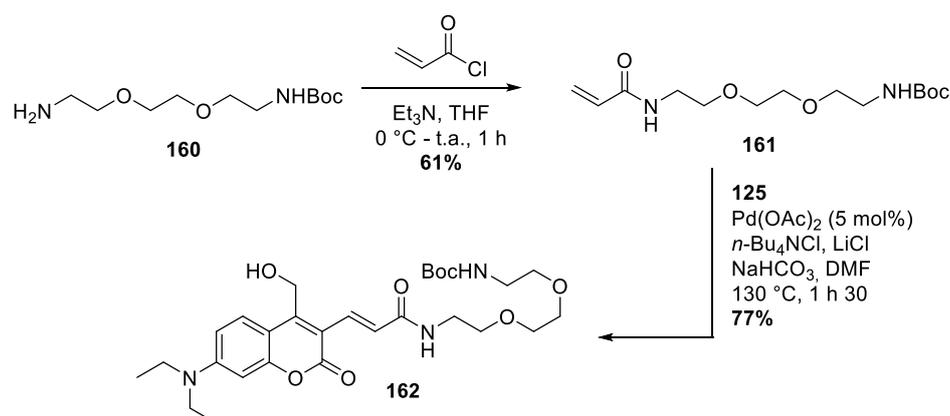


Schéma III.28 : Synthèse d'une coumarine étendue en position 3- par un espaceur greffable par une fonction amine.

Pour synthétiser le quadrupôle (NH₂)A₄ qui accompagnerait ce module **162**, une réduction de l'azoture (N₃)A₄ en présence de triphénylphosphine a été réalisée (schéma III.29). Bien que la disparition du réactif de départ soit observée, un mélange complexe de nombreux produits est obtenu. Le produit attendu est détecté avec une intensité relative de moins de 1% en spectrométrie de masse, le composé n'a donc pas été isolé.

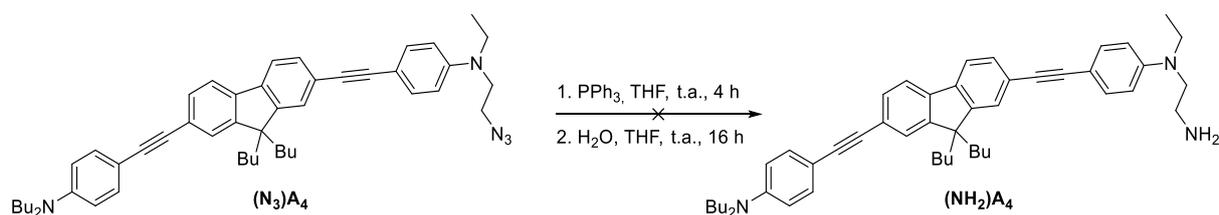


Schéma III.29 : Tentative de synthèse du quadrupôle (NH₂)A₄ par réduction de la fonction azoture de (N₃)A₄.

Finalement, un système « hybride » dissymétrique comportant un décageur greffé par liaison amide et le quadrupôle A₄ relié par l'intermédiaire d'un triazole pourrait être envisagé. Ces options ont toutefois été laissées de côté au profit d'une autre alternative développée en parallèle.

IV.3. DEAC450 greffable par fonction aldéhyde et triades coopératives

Les multiples difficultés rencontrées lors de l'élaboration des systèmes coopératifs à base de coumarines sont de trois ordres :

- (i) Des problèmes de solubilité liés à la très importante polarité des systèmes étendus en position 3-, notamment avec l'alcool libre.
- (ii) Un manque de réactivité, ou une incompatibilité chimique lors des réactions de substitution sur le phosphore.
- (iii) Des difficultés de synthèse liées à l'introduction de fonctions sensibles sur les modules (azotures).

Le bilan de ces obstacles permet de tirer quelques enseignements pour la stratégie à adopter. Tout d'abord, les problèmes de solubilité peuvent être résolus par l'introduction de la molécule cagée sur la position 4-, qui diminue sensiblement la polarité des composés. Il est donc préférable de réaliser la combinaison des modules en salle noire avec le module décageur complet. En outre, il fallait s'orienter vers une fonction de greffage pouvant supporter les conditions de Jeffery lors de la voie de synthèse convergente, idéalement sans introduire de groupements protecteurs alourdissant la synthèse, et ne présentant aucune incompatibilité chimique avec les groupements fonctionnels présents sur la coumarine que ce soit durant la synthèse ou pendant la réaction de greffage. Sur ce point en particulier, la fonction aldéhyde, orthogonale de tous les groupements impliqués dans la voie de synthèse optimisée, semblait être la fonction idoine.

La fonction aldéhyde possède un rôle clé dans la croissance des dendrimères phosphorés.^[245-248] Dans ces structures branchées, l'augmentation du degré de ramification est en effet classiquement réalisée par condensation de l'hydrazine **MMH-PSCl₂** sur les aldéhydes présents en surface du dendrimère. L'hydrazone formée possède alors deux bras fonctionnalisables qui permettent de passer à la génération de dendrimère supérieure.

À l'image de travaux réalisés récemment au laboratoire,^[71] cette condensation, propre et peu sensible à l'encombrement stérique, peut être mise à profit pour connecter un module accepteur d'énergie à deux antennes donneuses par l'intermédiaire du motif **MMH-PSCl₂**. Les structures coopératives envisagées ne sont donc plus des « dyades » (un accepteur pour une antenne), mais de la famille des « triades » (un accepteur pour deux antennes). L'objectif est ici

de remplacer le *p*-méthoxybenzaldéhyde (**87**) présent dans le schéma de synthèse II.4 par un décageur de la famille de la DEAC450. La structure cible qui découle de ces considérations est présentée en schéma III.30.

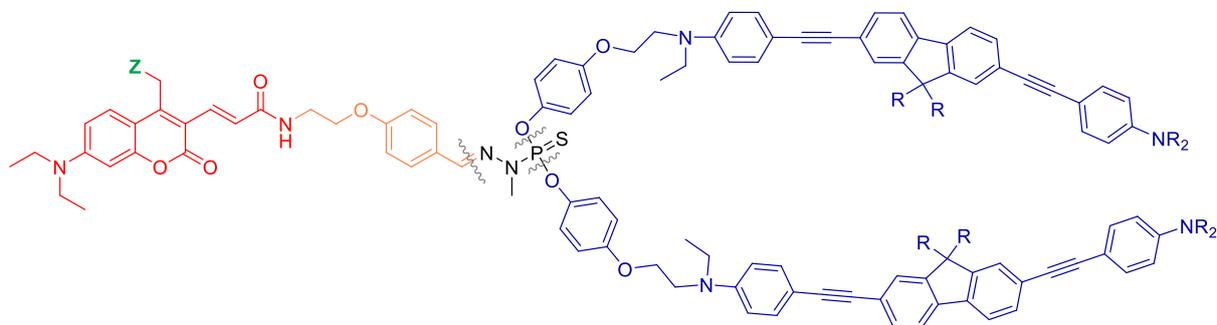


Schéma III.30 : Structure de la triade coopérative alternative imaginée, et déconnexions mises en jeu entre les modules.

IV.3.1. Synthèse d'un module DEAC450 greffable par une fonction aldéhyde

La synthèse du module décageur greffable présenté sur le schéma précédent s'effectue selon la voie de synthèse convergente optimisée. Le synthon acrylamide correspondant est alors synthétisé au préalable, en deux étapes à partir du 4-méthoxybenzaldéhyde commercial.

La première étape consiste à alkyler la fonction phénol du composé **163** par l'halogénure **164** (schéma III.31). Le groupement protecteur Boc est nécessaire pour éviter les réactions parasites d'oligomérisation du composé **164**. Dans ces conditions, le produit alkylé **165** est obtenu avec un excellent rendement sans purification.

La formation de la liaison amide est, comme précédemment envisagée par addition de chlorure d'acryloyle. Cette réaction nécessite cependant la déprotection du groupement Boc. Pour éviter une étape de synthèse supplémentaire, le chlorure d'acide peut être doublement mis à profit pour causer lui-même l'ablation du groupement protecteur, avant de réagir avec l'amine libre formée *in situ*. Cette séquence est permise par l'ajout préalable d'iodure de sodium et de méthanol, causant la formation d'acide iodhydrique dans le milieu réactionnel.^[249] Grâce à ce protocole, l'acrylamide **166** est obtenu avec un rendement de 84% après trituration du solide dans un solvant de lavage.

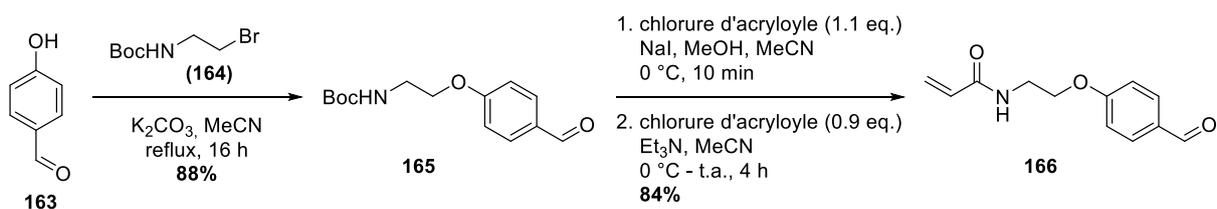


Schéma III.31 : Synthèse de l'espaceur acrylamide **166** contenant un motif benzaldéhyde.

L'obtention de l'espaceur acrylamide **166** permet la mise en œuvre du couplage Heck en conditions de Jeffery. Celui-ci est effectué sur la 3-iodocoumarine **125** sans groupement protecteur silylé (schéma III.32). Le produit de couplage croisé est obtenu de façon très propre, ce qui permet une fois de plus de s'affranchir de chromatographie sur gel de silice et d'enregistrer un rendement quasi-quantitatif. L'intermédiaire clé **167** est finalement acétylé selon la procédure utilisée dans ce chapitre. Le décageur (CHO)DEAC450-[Ac] est finalement chromatographié sur cette dernière étape de synthèse avant assemblage, et obtenu avec un rendement de 80%.

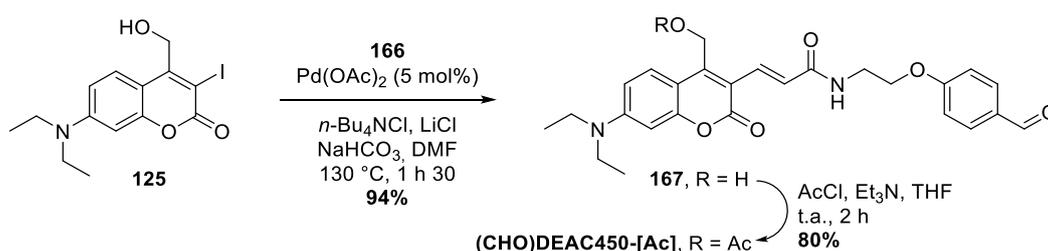


Schéma III.32 : Synthèse du décageur (CHO)-DEAC450-[Ac] greffable *via* une fonction aldéhyde.

IV.3.2. Assemblage des modules

L'assemblage de la triade $^{450}\text{T}_4$ ciblée est réalisé en deux étapes (schéma III.33). La MMH-PSCl₂ est d'abord condensée sur l'aldéhyde (CHO)DEAC450-[Ac] en salle noire. La solubilité du module (CHO)DEAC450-[Ac] dans le milieu réactionnel étant cette fois optimale, la réaction procède cette fois sans accroc. Le contrôle de l'avancement est mené à la fois par CCM et par RMN ³¹P. La disparition de l'hydrazine, dont le déplacement chimique est rapporté à 70 ppm, est totale, alors que l'apparition de l'hydrazone **168** est observée très nettement et sans sous-produits à 64 ppm. Le produit intermédiaire peut être isolé par précipitation et caractérisé (cf. annexe expérimentale), puis une double substitution du chlorure de phosphothionyle est réalisée par deux équivalents de la même antenne (HQ)A₄, en présence de carbonate de césium.

Pour faciliter la double fonctionnalisation par les quadropôles très encombrés, la réaction est chauffée légèrement au-dessus de la température ambiante. La purification par chromatographie permet d'isoler deux fractions correspondant aux produits mono- et disubstitué. Ce dernier, est finalement obtenu avec un rendement de 49% et caractérisé par RMN et spectrométrie MALDI.

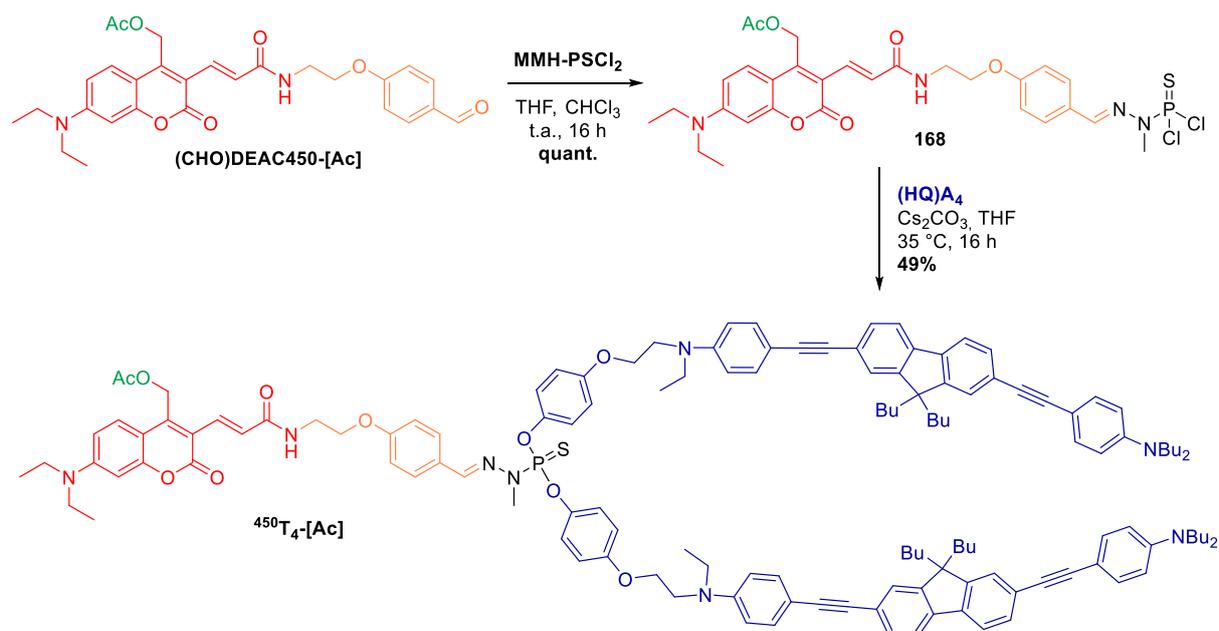


Schéma III.33 : Synthèse de la triade $^{450}\text{T}_4\text{-[Ac]}$ par formation de l'hydrazone **168** suivie d'une double substitution nucléophile.

Cette méthode d'assemblage est la seule ayant donné des résultats probants jusqu'alors. Elle ne permet pas une comparaison directe avec les dyades présentées dans le chapitre II, mais la présence de deux antennes devrait sensiblement améliorer les propriétés de photolibération par excitation biphotonique du composé. Les propriétés photophysiques et photochimiques de ce tout premier système synergique basé sur un décageur de la famille des coumarines ont alors été étudiées, et comparées à celles des modules isolés.

V. Études photophysiques et photolyses des triades coopératives

Les propriétés optiques de la triade $^{450}\text{T}_4$ ont ici été mesurées dans le dichlorométhane, pour s'affranchir des phénomènes de photo-oxydation inhérents au chloroforme. Contrairement au cas des dyades du chapitre II, dont les décageurs absorbaient dans l'UV, on peut s'attendre dans le cas du composé $^{450}\text{T}_4$ à deux bandes d'absorption correspondant à l'excitation de l'antenne (dans l'UV), ou à l'excitation directe du module décageur (dans le bleu). Aussi, dans cette étude seront considérés quatre composés : la triade $^{450}\text{T}_4$, sa sous-unité quadrupolaire $(\text{HQ})\text{A}_4$, et deux références de la famille des coumarines acétylées : $(\text{Asp})\text{DEAC450-[Ac]}$, et DEAC-[Ac] . Cette dernière permettra de réaliser une expérience de photolyse comparative à 365 nm, dans la gamme d'excitation de l'antenne quadrupolaire.

V.1. Propriétés d'absorption et d'émission

Les propriétés d'absorption à un photon de la triade $^{450}\text{T}_4$ et des sous-unités et références considérées ont été mesurées dans le dichlorométhane. Les résultats sont rassemblés dans le tableau III.3.

Tableau III.3. Propriétés optiques à un photon de la triade, et des sous-unités considérées dans CH_2Cl_2 .

| Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | ϵ^{max} [$\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$] | ϵ^{365} [$\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$] | ϵ^{455} [$\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$] | $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ [nm] | $\Phi_{\text{f}}^{\text{[a]}}$ |
|--------------------------|---|---|--|--|--|--------------------------------|
| DEAC-[Ac] | 379 | $1.9 \cdot 10^4$ | $1.7 \cdot 10^4$ | - | 450 | 0.77 |
| Asp-DEAC450-[Ac] | 438 | $2.5 \cdot 10^4$ | - | $2.2 \cdot 10^4$ | 499 | 0.83 |
| (HQ)-A ₄ | 387 | $8.5 \cdot 10^4$ | $6.0 \cdot 10^4$ | - | 459 | 0.89 |
| $^{450}\text{T}_4$ -[Ac] | 388 | $12.6 \cdot 10^4$ | $8.7 \cdot 10^4$ | - | 500 | 0.41 |
| | 438 | $3.1 \cdot 10^4$ | - | $2.6 \cdot 10^4$ | - | - |

^[a] Rendement quantique de fluorescence, standard : FLSCN dans NaOH 0.1 M ($\Phi_{\text{f}} = 0.90$).

Les propriétés optiques de la DEAC montrent une bande d'absorption localisée à 379 nm, ce qui permet son utilisation en tant que référence pour une photolyse à 365 nm. Le composé reste très émissif dans le dichlorométhane avec un rendement quantique de 77%. L'extension du système π -conjugué en position 3- dans la DEAC450 provoque un décalage bathochrome significatif de la bande d'absorption par rapport à la DEAC, accompagné d'un effet hyperchrome modéré. Le maximum d'absorption est localisé à 438 nm dans le dichlorométhane, un solvant moins polaire que le milieu de photolyse rapporté par Ellis-Davies et coll.^[162] Là encore, dans notre solvant d'étude, le décageur DEAC450 garde une forte émission localisée dans le vert, très caractéristique de cette classe de composés. Les propriétés optiques du quadrupôle A₄ sont quant à elles essentiellement semblables à celles rapportées par ailleurs (cf. chapitre II),^[233] avec toutefois un rendement quantique de fluorescence supérieur dans le dichlorométhane.

V.1.1. Effets coopératifs sur l'absorption à un photon

Comme anticipé, les propriétés d'absorption de la triade $^{450}\text{T}_4$ mettent en évidence deux bandes d'absorption, localisées aux maxima d'absorption des deux modules A₄ et DEAC450 utilisés (figure III.2). Toutefois, comme dans le cas des dyades, des effets d'interaction intramoléculaires et intermodulaires sont mis en évidence. La superposition du spectre d'absorption de $^{450}\text{T}_4$ avec le spectre d'absorption des modules additionnés montre ainsi une différence significative, et un ϵ^{max} inférieur de 27% à ce qu'il devrait être. L'intensité de la

bande d'absorption du module DEAC450 à 440 nm est, elle, très légèrement supérieure à la valeur additive.

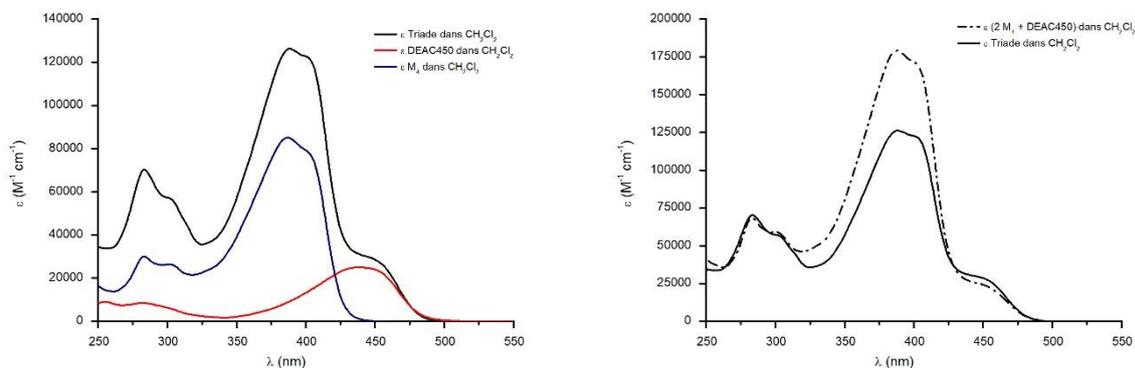


Figure III.2 : Superposition des spectres d'absorption de la triade et de ses modules constitutifs isolés (à gauche) ; de la triade et de l'addition des modules (à droite) dans CH_2Cl_2 .

V.1.2. Extinction de fluorescence et transfert d'énergie

Les mesures des propriétés optiques des sous-unités isolées ont tout d'abord permis de confirmer un excellent recouvrement entre la courbe d'absorption de la DEAC450 dont la bande de plus basse énergie est centrée à 438 nm, et l'émission de **A₄** qui s'étend jusqu'à 600 nm (figure III.3).

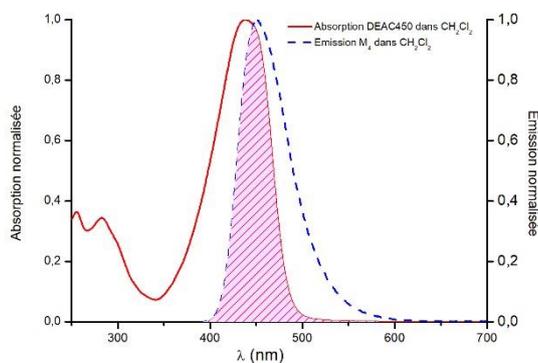


Figure III.3 : Recouvrement entre les spectres d'émission du donneur quadropolaire et de l'accepteur décageur dans CH_2Cl_2

Par traitement des données photophysiques, il est possible de déterminer l'intégrale du recouvrement spectral $\int_0^{\infty} F_{\lambda}(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda$, et par conséquent le rayon de Förster R_0 dont l'expression est donnée dans l'équation I.33. Ainsi, avec un rendement quantique de fluorescence de 89% pour **A₄** isolé dans le dichlorométhane ($n = 1.424$), et en faisant l'approximation d'une orientation aléatoire des modules dans l'espace ($\kappa^2 = 2/3$), le rayon de

Förster de notre système synergique est évalué à 30 Å. Cette valeur est dans la plage inférieure de l'intervalle de 10 à 100 Å attendu pour le phénomène de FRET. Elle indique donc que, le cas échéant, 50% d'énergie sera transférée de **A4** à la DEAC450 lorsque les modules seront espacés de 30 nm. Elle pourrait cependant être fortement altérée si les sous-unités adoptaient une conformation privilégiée dans l'espace, ce qui modifierait le facteur d'orientation κ^2 .

Pour mettre en évidence concrètement ce transfert d'énergie, les propriétés d'émission des composés en solution dans le dichlorométhane ont été étudiées. Comme illustré dans le tableau III.3, celles-ci mettent clairement en évidence un phénomène d'interaction entre les modules. En effet, le maximum d'émission de la triade $^{450}\text{T}_4$ est localisé à 500 nm, ce qui correspond à l'émission verte de la DEAC450. De façon encore plus évidente, la superposition des courbes d'émission normalisées des trois composés **A4**, **(Asp)DEAC450-[Ac]**, et $^{450}\text{T}_4$ -**[Ac]** montre une extinction presque totale de l'émission des antennes à 459 nm (figure III.4, a)). Seul un léger épaulement est mis en évidence à cette longueur d'onde dans la courbe d'émission de la triade. En revanche, la correspondance entre les émissions de la triade $^{450}\text{T}_4$ et de son module décageur DEAC450 est parfaite, traduisant ainsi que l'énergie est bien transférée à la DEAC450 qui émet à son tour.

Pour confirmer cette tendance, des cartes tridimensionnelles représentant l'intensité d'émission en fonction de la longueur d'onde d'excitation ont été réalisées.

Sur ces spectres (représentés en coupe), l'intensité maximale d'émission de l'antenne **A4** (figure III.4, b)) est représentée par la tâche rouge centrée à 459 nm, observée pour une excitation entre 360 et 430 nm. De la même façon, le spectre 3D de la DEAC450 (figure III.4, c)) montre une émission dans le vert, lorsque la longueur d'onde d'excitation atteint 450 nm. Finalement, le carte de la triade (figure III.4, d)) affiche bien une tâche d'émission centrée à 500 nm, correspondant à la DEAC450, mais pour une longueur d'onde d'excitation identique à celle du module **A4**. Sur cette même coupe, la trace bleue verticale, s'étendant au-delà de 450 nm en excitation, montre qu'il est aussi possible d'exciter directement la sous-unité DEAC450. L'intensité d'émission est cependant bien moindre, ce qui confirme l'effet bénéfique des deux antennes pour capter l'énergie lumineuse.

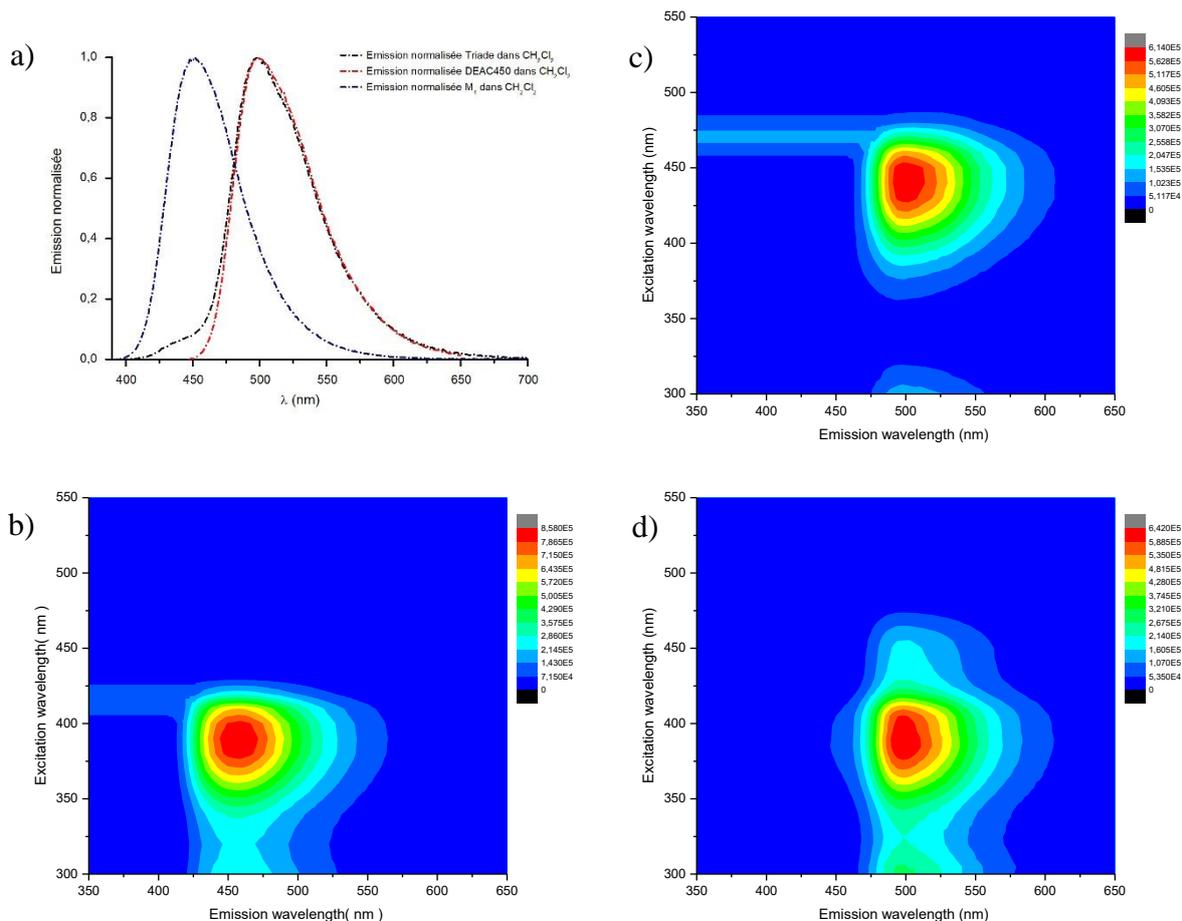


Figure III.4 : a) Superposition des spectres d'émission de la triade (en noir), de la DEAC450 (en rouge) et du quadrupôle A_4 (en bleu) dans CH_2Cl_2 . b) Carte bidimensionnelle d'excitation/émission de l'antenne A_4 ; c) de la DEAC450 ; d) de la triade dans CH_2Cl_2 .

Le transfert d'énergie inter-modulaire étant confirmé, nous avons tenté d'en estimer son efficacité par le calcul d'un rendement de FRET Φ_{FRET} . Ce dernier est déterminé à partir des rendements quantiques de fluorescence du donneur quadrupolaire isolé en solution ($\Phi_{D0} = 89\%$), et en présence de l'accepteur (Φ_D). Pour déterminer cette valeur, il faut effectuer un traitement de la courbe d'émission de la triade $^{450}\text{T}_4$ par déconvolution, et reconstituer la courbe de l'épaule localisé à 459 nm (figure III.5). Il est alors possible d'estimer le rendement quantique de l'émission résiduelle du quadrupôle, et évaluer le rendement de FRET qui est alors défini tel que :

$$\Phi_{\text{FRET}} = 1 - \frac{\Phi_D}{\Phi_{D0}} \quad (\text{Eq. III.1})$$

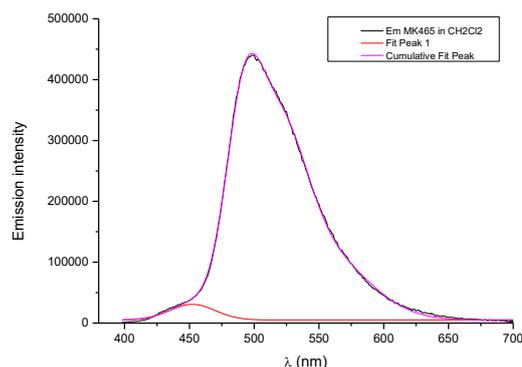


Figure III.5 : Spectre d'émission de la triade dans CH_2Cl_2 (en noir) superposé au spectre déconvolué total (en rose) et à la contribution correspondant à l'émission de A_4 (en rouge).

Il ressort de ce traitement que le rendement quantique d'émission du donneur A_4 en présence du module décapeur chute de 89% à seulement 4%. Ceci démontre un phénomène de transfert d'énergie presque total, dont l'efficacité est estimée à $\Phi_{\text{FRET}} = 1 - (0,04 / 0,89) = 96\%$. Ce résultat valide notre démarche et le choix des deux sous-unités. La triade $^{450}\text{T}_4$ est en effet le premier système synergique synthétisé au laboratoire présentant un transfert d'énergie si important. Le transfert d'énergie étant établi, il a ensuite été entrepris d'évaluer l'efficacité de photolibération à un et deux photons en réalisant des photolyses comparatives.

V.2. Propriétés de photolibération par excitation mono- et biphotonique

Les expériences de photolyse comparative par excitation monophotonique ont été menées selon un protocole semblable à celui décrit dans le chapitre II, mais sur un montage d'irradiation différent (cf. annexe expérimentale). Pour exploiter le phénomène de transfert d'énergie inhérent à nos systèmes, l'excitation de la triade $^{450}\text{T}_4$ est réalisée à 365 nm, dans la bande d'absorption du quadripôle A_4 . Une référence de photolyse compatible avec cette longueur d'onde d'excitation doit alors être utilisée pour s'affranchir des paramètres de la source lumineuse. Pour cela, la cinétique de photolibération de la triade sera comparée à la DEAC dont le Φ_u est rapporté dans la littérature. L'acide acétique étant, là aussi, la molécule libérée au cours de l'excitation, le contrôle du taux de conversion ξ est réalisé par RMN ^1H . L'irradiation des échantillons en solution dans le dichlorométhane deutéré, préparés à densité optique constante, est réalisée directement dans le tube RMN en quartz.

Le tracé des droites $\log(1/1-\xi) = f(t)$ a permis de vérifier l'obtention d'une cinétique de premier ordre pour les deux composés $\text{DEAC-}[\text{Ac}]$ et $^{450}\text{T}_4\text{-}[\text{Ac}]$. Comme illustré sur la figure III.6, la cinétique d'apparition de l'acide acétique est largement supérieure dans le cas de la

triade, pour laquelle 70% de conversion sont enregistrés en seulement 2 minutes. Dans le cas de la référence **DEAC-[Ac]**, cette valeur n'est atteinte qu'après 45 minutes. Finalement, le rapport des constantes de vitesses apparentes correspondantes permet d'affirmer que la photosensibilité à un photon de la triade $^{450}\text{T}_4$ est 25 fois supérieure à celle de la DEAC pour la libération d'un acide carboxylique dans le dichlorométhane.

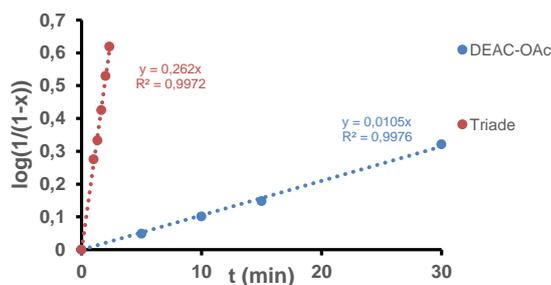


Figure III.6 : Lois de vitesse d'ordre 1 dérivées des expériences de photolyse à 365 nm de DEAC-[Ac] et de $^{450}\text{T}_4$ -[Ac].

Le rapport de ces constantes de vitesse permet alors de déterminer le rapport Q_u/Φ_u^{ref} caractérisant la triade coopérative $^{450}\text{T}_4$, ainsi que ses photosensibilités à un et à deux photons. Les valeurs relatives aux composés étudiés sont rassemblées dans le tableau III.4.

D'après les mesures réalisées, la triade $^{450}\text{T}_4$ -[Ac] possède un rendement quantique de photolibération 4,9 fois supérieur à la référence **DEAC-[Ac]** dans les mêmes conditions d'excitation. En extrapolant cette valeur à une photolyse réalisée en milieu aqueux comme décrit par Hess *et al.* pour la DEAC ($\Phi_u^{\text{ref}} = 12\%$),^[156] le rendement quantique de la triade par mesure relative atteindrait une valeur de 59%. Cet excellent rendement quantique de photolibération, supérieur aux 39% rapportés par Ellis-Davies et coll. pour la DEAC450, traduit pour la première fois une influence positive des interactions mises en jeu dans notre système coopératif sur ce paramètre. La photosensibilité sous excitation monophotonique ϵ_u de la triade est estimée à $62\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ au maximum de sa bande d'absorption.

Tableau III.4. Propriétés d'absorption à deux photons, et de photolibération à un et deux photons de la triade et de ses sous-unités correspondantes dans CH₂Cl₂.

| Composé | Q_u/Φ_u^{ref} | λ_{abs}^{max} [nm] | λ_{2PA}^{max} [nm] | σ_2^{max} [GM] ^[a] | $\epsilon^{max}Q_u$ [M ⁻¹ .cm ⁻¹] ^[b] | δ_u [GM] ^[c] |
|---|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|--|-----------------------------------|
| DEAC-[Ac] | 1 | 379 | 760 | 42 | 2.3 10 ³ | - |
| Asp-DEAC450-[Ac] | - | 438 | 840 | 96 | 9.8 10 ³ | 0.5 ^[d] |
| (HQ)A₄ | - | 387 | 700 | 1030 | - | - |
| ⁴⁵⁰T₄-[Ac] | 4,9 | 388 438 | 700 900 | 1110 83 | 62 10 ³ | 650 |

^[a] Section efficace d'absorption à deux photons à la longueur d'onde λ_{2PA}^{max} dans CH₂Cl₂, dérivée d'expériences de TPEF (1 GM = 10⁻⁵⁰ cm⁴ s⁻¹) ^[b] Photosensibilité sous excitation à un photon, déduite d'expériences de photolyses comparatives à 365 nm en utilisant une valeur de $\Phi_u = 0,12$ pour DEAC-[Ac] ^[c] Photosensibilité sous excitation à deux photons ($\delta_u = \sigma_2^{max}Q_u$) ^[d] Photosensibilité à deux photons en milieu physiologique rapportée dans la référence ^[162].

La cinétique très rapide de l'expérience de photolyse rend les mesures de spectres d'absorption à deux photons de la triade ⁴⁵⁰T₄ par TPEF délicates. Malgré le très faible volume d'excitation induit par l'absorption à deux photons, la réaction de photolibération se produisant au cours de l'excitation par le laser est susceptible de modifier continuellement le rendement quantique de fluorescence du mélange, ce qui empêche une détermination fiable des valeurs de σ_2 déduites de la brillance $\sigma_2\Phi_f$. Le spectre d'absorption à deux photons de la triade ⁴⁵⁰T₄ (figure III.7) est donc donné à titre essentiellement qualitatif. La courbe présente une allure très similaire à celle du quadropôle A₄, avec un maximum d'absorption situé dans la bande de plus haute énergie, fortement autorisée dans les systèmes centrosymétriques. Une seconde bande est observée à 820 nm, correspondant à la transition interdite des modules quadrupolaires, à laquelle s'ajoute la contribution du module DEAC450. Les valeurs de σ_2 mesurées sont toutefois largement inférieures à ce qui serait attendu pour un système à deux antennes, et se rapprochent de la valeur mesurée pour A₄ isolé. Cette observation peut être le résultat de deux phénomènes : une baisse de fluorescence liée à la formation de photoproduits jouant le rôle de quancheurs, ou bien des effets anti-coopératifs sur la 2PA qui atteindraient ici presque 50%.

Les mesures du coefficient d'extinction molaire du composé ⁴⁵⁰T₄ ont mis en évidence des effets coopératifs négatifs abaissant la valeur de ϵ^{max} d'environ 27%. Aussi, si l'on applique ce facteur correctif au σ_2 théorique d'un système à deux antennes (2060 GM), le σ_2^{max} de ⁴⁵⁰T₄ serait de l'ordre de 1500 GM. Compte tenu de cette estimation et des valeurs minorées issues des expériences de TPEF, il semble cohérent d'évaluer le σ_2 de la triade entre 1110 et 1500 GM. Ainsi, grâce à l'efficacité du FRET et à l'augmentation du Φ_u par des interactions

coopératives, le δ_u estimé de notre système coopératif serait compris entre 650 à 880 GM à 700 nm ; une valeur exceptionnelle et largement supérieure aux décageurs rapportés jusqu'à présent.

Des expériences de photolyse comparative par excitation biphotonique ont été menées pour confirmer l'efficacité de nos systèmes par excitation dans le PIR. Pour cela, la triade $^{450}\text{T}_4$ en solution dans le dichlorométhane a été excitée avec une puissance de 1 W dans les deux bandes observées, à 820 puis 700 nm. Le taux de conversion après 4 h d'irradiation a été déterminé par RMN ^1H , et comparé respectivement à celui de (Asp)DEAC450-[Ac] et DEAC-[Ac], photolysées dans des mêmes conditions identiques. La figure III.7, a) confirme la rapidité de la réaction de photolyse pour la triade $^{450}\text{T}_4$ -[Ac] puisque, malgré une excitation localisée uniquement dans le volume focal de la cuvette, les 4 h d'irradiation suffisent à photolyser 49% et 63% du composé, respectivement à 820 et 700 nm. Dans les mêmes conditions d'irradiation, les références atteignent à peine 4% de conversion après 4 h. Cette observation confirme bien que les mesures de TPEF doivent être fortement altérées par la réaction de photolibération et que la valeur de δ_u est probablement supérieure à 650 GM.

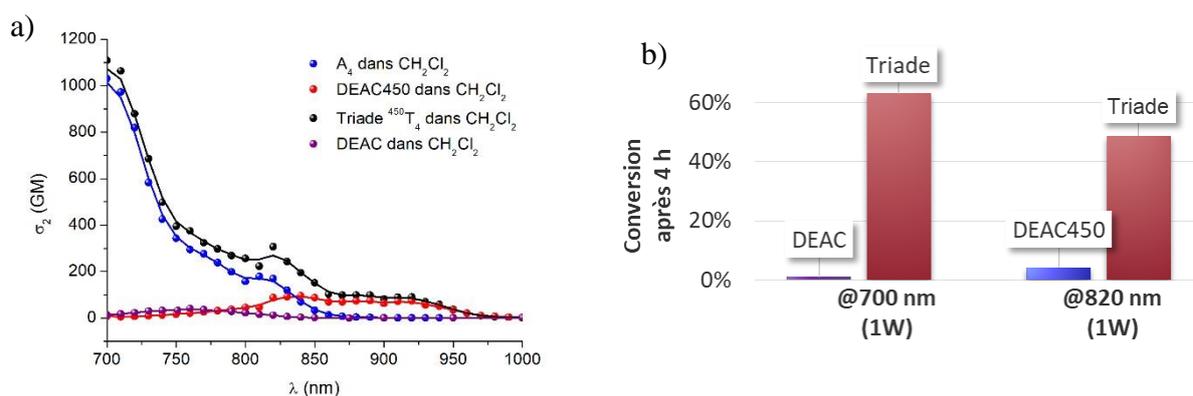


Figure III.7 : a) Spectre d'absorption à deux photons issu d'expériences de TPEF de la triade (bleu), de l'antenne (HQ)A₄ (vert), de la DEAC450 (noir) et de la DEAC (rouge) dans CH₂Cl₂. b) Diagramme comparatif représentant le taux de conversion après 4 h d'irradiation à 820 et 700 nm (1W).

VI. Conclusions

La conception de dyades synergiques à base de modules décageurs de nouvelle génération, possédant une absorption décalée vers le rouge et un rendement quantique de photolibération supérieur à 10%, bien que théoriquement prometteuse, s'est avérée beaucoup plus délicate que prévu. Au-delà des nombreuses difficultés rencontrées sur la majorité des étapes de synthèse, des incompatibilités chimiques entre les modules et la plateforme **P**₁ ont empêché le greffage envisagé initialement, et la formation d'analogues directs aux dyades

${}^{\text{NV}}\text{D}_1$ - ${}^{\text{NV}}\text{D}_4$ et ${}^{\text{NI}}\text{D}_2$ - ${}^{\text{NI}}\text{D}_4$ présentées dans le chapitre II. Malgré la synthèse de modules décageurs alternatifs pouvant potentiellement régler les problèmes de solubilité et d'activation du phénol, la synthèse des cibles n'a pas pu être achevée, et l'échec de double fonctionnalisation de P_1 en dernière étape n'a pas été entièrement rationalisée.

Face aux difficultés de synthèse rencontrées, la recherche d'alternatives a toutefois permis d'acquérir une solide expertise sur les substrats de la famille des coumarines utilisés, et d'aboutir à une voie de synthèse robuste et optimisée sur chaque étape. Celle-ci a permis d'obtenir un panel de décageurs greffables fonctionnalisés par diverses fonctions chimiques (cf. annexe). L'analyse des difficultés nous a poussés à abandonner les dyades coopératives et à adopter un changement de stratégie. Un système tandem de la famille des triades, comportant une cage DEAC450 pour deux antennes quadrupolaires, a alors été mis au point, et sa synthèse finalement réalisée avec succès. Les études photophysiques réalisées sur le composé ${}^{450}\text{T}_4$ montrent, comme dans le cas des dyades, des interactions entre modules influençant la capacité d'absorption du composé ; des effets anti-coopératifs d'environ 30% étant constatés dans le cas présent. Surtout, en concevant un système dans lequel la courbe d'absorption du module accepteur recouvre très nettement l'émission du donneur quadrupolaire, une efficacité de FRET de 96% a pu être mesurée. L'efficacité de la photolyse à un photon est alors multipliée par 25 par rapport à la référence utilisée, ce qui valide notre stratégie modulaire.

Les mesures de TPEF réalisées sur notre nouveau système tandem ont permis de déterminer une valeur minorée de 1100 GM de la triade ${}^{450}\text{T}_4$, conduisant à une photosensibilité à deux photons exceptionnelle supérieure à 650 GM pour une excitation à 700 nm dans le dichlorométhane. Les expériences de photolyse réalisées à 700 et 820 nm ont également démontré une accélération remarquable de la photolyse par rapport aux coumarines de référence. Cette valeur minorée de δ_u est plus de 30 fois supérieure à celle obtenue pour la dyade ${}^{\text{NI}}\text{D}_4$ dans le chapitre précédent, ce qui confirme qu'une combinaison appropriée de sous-unités peut donner naissance à des décageurs à très haute performances.

Sur la base de ces résultats très encourageants, nous avons souhaité rendre nos systèmes compatibles avec une utilisation en milieu biologique. Dans cette optique, nous avons remplacé l'acide acétique modèle par des neurotransmetteurs et molécules cytotoxiques anticancéreuses. Notre approche modulaire a, dans la même logique, été adaptée à la conception de systèmes comportant des motifs hydrosolubilisants.

Chapitre IV.

Vers des systèmes tandems hydrophiles pour la libération de principes actifs

I. Design d'architectures coopératives à forte affinité pour l'eau

I.1. Stratégies générales d'élaboration d'outils moléculaires hydrophiles

L'élaboration d'un groupement protecteur photolabile pouvant être utilisé en milieu biologique repose sur un cahier des charges très exigeant développé dans le chapitre I. Il est encore plus contraignant pour des applications en neurosciences. L'approche modulaire présentée dans les deux chapitres précédents a effectivement permis d'améliorer de façon spectaculaire la performance « brute » de photolibération, avec un nouveau record de photosensibilité par excitation biphotonique. Toutefois, la quête de l'efficacité est loin d'être suffisante pour aboutir à des applications concrètes *in vivo* ; et à ce titre, l'un des critères les plus difficiles à satisfaire est clairement la solubilité de ces chromophores aromatiques dans le milieu biologique aqueux.

Pour rendre des composés organiques compatibles avec un milieu aqueux, la communauté scientifique a développé plusieurs stratégies, qui peuvent être classées en deux catégories (tableau IV.1).

Tableau IV.1. Récapitulatif des stratégies pour rendre des composés organiques compatibles avec le milieu aqueux.

| Approche moléculaire : incorporation de motifs hydrophiles | | |
|--|--|---|
| | | |
| | | |
| Approche nanoscopique : intégration dans des nano-édifices | | |
| | | |
| Micelles, liposomes, nano-émulsions... | Nanoparticules organiques (nano-précipitation) | Nanoparticules cœur-écorce fonctionnalisables |
| Légende | | |
| = Fluorophore rouge | = Tensioactif | = Linker fonctionnalisable |

I.1.1. Ajout de motifs hydrophiles par stratégie de synthèse

La première stratégie consiste à apporter des modifications chimiques à la structure de la molécule, de façon à incorporer des groupements fonctionnels hydrosolubilisants. Elle est la plus employée au niveau du design structurel de décageurs, notamment dans le domaine moteur des neurosciences de par les dimensions spatiales mises en jeu (cf. chapitre I). Parmi les motifs utilisés, on retrouve typiquement les carboxylates, les phosphates, ou bien les sulfonates, qui ont donné lieu à des analogues structuraux de décageurs connus (DCMAC analogue de la DEAC (schéma IV.1),^[155] CDNI^[147] et DPNI^[145] analogues du MNI et du MDNI...) présentés dans le chapitre I. Les chaînes oligoéthylène-glycol sont aussi des motifs appréciés pour leur caractère amphiphile aidant la solubilité dans l'eau, comme en témoignent des cages de nouvelle génération telles qu'**EANBP** ou **(PEG)DEAC450**.

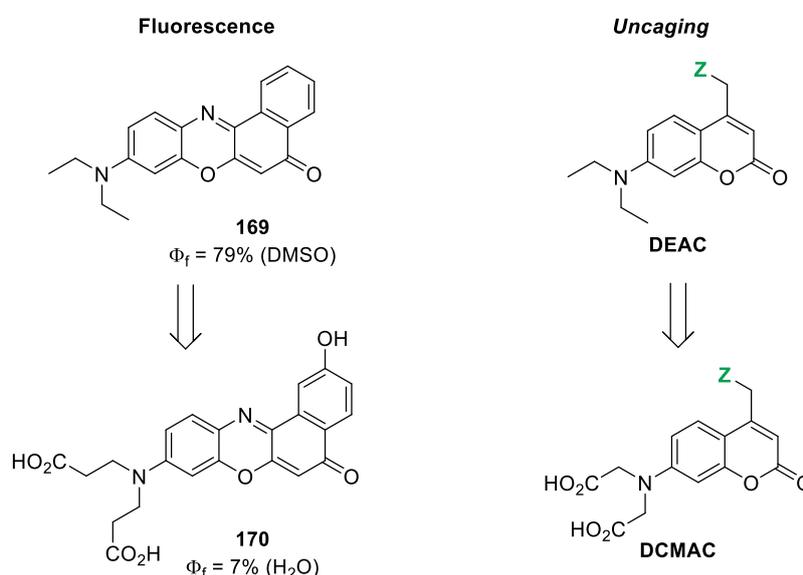


Schéma IV.1 : Présentations de deux analogues hydrophiles du Nile Red (à gauche) et de la DEAC (à droite) élaborées par modification structurelle.

L'incorporation d'un motif hydrosolubilisant dans la structure de la molécule est toutefois à la fois un important défi synthétique, et aussi un risque pour les potentielles interactions ligand-récepteur que ces fonctions chimiques peuvent entraîner dans les milieux cellulaires.

Il faut également ajouter que les interactions entre ces petites molécules et l'eau peuvent avoir des effets importants sur leurs propriétés photophysiques. Si le rendement quantique de photolibération Φ_u des décageurs a tendance à être amélioré en milieu aqueux, les fluorophores voient généralement leur rendement quantique d'émission Φ_f chuter sensiblement dans l'eau, comme en témoigne le résultat des modifications effectuées sur le composé **170**, analogue du

Nile Red (**169**, schéma IV.1, à gauche). Une chute du Φ_f et du k_r peuvent être perçues au premier abord comme bénéfique à la photolibération, mais il faut aussi garder à l'esprit qu'elle affectera proportionnellement l'efficacité de FRET dans des systèmes synergiques.

La richesse du monde de la chimie supramoléculaire et des nanosciences apporte un certain nombre d'alternatives à cette stratégie. Parmi les phénomènes mis à profit en ce sens, les interactions supramoléculaires (π -stacking, interactions hydrophobes, liaisons hydrogène...) sont capables de créer des nano-édifices en milieu aqueux pour confiner les molécules organiques.

1.1.2. *Élaboration de systèmes auto-assemblés et nanoparticulaires*

La confection de nanoparticules organiques par nano-précipitation,^[250,251] de micro- ou nano-émulsions,^[252] nano-vésicules ou micelles,^[253,254] bien que de plus en plus utilisées dans le cas des fluorophores ou photosensibilisateurs,^[255–258] reste encore peu commune dans le domaine de l'*uncaging* jusqu'à présent. Trois approches peuvent être principalement utilisées.

Carling *et al.* ont rapporté récemment l'encapsulation de décageurs de la famille des benzoquinones au sein d'une formulation de type microémulsion pour la délivrance d'agents anti-cancéreux et anti-inflammatoires.^[259] Cette stratégie de vectorisation assistée par l'ajout d'un tensioactif leur a en outre permis de co-encapsuler un fluorophore permettant la localisation des particules.

La libération de principes actifs par la lumière peut aussi s'effectuer de manière indirecte. Dans ce cas, le PPG est incorporé dans la structure même du tensioactif ou du cargo utilisé, et le stimulus lumineux entraîne alors son ouverture par clivage de la liaison photosensible. L'autoimmolation d'un polymère dibloc amphiphile, synthétisé à partir d'un monomère photoclivable contenant un groupement nitrobenzyle, a ainsi été rapportée par Liu et Dong en 2012 pour la libération de doxorubicine.^[260] Dans une stratégie analogue, Schutt *et al.* ont développé un autre analogue amphiphile de NPE capable de s'auto-assembler en nanoparticules d'une centaine de nanomètres, et de s'immoler au cours de la photolyse pour libérer là encore DOX.^[261]

La dernière possibilité réside dans une approche du type *bottom-up* au cours de laquelle des nano-objets hydrosolubles sont fonctionnalisés avec des PPGs par des réactions chimiques en surface. De façon générale, cette technique est actuellement l'une des plus populaires pour des applications de thérapie et de *drug-delivery*. Elle présente en effet une grande modularité

permettant d'incorporer des sous-unités exerçant différentes fonctions, notamment pour des applications théranostiques et du ciblage biologique. Johnson *et al.* ont ainsi conjugué par CuAAC un groupement protecteur photolabile sur les branches d'un copolymère amphiphile en peigne, et dont la structure reste intacte sous irradiation (schéma IV.2). DOX est dans ce cas directement cagée *via* sa fonction amine sur des groupements *o*NB en périphérie du polymère. Le médicament est inactif sous sa forme protégée, et libéré sous irradiation UV pour provoquer l'apoptose.^[262] Récemment, la DEAC a également été exploitée pour la photolibération de CLB et de DOX, respectivement dans des nanoparticules hybrides de fer^[178] et d'or.^[263]

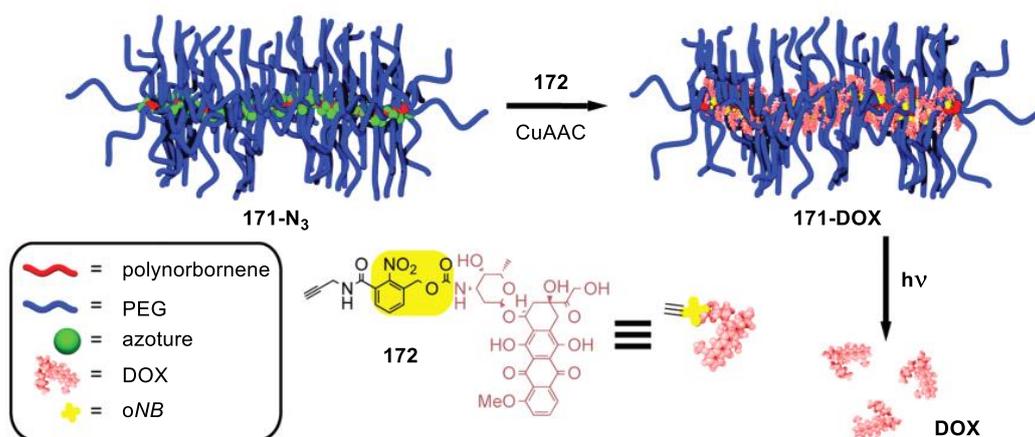


Schéma IV.2 : Élaboration du polymère photosensible 171-DOX par fonctionnalisation des chaînes latérales, et photolibération de doxorubicine par irradiation. Reproduit et traduit de la référence ^[262]

Intrinsèquement, ces moyens de vectorisation reposent dans la majorité des cas sur des systèmes de taille nanométrique, moins compatibles avec une utilisation en neurosciences, mais au contraire très adaptée à la thérapie anticancéreuse. L'ingénierie de ce type nano-systèmes photoactivés pour le traitement de tumeurs répond cependant à des problématiques très différentes de l'*uncaging* en neurosciences.^[264-266] Les exigences sont potentiellement moindres en termes de performances, cinétique ou concentration de travail, mais plus drastiques au niveau biologique et pharmacologique. Pour exploiter pleinement leur activité antitumorale, les composés doivent subsister dans la circulation sanguine suffisamment longtemps pour atteindre, et s'accumuler dans la tumeur. Cette problématique implique des notions de stabilité, clairance et de demi-vie plasmique qui relèvent du domaine de la pharmacocinétique.

Pour répondre à ces problématiques, les nanosciences permettent intrinsèquement d'aller plus loin dans la plurifonctionnalité que les outils moléculaires. Comme illustré sur la figure IV.1, la surface des nano-objets peut être décorée avec divers modules de fonctions différentes, permettant d'améliorer la furtivité en milieu endocrinien, la bioconjugaison, ou le

diagnostic. En protégeant le composé étudié des conditions particulièrement hostiles du milieu endocrinien, les nano-vecteurs offrent aussi la possibilité d'améliorer sa biodisponibilité, sa solubilité, et sa stabilité. L'effet EPR, permettant le ciblage passif des tissus tumoraux, est également l'une des bases rationnelles dans l'utilisation accrue d'agents thérapeutiques de taille nanométrique.^[267] Combiner tous ces atouts sur une même plateforme permet d'élaborer une infinité de combinaisons adaptées à différentes pathologies.

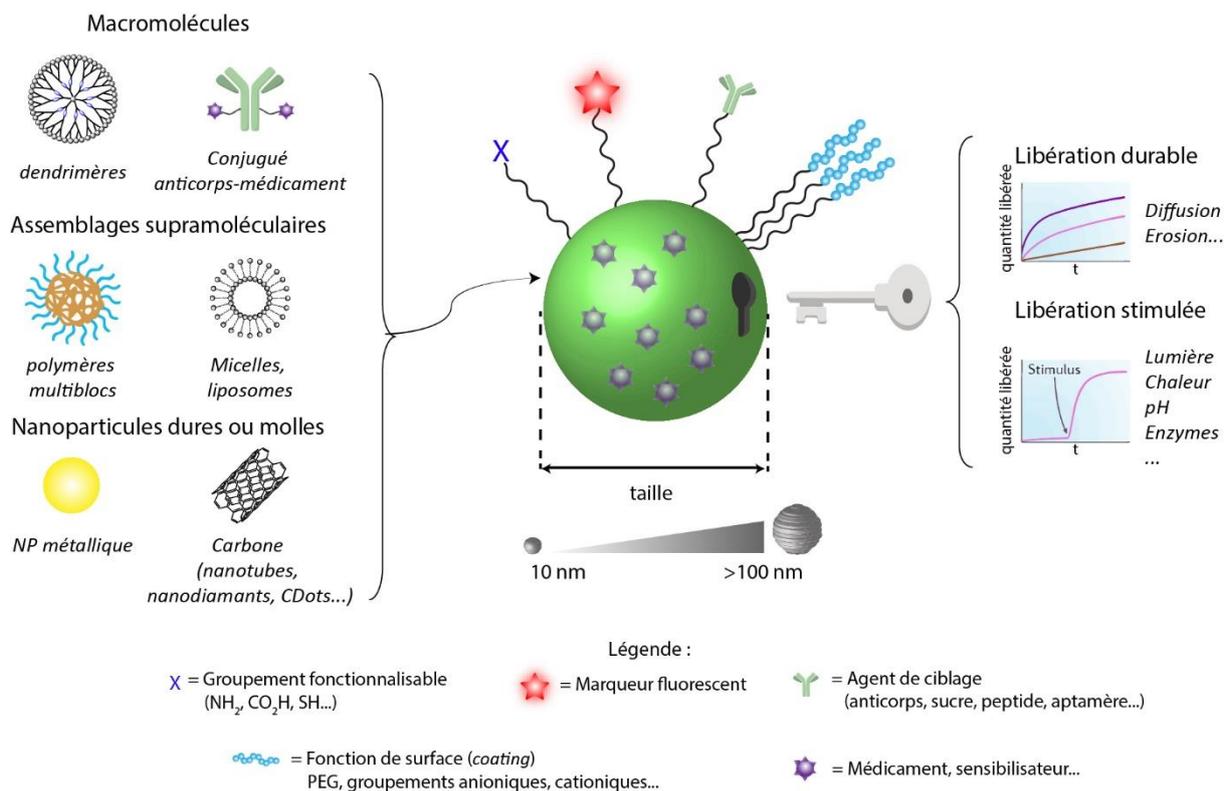


Figure IV.1 : Résumé des propriétés clés dans l'élaboration de nano-outils pour la thérapie anticancéreuse.

Selon les applications biologiques ciblées, certaines stratégies seront plus adaptées que d'autres. Ainsi, en neurosciences, les petites dimensions mises en jeu dans la fente synaptique rendent les systèmes de taille importante peu adaptés. Les systèmes moléculaires seront alors généralement préférés aux nanoparticules. Au contraire, les édifices de taille nanométriques présentent des caractéristiques intéressantes pour des applications thérapeutiques, et comme les exemples développés ci-dessus le montrent, le principe d'auto-assemblage de composés amphiphiles tient une place importante dans le domaine.

I.2. Structures ciblées et approches rétrosynthétiques

Dans ce chapitre, nous avons choisi de nous focaliser sur la première stratégie en incorporant au sein de systèmes tandems moléculaires, basés sur le FRET, des groupements

apportant un certain caractère hydrophile. La deuxième partie de ces travaux concernera en particulier l'élaboration de composés amphiphiles moléculaires qui pourraient à l'avenir faire la passerelle vers des systèmes auto-assemblés. Chacun des deux volets développés concerne le type d'application qui lui est le plus adapté, à savoir d'abord les applications en neurosciences, puis en thérapie anticancéreuse.

1.2.1. *Élaboration de triades pour les neurosciences*

Dans un premier temps, la synthèse de la triade $^{450}\text{T}_4$ a été adaptée de façon à incorporer l'acide γ -aminobutyrique, principal neurotransmetteur inhibiteur dans le cerveau. Comme mentionné dans le chapitre I, la plupart des cages mises au point pour la libération photo-induite de GABA sont sujettes à un fort antagonisme avec les récepteurs GABAergiques impliqués, ce qui les rend peu utilisables au cours d'expériences biologiques. Ici, dans une stratégie analogue à celle d'Ellis-Davies et coll. dans **(G₅)DEAC450-[GABA]**, ce neuromessager a été sélectionné pour évaluer si les antennes quadrupolaires apportent suffisamment d'effet de « masquage » pour camoufler la coumarine vis-à-vis des récepteurs GABAergiques dans d'éventuelles futures applications biologiques.

De façon à rendre la triade suffisamment soluble dans le milieu physiologique, des modifications structurelles ont ensuite été apportées. Les fonctions chimiques susceptibles d'être modifiées dans le design de la triade hydrosoluble sont présentées sur le schéma IV.3.

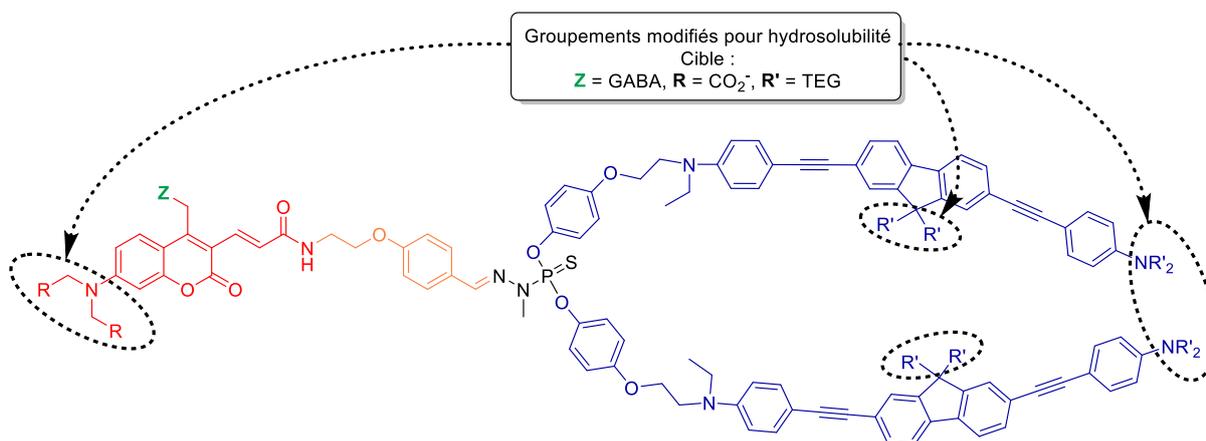


Schéma IV.3 : Modifications structurelles implémentées sur la triade $^{450}\text{T}_4$ pour la solubilité dans l'eau.

Compte tenu du rayon de Förster calculé dans le chapitre précédent pour ce système, une variation des espaceurs reliant les trois modules entre eux ne semblait ici pas judicieuse. Pour cela, nous nous sommes concentrés essentiellement sur les groupes alkyles *N*-terminaux et sur les chaînes du cœur fluorényle des quadrupôles. La voie de synthèse a alors été repensée

de façon à incorporer des groupements triéthylèneglycol (TEG) ou carboxylate en lieu et place de ces chaînes grasses.

1.2.1. Élaboration de tétrades amphiphiles pour applications thérapeutiques

Pour remplacer les chimiothérapies conventionnelles et l'emploi de fortes doses de drogues tuant indifféremment cellules saines et tumorales, l'une des problématiques majeures des nouveaux traitements contre le cancer réside dans la capacité à administrer les agents thérapeutiques uniquement sur les sites tumoraux, sans induire d'effets indésirables sur les tissus sains. Aussi, en parallèle des travaux sur la triade $^{450}\text{T}_4$, la stratégie de design des systèmes tandem précédents a été étendue à d'autres structures de taille supérieure, encore plus coopératives, élaborées pour la libération d'agents anticancéreux (schéma IV.4). Ces nouveaux composés, comportant trois antennes pour une cage, ont été imaginés de façon à comporter une couche extérieure hydrophile et un cœur plus lipophile empêchant préservant la fluorescence en protégeant les fluorophores des effets néfastes de l'eau. En outre, par la suite, il est possible d'imaginer que ces systèmes amphiphiles soient capables de s'auto-assembler en milieu aqueux. Des cages de la famille des coumarines, mais aussi des nitrodiphénylacétylènes (NDPA), ont été considérées pour ces nouvelles « tétrades ».

Pour l'assemblage de ce système « 3:1 », une plateforme tétrafonctionnelle était nécessaire. Ici, la plateforme choisie est l'acide gallique, qui comporte trois fonctions phénols fonctionnalisables par réaction de Williamson, et un acide qui pourra former une liaison peptidique. Cette différenciation permettra d'éviter les problèmes de désymétrisation inhérents par exemple à la plateforme **P1**. Ainsi, le gallate de propyle **P4** a été sélectionné comme synthon de départ pour permettre de greffer les quatre antennes, avant de déprotéger l'acide pour coupler la cage.

Dans cette étude préliminaire, nous avons choisi de nous concentrer dans un premier temps sur un analogue du quadrupôle **A4** comportant deux chaînes oligoéthylène glycol terminales courtes, pour plus d'accessibilité synthétique. Aussi, des chaînes TEG ont été sélectionnées pour la couche externe hydrophile, alors qu'un cœur lipophile contenant des chaînes butyle a été sélectionné. Par la suite, des chaînes PEG plus longues, ouvrant la porte vers des auto-assemblages en solution, pourront remplacer les chaînes TEG. La fonction de greffage sera ici l'iodure, très réactif en conditions de substitutions nucléophiles.

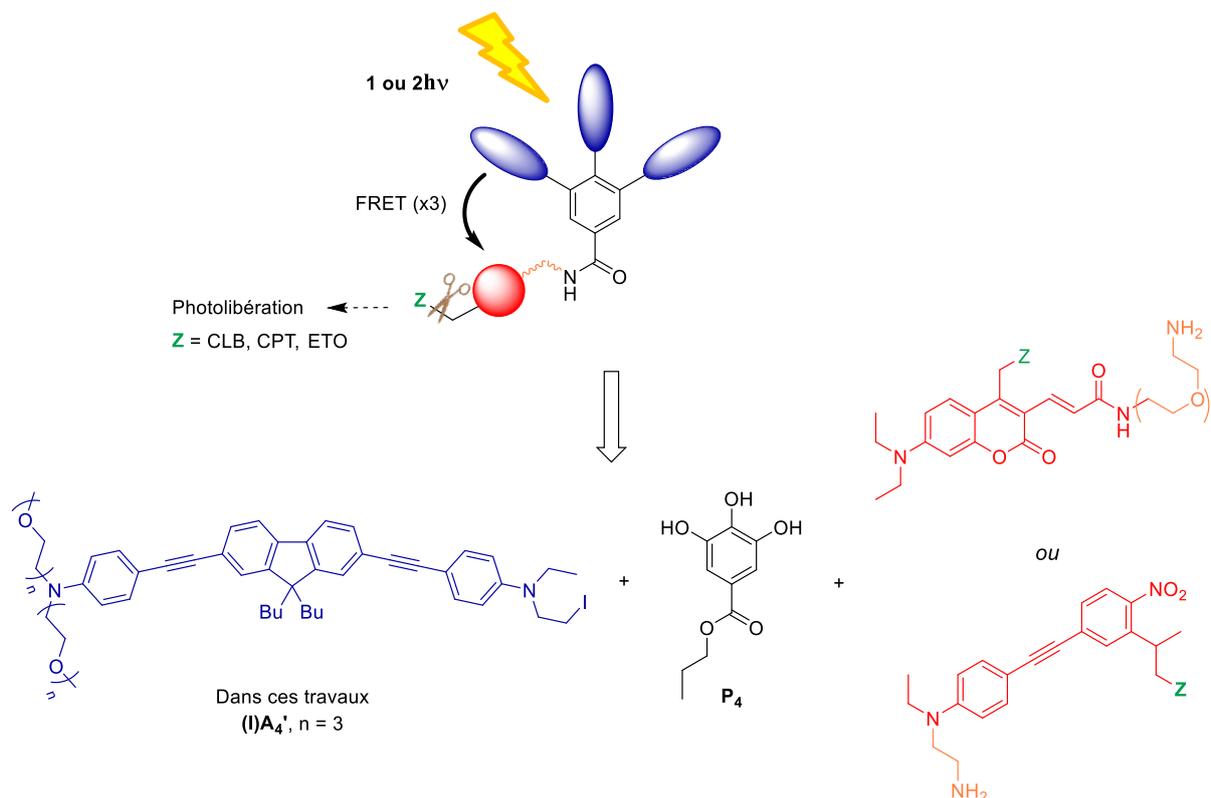


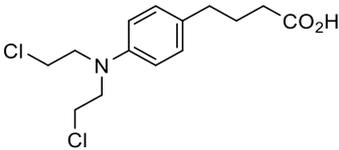
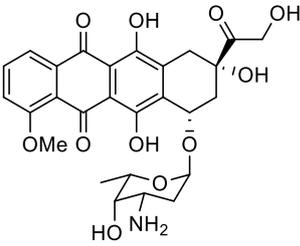
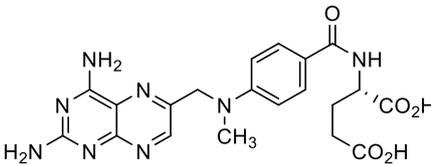
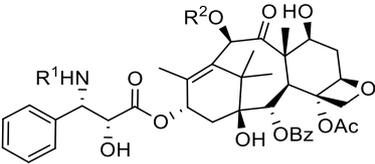
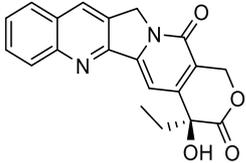
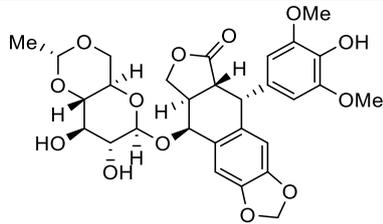
Schéma IV.4 : Principe et approche rétrosynthétique de la nouvelle tétrade amphiphile.

Plusieurs actifs anticancéreux ont été considérés au long de ces travaux (tableau IV.2). Le chlorambucil (CLB), un agent anticancéreux alkylant de structure simple, a été choisi comme modèle pour la photolibération d'agents anticancéreux. Étudiée de nombreuses fois dans la littérature, la photolibération de chlorambucil implique de le cager par sa fonction acide carboxylique. Le CLB exerçant son activité alkylante *via* ses atomes de chlores il faut garder à l'esprit qu'il pourra potentiellement avoir des effets antagonistes lors d'études *in vitro* ou *in vivo* car seule la fonction acide sera masquée. Il constitue toutefois un premier exemple modèle intéressant.

La doxorubicine ne possède pas de fonction acide, mais peut être cagée par l'intermédiaire de sa fonction amine, comme dans les travaux de Johnson *et al.*^[262] Toutefois, la présence de réactions parasites rapportées dans leurs travaux nous a poussés à écarter cette option pour l'instant. Le méthotrexate et un analogue au phototaxel ont été envisagés, mais nous nous sommes concentrés dans un premier temps sur la camptothécine (CPT). Cette tête de série cytotoxique de la famille des alcaloïdes est un inhibiteur de topoisomérase I. Elle est considérée comme trop active pour être utilisée seule dans les traitements, toutefois des travaux de nano-vectorisation par l'intermédiaire de polymères^[268] comme le CRLX101^[269] ont atteint la première phase d'essais cliniques. Par ailleurs, ce nano-médicament repose sur l'estérification de la fonction alcool tertiaire du composé, ce qui confirme que l'usage d'un

groupement protecteur photolabile en cette position est une alternative viable. Dans la suite de ces travaux, nous entreprendrons d'étendre la palette d'anticancéreux en cageant l'étoposide (ETO) sur la cage NDPA *via* sa fonction phénol.

Tableau IV.2. Structures chimiques des principaux anticancéreux abordés dans ce chapitre.

| | | |
|--|---|---|
|  <p>Chlorambucil (CLB)</p> |  <p>Doxorubicine (DOX)</p> |  <p>Méthotrexate (MTX)</p> |
|  <p>Docétaxel (DTXL), R¹ = Boc, R² = H Paclitaxel (PTXL), R¹ = Bz, R² = Ac</p> |  <p>Camptothécine (CPT)</p> |  <p>Etoposide (ETO)</p> |

Dans les paragraphes suivants, les analogues hydrophiles du quadrupôle **A₄** seront nommés **A₄'** et **A₄''** selon qu'ils comportent respectivement une ou deux paires de chaînes TEG. **(HQ)A₄''** sera donc l'antenne utilisée dans la synthèse de la triade, et **(I)A₄'** l'analogue utilisé dans la synthèse de la tétrade.

II. Synthèse d'une triade pour la libération de GABA

L'adaptation de la synthèse présentée dans le chapitre III a été effectuée en deux temps. Premièrement, la synthèse a été reproduite en version lipophile, en remplaçant l'acide acétique par le GABA protégé. Dans un second temps, les modules seront modifiés séparément pour incorporer les fonctions hydrosolubilisantes sélectionnées.

II.1. Triade lipophile

Pour synthétiser la triade ⁴⁵⁰T₄-[GABA], le module décageur a été modifié en conséquence. Pour cela, la fonction alcool du précurseur **167** a été estérifiée en présence d'un agent de couplage peptidique et de DMAP de façon à cager du Boc-GABA (schéma IV.6).

Le groupement protecteur Boc a été sélectionné pour sa résistance dans les conditions basiques nécessaires à la fonctionnalisation de la plateforme par les antennes. Le nouveau module décageur **(CHO)DEAC450-[GABABoc]** est obtenu avec un rendement de 60% après purification en salle noire.

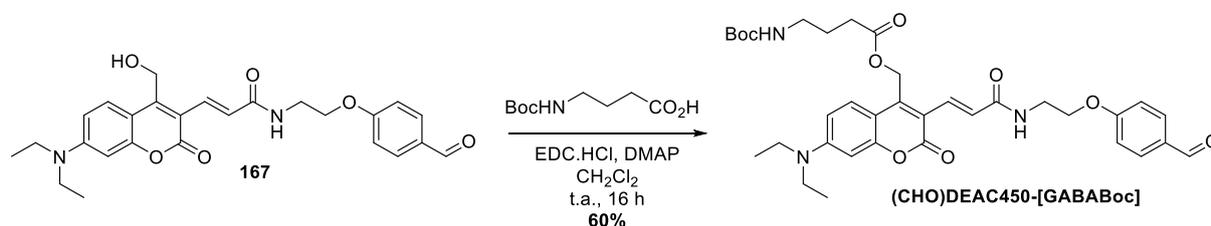


Schéma IV.5 : Synthèse du décageur DEAC450 greffable par fonction aldéhyde et cageant du GABA protégé.

La séquence réactionnelle aboutissant à la formation de la triade a ensuite été reproduite dans les conditions décrites dans le chapitre III (schéma IV.7). L'hydrazone intermédiaire est d'abord formée quantitativement à partir de l'aldéhyde du composé **(CHO)DEAC450-[GABABoc]** et de la **MMH-PSCl₂**. Le composé issu de la condensation, purifié par précipitation, est cette fois directement engagé dans la réaction de substitution nucléophile avec le quadrupôle **(HQ)A₄**.

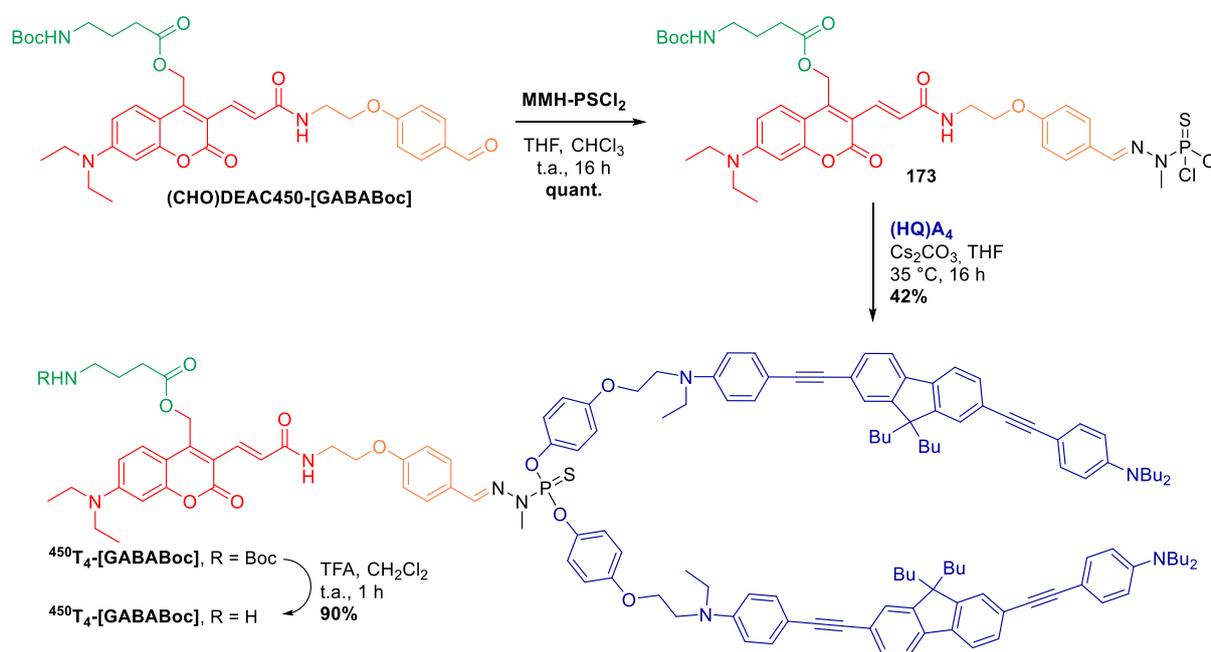


Schéma IV.6 : Synthèse de la triade ⁴⁵⁰T₄ cageant du GABA.

Dans ces conditions, la triade ⁴⁵⁰T₄ cageant le GABA protégé est obtenue avec un rendement de 42% après chromatographie sur gel de silice. Le composé monosubstitué est aussi isolé à hauteur de 26% au cours de la purification. Finalement, le groupement Boc est déprotégé

en conditions acides. Le composé final $^{450}\text{T}_4\text{-[GABA]}$ est obtenu avec un bon rendement après précipitation, lavages et centrifugation.

La structure de cette triade lipophile étant tout à fait similaire à son analogue $^{450}\text{T}_4\text{-[AC]}$ présenté dans le chapitre III, ses propriétés optiques et photochimiques devraient logiquement être très voisines. Pour cette raison et, elles n'ont pas été étudiées en détail.

Naturellement, ce composé est incompatible en tant que tel avec une utilisation en milieu physiologique, mais sa vectorisation peut potentiellement s'effectuer par le biais de nano-émulsions ou vésicules de petite taille. Au cours de la photolyse, le GABA libéré devrait alors quitter l'environnement lipophile interne à la vésicule et être relâché dans le milieu extérieur. Cette option sera prochainement étudiée au laboratoire.

II.2. Synthèse d'une version hydrophile

L'incorporation de groupements compatibles avec une utilisation en milieu aqueux nécessite la modification des sous-unités constitutives de la triade. En ce sens, deux modifications principales ont été considérées : l'ajout de groupements carboxylates sur la coumarine, et de chaînes TEG sur le quadrupôle.

La synthèse d'un analogue greffable plus hydrophile de la DEAC450 a été considérée sur la base des travaux de Hagen *et al.* sur la DCMAC. ^[155] Pour remplacer les chaînes éthyle de la DEAC, la synthèse est réalisée à partir de 7-amino-4-méthylcoumarine **174** disponible commercialement. Une double alkylation de l'amine est alors réalisée pour introduire les groupements carboxylates protégés sous forme d'esters de *tert*-butyle pour des raisons pratiques (schéma IV.8). La réaction a été réalisée en présence d'hydruide de sodium et d'iodure de sodium catalytique pour faciliter la substitution.

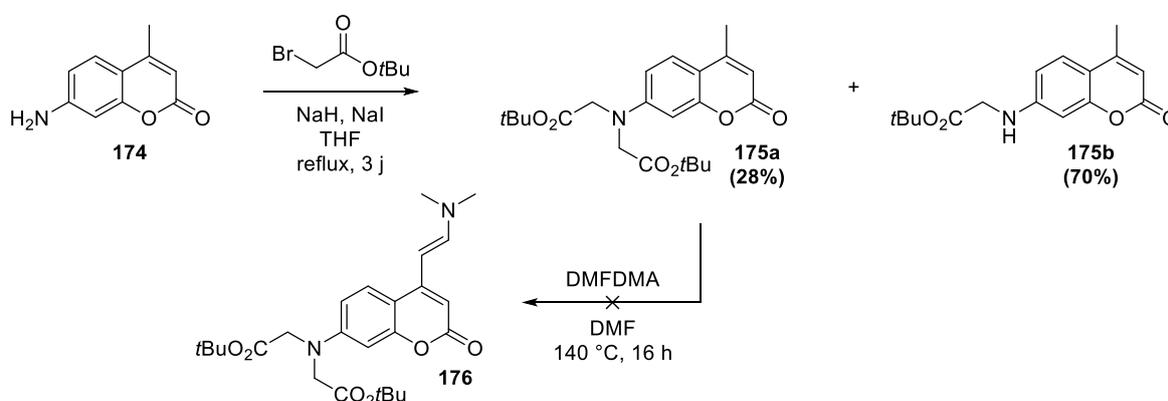


Schéma IV.7 : Double alkylation de l'aminocoumarine **174**, et tentative de formation de l'énamine correspondante.

Après plusieurs jours à reflux, deux produits sont séparés sur colonne de silice. Le produit bisalkylé **175a** n'est toutefois isolé qu'à hauteur de 20%, le reste correspondant à du produit monosubstitué **175b**. Malgré ce rendement décevant, la réaction de formation de l'énamine optimisée précédemment a été réalisée. Dans les conditions nécessaires à la double élimination de méthanol, l'énamine **176** n'est cependant pas isolée. Il est en effet probable que les conditions opératoires entraînent ici des réactions de dégradation sur les esters.

Les alternatives permettant d'obtenir le composé **176** ou l'aldéhyde correspondant n'ont finalement pas été explorées, et il a été décidé de conserver par la suite le module greffable (CHO)DEAC450 synthétisé précédemment. L'intégration de sulfonates, décrite dernièrement comme compatible avec notre voie de synthèse, est en cours d'investigation au laboratoire. Les efforts se sont finalement concentrés sur la synthèse de l'analogue hydrophile du quadrupôle **A4**.

II.2.1. Synthèse de l'antenne quadrupolaire à caractère hydrophile

La synthèse du quadrupôle (HQ)A4'' est semblable à celle du quadrupôle (HQ)A4 parent présentée dans le chapitre II. La branche greffable, comportant le motif hydroquinone, est un synthon commun ; il s'agit donc principalement d'alkyler le cœur du fluorène et l'aniline de la branche terminale par du 2-bromoethyl méthyl éther de diéthylène glycol (TEG-Br).

La synthèse de la branche terminale en version hydrophile est réalisée à partir de la 4-iodoaniline **177**. Les chaînes TEG ayant tendance à diminuer intrinsèquement la vitesse de nombreuses réactions, l'alkylation est réalisée dans le DMF à haute température en présence d'un excès d'agent alkylant (schéma IV.9). La faible réactivité du TEG-Br implique la présence d'iodure de potassium en quantité sub-stœchiométrique afin d'effectuer un échange d'halogènes et rendre ainsi les chaînes TEG plus réactives vis à vis du nucléophile. Après purification par chromatographie, le composé dialkylé **178** est obtenu avec un rendement satisfaisant.

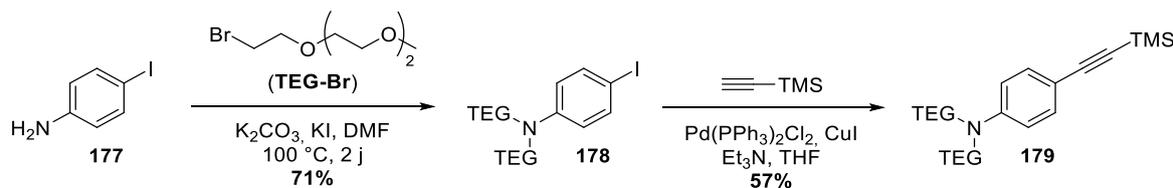


Schéma IV.8 : Synthèse de la branche acétylénique hydrophile **179** par double alkylation et couplage de Sonogashira.

L'introduction de la triple liaison sur la branche a ensuite lieu par couplage croisé de Sonogashira avec le TMSA dans les mêmes conditions que pour le quadrupôle lipophile. Le

rendement de 57% obtenu pour l'intermédiaire clé **179** traduit une réactivité légèrement moindre liée à la présence des chaînes TEG.

La branche terminale **179** est ensuite couplée sur un cœur 2,7-diiodofluorène alkylé par deux chaînes TEG en position 9. Le composé **180**, déjà disponible au laboratoire suite aux travaux sur les triades "1:2" à base de MNI,^[217] est synthétisé dans des conditions semblables au 2,7-diiodo-9,9-dibutylfluorène **91**. Comme précédemment, le couplage a lieu en présence d'un excès de fluorène dihalogéné de façon à maximiser la désymétrisation (schéma IV.10). Après une purification sur gel de silice délicate, le produit de monocouplage **181** est obtenu avec un rendement moyen de 49%. L'excès de fluorène de départ a aussi pu être récupéré au cours de la purification.

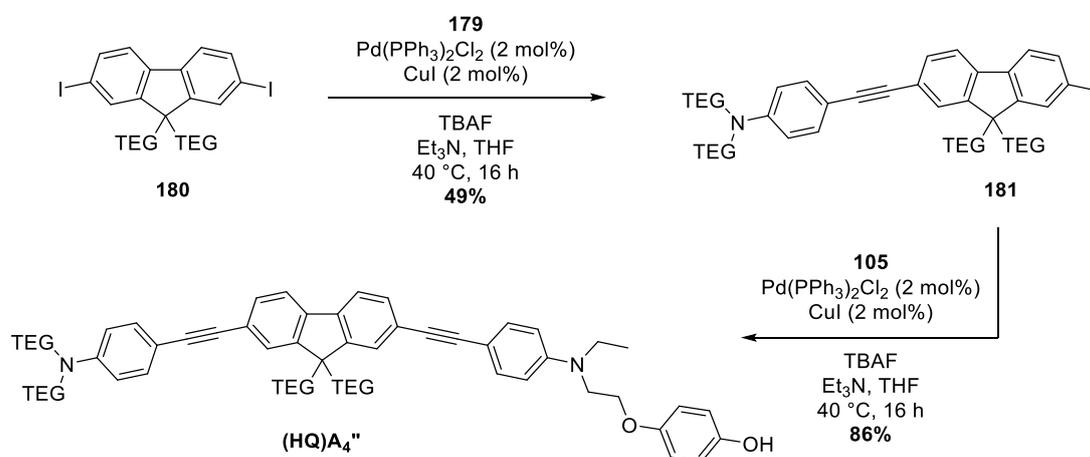
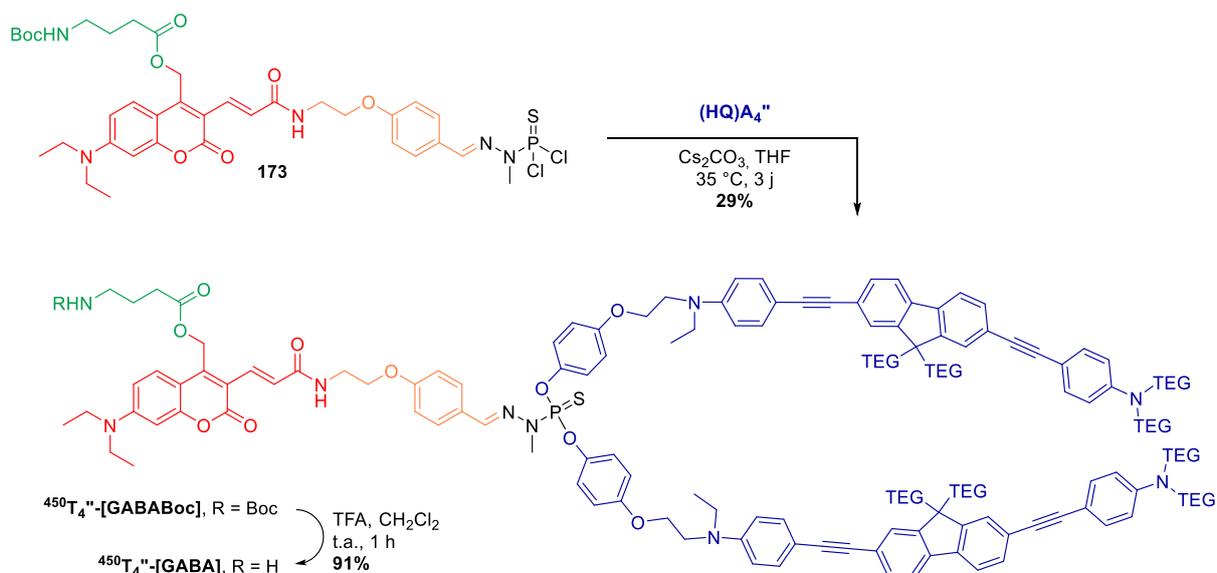


Schéma IV.9 : Synthèse du quadrupôle hydrophile (HQ) A_4'' par double réaction de Sonogashira.

Enfin, le quadrupôle greffable hydrophile (HQ) A_4'' est obtenu en couplant le synthon greffable **105** sur l'intermédiaire monobranché **181** en présence de TBAF. Les rendements obtenus sur les étapes de synthèse de ce quadrupôle, très polaire, sont globalement inférieurs à ceux obtenus dans le chapitre II pour sa version lipophile du fait d'une baisse de réactivité et des difficultés de purification. Le composé (HQ) A_4'' a toutefois pu être utilisé dans la réaction d'assemblage d'une triade.

II.2.2. Assemblage des modules

La synthèse de la triade dans sa version hydrophile a été réalisée selon le même protocole d'assemblage. Compte tenu que l'option d'ajouter de groupements hydrophiles sur la sous-unité DEAC450 n'a finalement pas été poursuivie, l'hydrazone intermédiaire **173** a pu être directement utilisée pour la réaction de substitution. Le quadrupôle hydrophile (HQ) A_4'' a donc été introduit dans le THF en présence de carbonate de césium (schéma IV.11).

Schéma IV.10 : Assemblage de la triade hydrophile $^{450}T_4''$ cageant du GABA.

Comme anticipé, la réaction de substitution est fortement affectée par la présence des chaînes triéthylène glycol. Après trois jours de réaction à 35 °C, le suivi CCM de la réaction montrait que la conversion de l'hydrazone **173** n'était pas totale. Bien que la très forte polarité du produit disubstitué $^{450}T_4''$ -[GABABoc] le place à la limite de compatibilité avec une purification en phase normale, une chromatographie sur colonne de silice classique a toutefois permis de l'isoler avec un rendement de 29%.

Finalement, l'amine du GABA a pu être déprotégée dans les mêmes conditions que précédemment. Le système coopératif final $^{450}T_4''$ -[GABA], purifié par lavages et centrifugation, a pu être caractérisé par RMN. Les analyses MALDI sont en cours. Des expériences préliminaires de solubilité et de caractérisations photophysiques ont alors pu être menées à bien sur le composé.

II.3. Tests de solubilité et propriétés optiques

En préambule aux expériences photophysiques, des tests de solubilité ont été réalisés pour évaluer l'effet des chaînes TEG sur la triade. Il s'avère que le composé est insoluble dans le PBS, même à une concentration de l'ordre de 10^{-6} M. La même expérience a été réalisée avec des pourcentages connus d'acétonitrile. La triade $^{450}T_4''$ est finalement raisonnablement soluble dans une solution de PBS contenant 25% d'acétonitrile à une concentration de $5 \cdot 10^{-5}$ M.

Les propriétés optiques de la triade dans sa version hydrophile $^{450}T_4''$ ainsi que du module quadropolaire A_4'' et de la DEAC450 ont été mesurées dans un mélange d'eau et

d'acétonitrile (1/1, v/v) pour s'assurer de la solubilité de tous les composés étudiés. Les résultats sont rassemblés dans le tableau IV.3.

Tableau IV.3. Propriétés optiques à un photon de la triade, et des sous-unités considérées dans CH₃CN/H₂O (1/1, v/v).

| Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | ϵ^{max} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | ϵ^{365} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | ϵ^{455} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ [nm] | $\Phi_f^{[a]}$ |
|---|---|---|--|--|--|----------------|
| DEAC450 | 449 | 3.2 10 ⁴ | - | 3.2 10 ⁴ [b] | 529 | 0.57 |
| (HQ)A ₄ '' | 383 | 7.2 10 ⁴ | 5.8 10 ⁴ | - | 511 | 0.64 |
| ⁴⁵⁰ T ₄ ''-[GABA] | 345 | 10.1 10 ⁴ | 7.0 10 ⁴ [a] | | 520 | 0.05 |
| | 440 | 2.2 10 ⁴ | | 2.0 10 ⁴ [b] | | |

[a] Rendement quantique de fluorescence, standard : FLSCN dans NaOH 0.1 M ($\Phi_f = 0.90$).

Les propriétés d'absorption de la DEAC450 dans le mélange d'étude sont essentiellement semblables à celles déterminées dans le dichlorométhane et présentées dans le chapitre III. L'effet de solvant est ici perceptible par un décalage de l'absorption de 11 nm vers le rouge, et un léger effet hyperchrome. Le quadripôle A₄'' possède lui aussi des propriétés semblables à son analogue lipophile A₄, avec toutefois un léger décalage de l'absorption vers le bleu. Le spectre d'absorption de la triade hydrophile ⁴⁵⁰T₄'' dans ce mélange aqueux diffère lui grandement de son analogue lipophile. Si l'on distingue toujours les deux bandes caractéristiques du module quadripolaire A₄'' et de la DEAC450, l'absorption des deux motifs antennes subit un décalage hypsochrome marqué et hypochrome pour atteindre son maximum à 345 nm. Cet effet inattendu pourrait suggérer un microenvironnement très spécifique des modules quadripolaires au sein de la triade, et une potentielle auto-organisation en milieu aqueux.

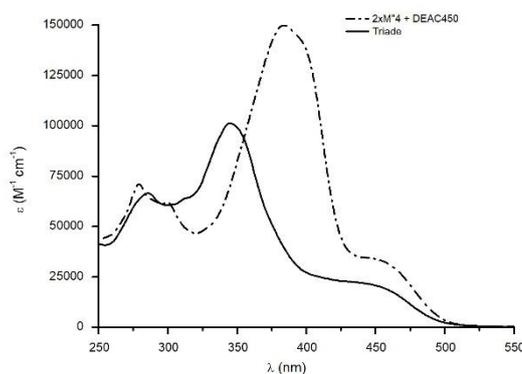


Figure IV.2 : Superposition des spectres d'absorption de la triade et de l'addition des modules dans CH₃CN/H₂O (1/1, v/v)

Des effets d'interaction sont clairement mis en évidence par la superposition du spectre mesuré et du spectre calculé à partir de l'absorption des modules (figure IV.2). Le coefficient

d'extinction molaire de ${}^{450}\mathbf{T4''}$ atteint $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à 345 nm, ce qui est inférieur de 30% à la valeur théorique. Cette observation est en accord avec les mesures réalisées sur l'analogue lipophile ${}^{450}\mathbf{T4}$ dans le chapitre III.

La coopérativité du système a ensuite été étudiée en termes de transfert d'énergie. Les propriétés d'émission des composés sont en ce sens une donnée cruciale pour évaluer l'impact du changement de solvant, et de l'introduction d'une forte proportion d'eau sur le phénomène.

La fluorescence des modules impliqués dans la triade est impactée à différents degrés par le passage en milieu aqueux. La DEAC450 voit son caractère émissif diminuer sensiblement avec un Φ_f de 57%, en accord avec une efficacité de photolibération supérieure dans l'eau, mais son maximum d'émission n'est décalé que de 20 nm par rapport au dichlorométhane. Au contraire, le quadrupôle $\mathbf{A4''}$ présente un caractère solvatochrome très marqué, avec un décalage de 80 nm vers le rouge du maximum d'émission, lié à la rupture de symétrie dans l'état excité. Le rendement quantique d'émission est aussi particulièrement affecté par la présence d'eau, puisqu'il chute de presque 30% par rapport à $\mathbf{A4}$ dans le dichlorométhane.

Le caractère solvatochrome marqué de l'émission de l'antenne quadrupolaire $\mathbf{A4''}$ a deux conséquences sur l'étude. Tout d'abord, le recouvrement entre les courbes d'absorption et d'émission de la paire donneur-accepteur impliquée dans la triade ${}^{450}\mathbf{T4''}$ (figure IV.3, a) est sensiblement moins bon que dans la triade lipophile ${}^{450}\mathbf{T4}$, puisque l'absorption de la DEAC450 est intrinsèquement moins solvatochrome. Par ailleurs, comme le montre le tableau IV.3, l'émission des trois composés se retrouve ici dans la même gamme spectrale, ce qui rend la mise en évidence de FRET particulièrement délicate. En effet, comme illustré sur la figure IV.3-b), les spectres d'émission dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1) ont des allures très similaires, avec des maxima espacés de seulement 18 nm. Le principal signe distinctif est ici la largeur de bande supérieure dans le cas du quadrupôle $\mathbf{A4''}$ qui émet à partir de 425 nm.

Les cartes tridimensionnelles d'excitation/émission du quadrupôle en solution $\mathbf{A4''}$ (figure IV.3, c) et de la triade ${}^{450}\mathbf{T4''}$ (figure IV.3, d) sont par conséquent plus délicates à interpréter. Cependant, à l'aide de la superposition des courbes d'émission (figure IV.3, b), il est possible d'observer que la tâche correspondant à l'émission de la triade est moins large et très légèrement décalée vers le rouge. La tâche d'excitation directe du module DEAC450 (en bleu clair), d'intensité moindre, peut servir de point de repère dans l'interprétation.

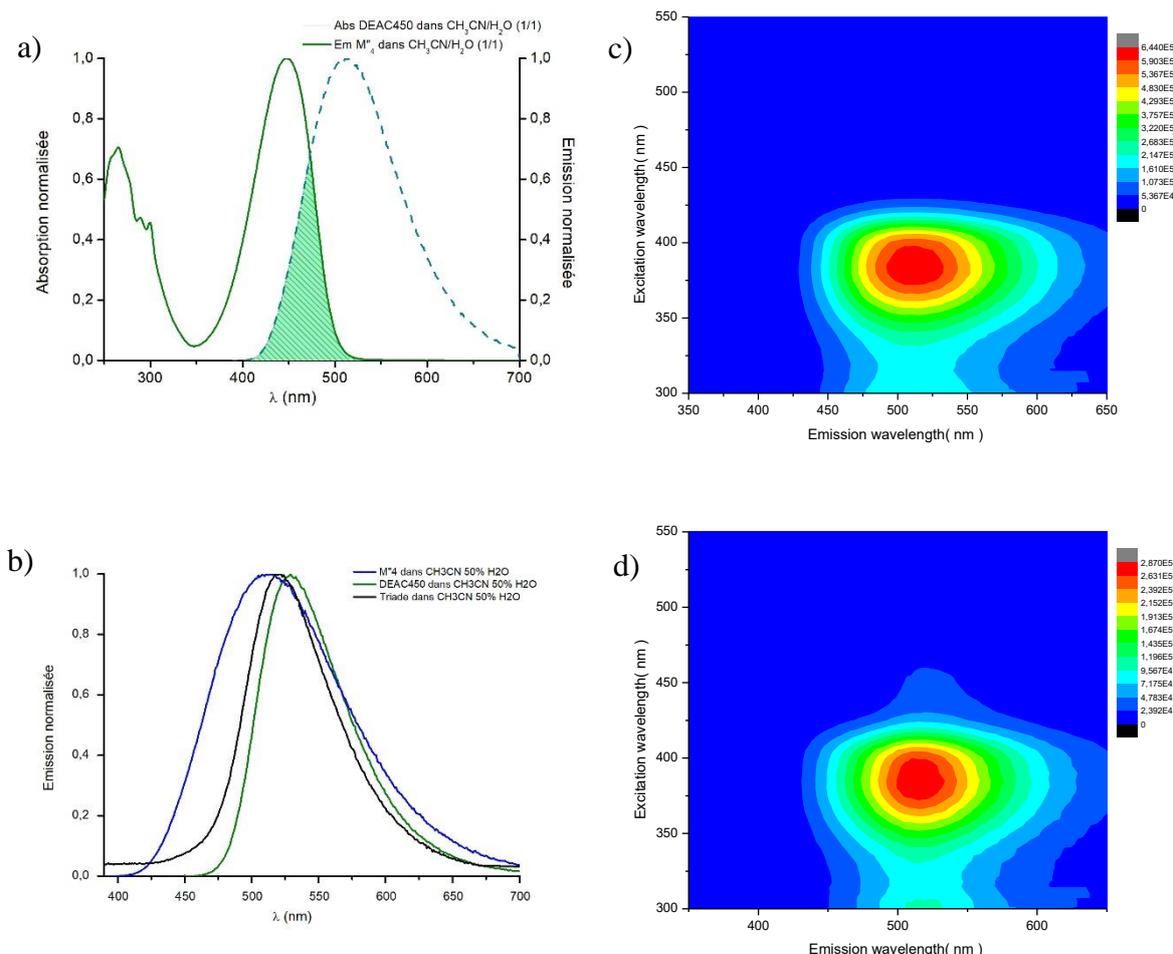


Figure IV.3 : a) Recouvrement entre les spectres d'émission du donneur quadropolaire et de l'accepteur décageur dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1, v/v). b) Superposition des spectres d'émission de la triade (en noir), de la DEAC450 (en vert) et du quadropôle A_4 '' (en bleu) dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1, v/v). c) Carte bidimensionnelle d'excitation/émission de l'antenne A_4 '' ; d) de la triade dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1, v/v).

Le phénomène de FRET semble donc être confirmé dans la triade hydrophile $^{450}\text{T}_4$ '', mais reste impossible à quantifier sur la seule base de ces données. Il faut toutefois noter qu'une chute spectaculaire du rendement quantique de fluorescence est observée entre A_4 '' et la triade, qui n'émet qu'avec un Φ_f de 5%. La perte du caractère émissif indique une très forte augmentation de la proportion de phénomènes non radiatifs, ce qui est a priori positif pour le transfert d'énergie et pour la photolibération. Ces études préliminaires seront prochainement complétées par des expériences de photolyse à un et deux photons en milieu aqueux, en suivant la libération du GABA par HPLC.

La stratégie d'incorporation de chaînes TEG sur le quadropôle A_4 a permis de mettre au point un système coopératif effectivement soluble en milieu aqueux. Les limites de cette stratégie ont cependant été mises en évidence. La triade $^{450}\text{T}_4$ '' n'est soluble qu'à des

concentrations inférieures à 0,05 mM, avec 25% d'acétonitrile pour améliorer la solubilité, ce qui n'est que partiellement compatible avec une utilisation en neurosciences. En outre, si la baisse globale du rendement quantique d'émission est plutôt positive en termes d'efficacité de photolibération, elle peut toutefois être problématique pour le phénomène de transfert d'énergie. La présence de molécules d'eau à proximité directe du système π -conjugué du quadripôle A_4'' fait en effet chuter sensiblement son Φ_f lorsque la proportion d'eau augmente encore. La potentielle auto-organisation du système nous a conduits, pour remédier à cela, à développer en parallèle un système « amphiphile » conservant un cœur fluorène lipophile.

III. Synthèse de tétrades pour la libération d'agents anticancéreux

Les tétrades, systèmes coopératifs comportant trois antennes pour une seule cage, ont été imaginées en parallèle des dyades et triades. Le cœur de ces systèmes est désigné de façon à garder une certaine lipophilie pour empêcher un *quenching* de fluorescence trop important. Les groupements hydrosolubilisants sont disposés à la périphérie du quadripôle, ce qui confère à l'édifice un certain caractère amphiphile pouvant à terme entraîner de l'auto-assemblage en solution.

Face aux difficultés de synthèse rencontrées avec la chimie des coumarines, des cages de la famille des biphényles ont brièvement été considérées. Les décageurs du type EANBP sont en effet potentiellement compatibles avec l'approche coopérative mise en œuvre. Toutefois, les premiers essais de synthèse ont montré de sérieuses difficultés pour l'obtention des acides boroniques (ou esters boroniques) nécessaires à la formation du biphenyle. Notre choix s'est finalement porté sur l'analogue nitrodiphénylacétylène (NDPA) rapporté récemment par Schelke *et al.* Celui-ci présente en effet un rendement quantique de photolibération de 22% pour un acide carboxylique, et un système push-pull étendu lui conférant une absorption autour de 400 nm. Un analogue de ce composé, greffable par une fonction amine terminable, a alors été développé (schéma IV.12). À ce module décageur (NHBoc)NDPA-[CLB] vient s'ajouter le dérivé coumarine (NHBoc)DEAC450-[CLB], dont la majorité de la synthèse a été présentée dans le chapitre III.

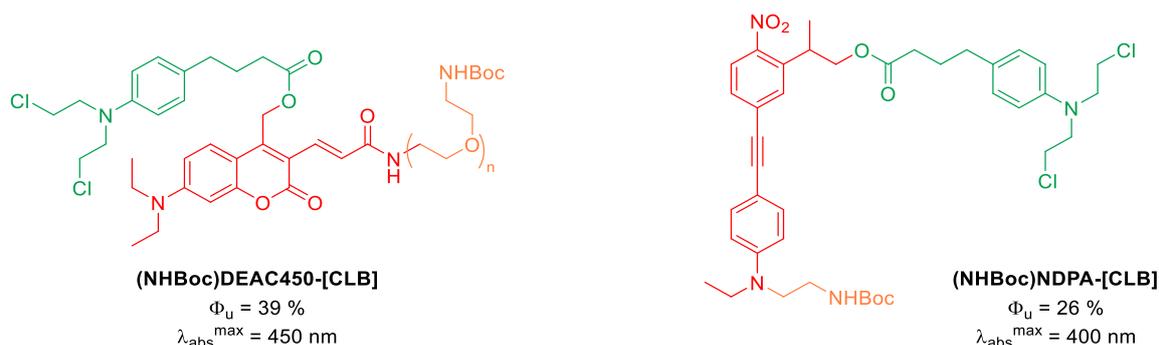


Schéma IV.11 : Modules décageurs greffables par fonction amine ciblés pour l'élaboration de tétrades décageant des agents anticancéreux.

III.1. Synthèse d'un module décageur diphenylacétylène greffable

Contrairement aux biphényles envisagés dans un premier temps, la synthèse du module NDPA est ici basée sur des couplages de Sonogashira tolérant de nombreux groupements fonctionnels. Le module décageur peut être divisé en trois synthons (schéma IV.13) : la partie aromatique supérieure électroattractrice et responsable de la photochimie, comme dans les cages de la famille NPPOC. La partie aromatique inférieure, électrodonneuse et comportant une fonction amine terminale protégée, est connectée par un lien éthyne pour étendre le système π -conjugué. Une synthèse convergente, telle que décrite dans la littérature,^[124,125] a été choisie et adaptée à nos besoins. Les deux parties aromatiques sont ainsi synthétisées séparément pour ensuite être assemblées par couplages de Sonogashira.

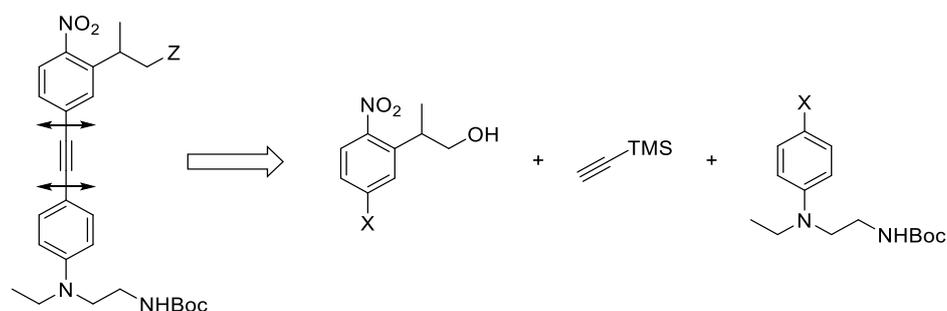


Schéma IV.12 : Approche rétrosynthétique de la cage NDPA.

III.1.1. Préparation du synthon aromatique attracteur

La partie aromatique supérieure, décrite dans la littérature,^[124] est obtenue en trois étapes à partir du 1-bromo-4-nitrobenzène **182** disponible commercialement (schéma IV.14). La première étape est une « substitution nucléophile aromatique indirecte ». Cette réaction de substitution des hydrogènes d'un nitroarène,^[270] est utilisée ici pour introduire le groupement acétate de *tert*-butyle en position *ortho* du nitro. Le carbanion nitrobenzylique formé au cours du mécanisme réactionnel présente une couleur bleue très caractéristique liée à sa très forte

conjugaison, qui est un indicateur de l'addition nucléophile sur le dérivé aromatique. Le choix d'utiliser à la fois le *tert*-butanolate de potassium et le réactif ester de *tert*-butyle permet d'éviter tout problème éventuel de transestérification. Par ailleurs, la réactivité et la sélectivité de cette réaction est contrôlée par la présence du groupe nitro électroattracteur sur le cycle aromatique. Le groupe nitro étant *ortho/para* directeur et la position *para* bloquée, le rendement en produit substitué **183** est finalement presque quantitatif.

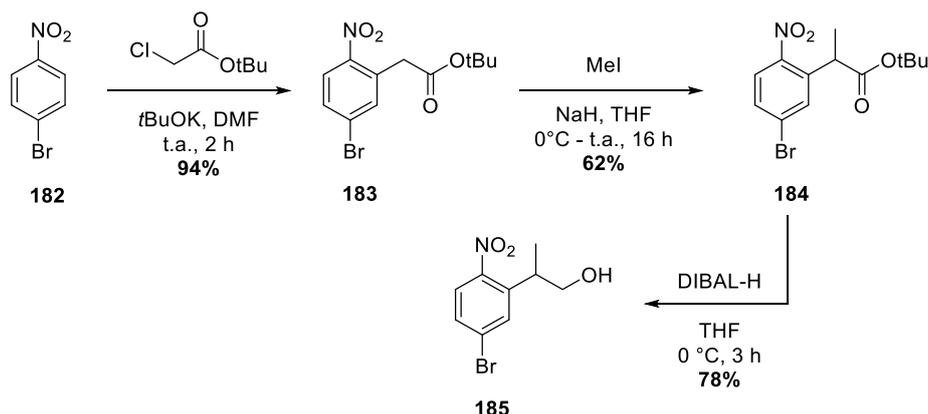


Schéma IV.13 : Synthèse de la partie aromatique électroattractrice.

La seconde étape est l'alkylation du carbone en position benzylique sur le composé **183**. Cette position est rendue doublement réactive, d'une part à cause des effets électroniques du cycle aromatique, mais aussi parce qu'elle se situe en α du carbonyle de l'ester qui a un effet électroattracteur et aura donc tendance à abaisser le pKa. Dans un premier temps, le mono-anion est préformé en ajoutant un seul équivalent de NaH à une solution de **183** dans le THF à 0 °C. L'observation d'un dégagement gazeux de H₂ et l'apparition d'une coloration bleue après 10 minutes d'agitation confirment la formation de l'anion. L'iodure de méthyle est alors ajouté et la réaction est poursuivie à température ambiante pendant une nuit. Le produit mono-alkylé **184** est obtenu après purification sur colonne de silice avec un rendement de 62%.

La dernière étape est une réduction de l'ester en alcool avec de l'hydrure de diisobutylaluminium. L'emploi de DIBAL-H est ici préféré à celui d'autres agents réducteurs tels que LiAlH₄, plus classiquement employé pour la réduction des fonctions esters, afin d'éviter tout problème de déhalogénéation du cycle aromatique et d'éventuelle réaction parasite avec la fonction nitro. Deux équivalents d'hydrures sont nécessaires à la réduction de l'ester. L'alcool **185** formé suite à l'hydrolyse acide, est isolé avec un bon rendement.

III.1.2. Préparation du synthon aromatique donneur avec espaceur greffable

La partie « inférieure » de la cage NDPA, initialement décrite par Schelke *et al.* avec des chaînes diéthylène glycol, a ici été modifiée de façon à introduire une amine greffable. Plutôt que de conserver l'espaceur éthylène glycol, qui impliquerait de procéder à deux alkylation de la 4-iodoaniline, nous avons décidé d'opter pour un espaceur aliphatique court. De cette façon, la synthèse est raccourcie, et réalisée à partir de la *N*-Éthyl-*N*-hydroxyéthylaniline **101**, disponible commercialement et déjà rencontrée dans le chapitre II (schéma IV.15).

L'introduction de la fonction amine terminale à partir du synthon de départ **101** est alors réalisée par une séquence de trois étapes sans purification. Une réaction de méthylation de l'alcool **101** est tout d'abord réalisée. Le méthylate, formé en une heure, n'est pas isolé, mais directement substitué par ajout d'azoture de sodium dans le DMSO. L'azoture **186** est ainsi obtenu avec un rendement quantitatif sur grande quantité, selon cette procédure décrite dans la littérature.^[271]

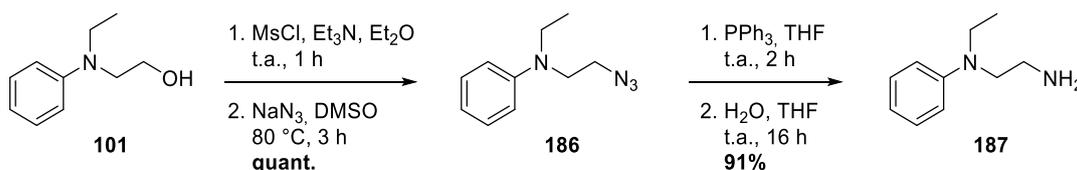
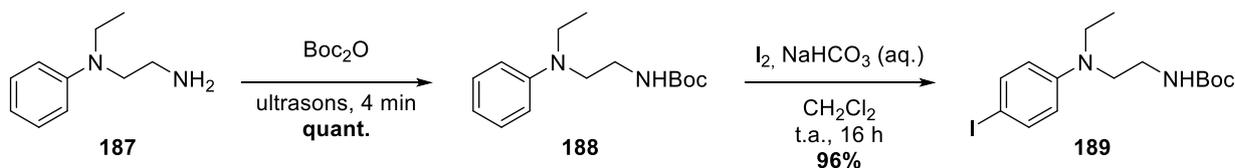


Schéma IV.14 : Préparation de l'amine **187** par une séquence de méthylation, substitution, et réduction.

La fonction azoture est ensuite réduite par réaction de Staudinger en présence de triphénylphosphine. Après hydrolyse de l'imino-phosphorane formé au cours de la réaction, l'amine **187** est purifiée par une série de traitements acido-basiques permettant d'éliminer l'oxyde de triphénylphosphine. L'intermédiaire **187** est alors obtenu à l'échelle de plusieurs grammes avec un rendement presque quantitatif sur ces trois étapes.

Pour des raisons pratiques, la fonction amine terminale a ensuite été protégée par traitement avec une quantité stœchiométrique de dicarbonate de di-*tert*-butyle. Le produit **187** étant une huile, cette réaction de protection a été réalisée sans solvant, par ajout direct de Boc₂O dans un ballon placé dans un bain à ultrasons (schéma IV.16). La fin du dégagement de CO₂ caractéristique de la réaction de protection est notée après 4 minutes, et la CCM montre effectivement la conversion totale du produit de départ. Le produit **188** est alors séché sous vide pour éliminer les traces de *tert*-butanol formé au cours de la réaction, et obtenu pur avec un rendement quantitatif.

Schéma IV.15 : Synthèse de l'intermédiaire iodé **189**.

L'intermédiaire **188** est ensuite iodé dans les conditions électrophiles utilisées sur les synthons voisins présentés dans le chapitre II. La réaction est ici tout aussi efficace, et le produit iodé est obtenu avec un rendement de 96% sans purification. Il faut noter que cette série de 5 étapes peut être réalisée sur des échelles de plusieurs grammes puisqu'elle ne nécessite que des traitements aqueux, et que le produit est obtenu **189** avec un rendement global de 87%.

III.1.3. Assemblage du module décageur par couplages de Sonogashira

L'obtention des deux intermédiaires halogénés **185** et **189** permet d'envisager l'assemblage de la structure *push-pull* par couplages organométalliques. Un couplage de Suzuki-Miyaura a un temps été envisagé pour former un analogue greffable de l'EANBP, mais nos efforts se sont rapidement concentrés sur le couplage de Sonogashira aboutissant à la formation d'un dérivé du tolane.

L'introduction du lien acétylénique est alors effectuée par couplage croisé entre l'intermédiaire donneur **189** et le TMSA dans les conditions décrites précédemment dans ce manuscrit (schéma IV.17). L'alcyne protégé **190** est obtenu avec un très bon rendement de 88% après purification.

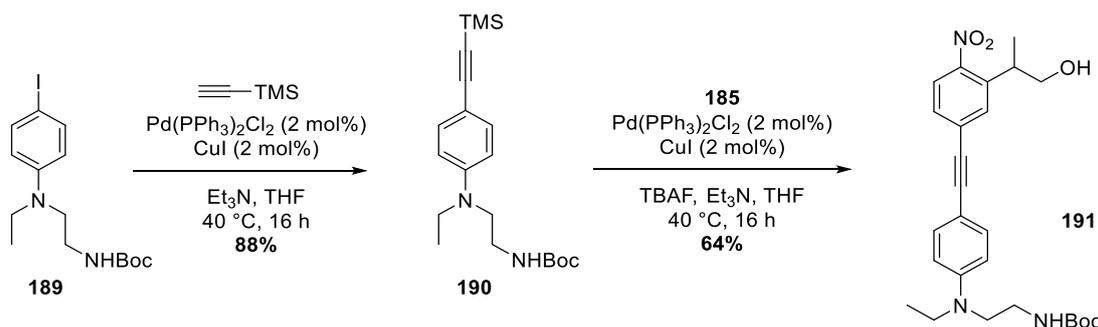


Schéma IV.16 : Assemblage des parties aromatiques électrodonneuse et électroattractrice par double couplage de Sonogashira.

Une seconde réaction de Sonogashira est ensuite effectuée dans les mêmes conditions que précédemment entre **190** et **185**, avec déprotection du groupement triméthylsilyle par introduction de TBAF *in situ*. Par cette séquence, le diphenylacétylène **191** correspondant est obtenu avec un bon rendement, et peut ensuite être utilisé pour cager le chlorambucil.

III.1.4. Protection des agents anticancéreux CLB et CPT

Le chlorambucil, l'agent anti-cancéreux modèle considéré dans cette étude, est cagé sur les modules greffables NDPA et DEAC450 par estérification en présence d'un agent de couplage, dans les mêmes conditions que dans le paragraphe II.1. La réaction est réalisée avec les alcools **162**, dérivé de la DEAC450 dérivé dont la synthèse est décrite dans le chapitre III, et **191** dérivé du NDPA (schéma IV.18).

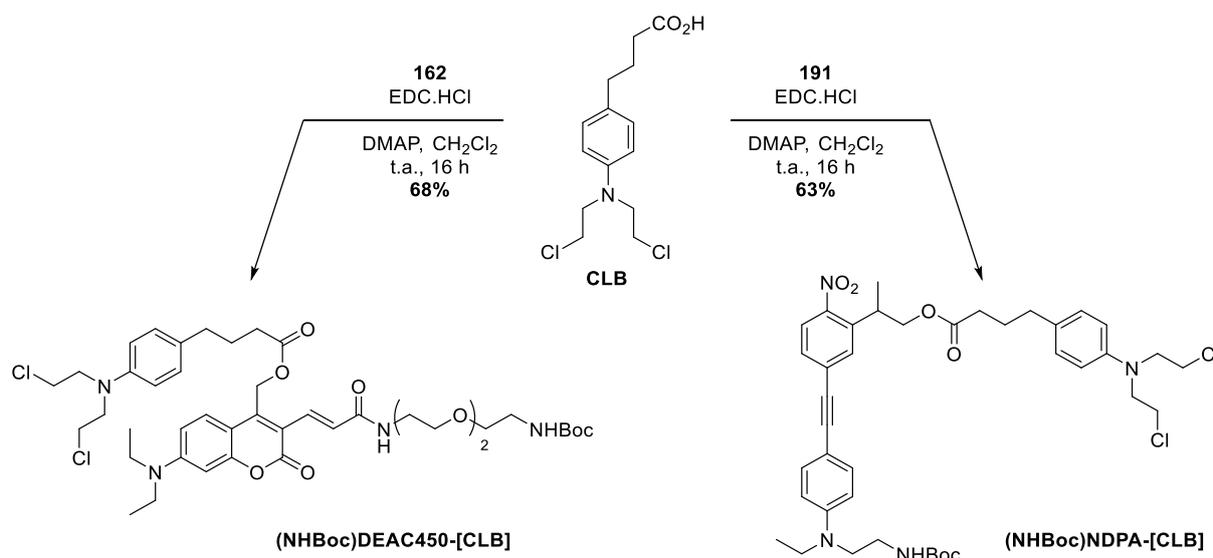


Schéma IV.17 : Synthèse des deux analogues cagés du chlorambucil.

La synthèse et la purification des modules sont réalisées en salle noire avec une attention particulière compte tenu de la nature cytotoxique de CLB. Les versions cagées et greffables de CLB (NHBoc)NDPA-[CLB] et (NHBoc)DEAC450-[CLB] sont alors obtenues avec des rendements très semblables. Ces deux intermédiaires sont alors conservés au congélateur à -20 °C jusqu'à l'étape d'assemblage de la tétrade.

Dans l'optique d'étendre notre étude à d'autres agents anticancéreux, la camptothécine a aussi été cagée sur les modules décageurs greffables disponibles. La structure chimique de la CPT implique de greffer le module PPG sur la fonction alcool tertiaire par l'intermédiaire d'un lien carbonate. La fonction carbonate implique généralement une photolyse plus lente, conditionnée à la réaction de décarboxylation qui génère du CO₂ dans le milieu. Elle est toutefois potentiellement plus résistante dans le milieu cellulaire, et prémunirait du risque de libération de l'agent anticancéreux avant irradiation.

La synthèse des nouveaux modules décageurs coumarine et NDPA correspondant est réalisée en deux étapes successives (schéma IV.19). L'alcool de la camptothécine est d'abord mis en présence de carbonyle diimidazole pour former le carbamate intermédiaire **192**. Malgré la position très encombrée de ce centre asymétrique quaternaire, la réaction a lieu rapidement et efficacement. Cet intermédiaire est isolé quantitativement et caractérisé par RMN ^1H et ^{13}C . Il est ensuite rapidement engagé dans la réaction avec les modules décageurs **162** et **191**.

À la suite d'un traitement acide, les modules décageurs **(NHBoc)DEAC450-[CPT]** et **(NHBoc)NDPA-[CPT]**, sont obtenus sans plus de purification avec d'excellents rendements sur les deux étapes. Le greffage de ces modules sur la plateforme **P₄** aura lieu prochainement au laboratoire.

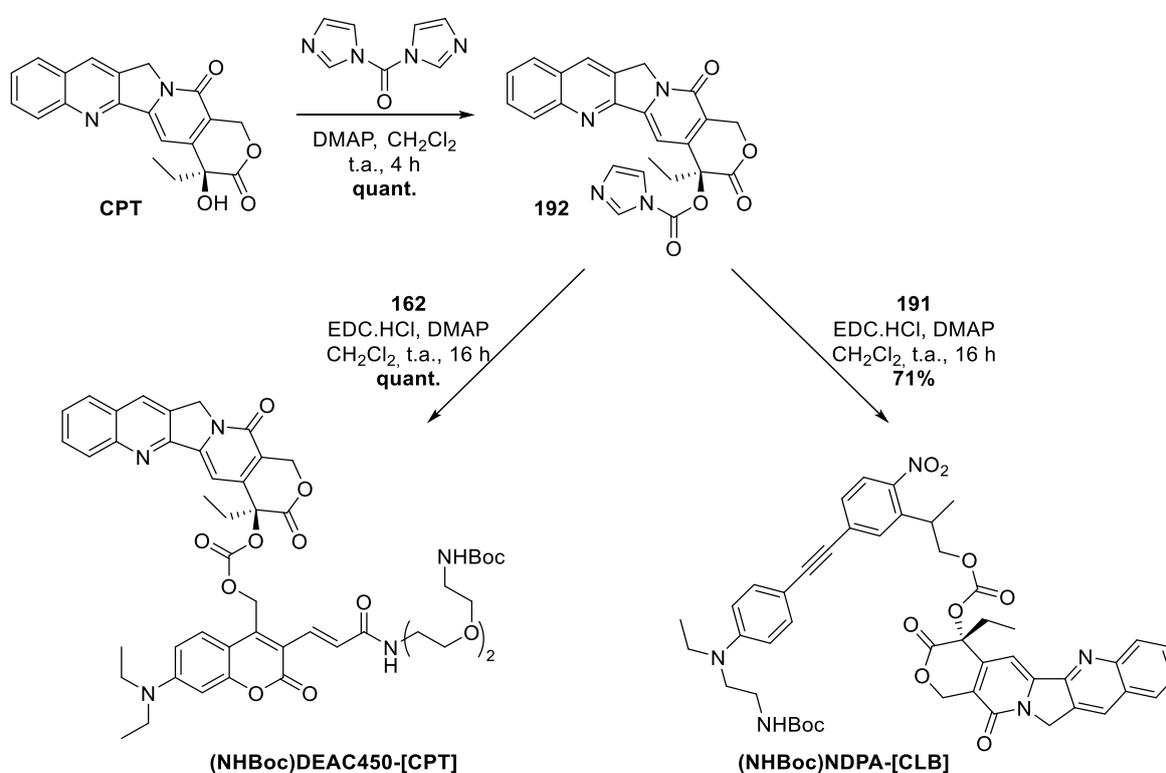


Schéma IV.18 : Préparation d'analogues NDPA et DEAC450 cageant l'anticancéreux CPT via une fonction carbonate.

III.1.5. Synthèse d'une référence PMNB pour la photolyse

En prévision d'expériences de photolyse comparative, et afin d'étendre notre panel de références, un décageur de structure voisine de la cage NDPA avait préalablement été synthétisé au laboratoire. Pour cela, ce dérivé biphenyle simple est préparé par une réaction de couplage de Suzuki entre le dérivé bromé **185** et l'ester boronique **193** disponible commercialement (schéma IV.20). Dans les conditions décrites par Specht *et al.*^[123] le produit de couplage désiré **194** est obtenu avec un rendement convenable de 70% après purification.

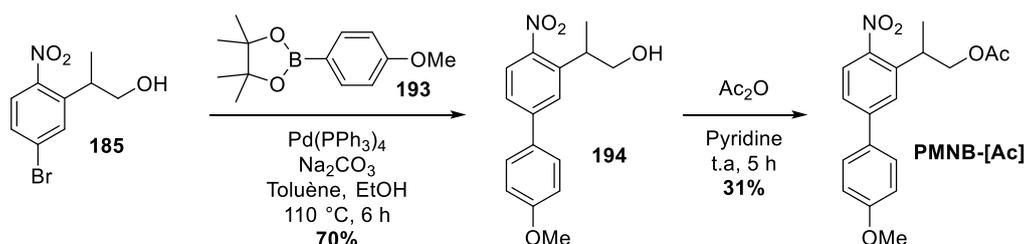


Schéma IV.19 : Synthèse du décapeur de référence PMNB-[Ac] par couplage de Suzuki et acétylation.

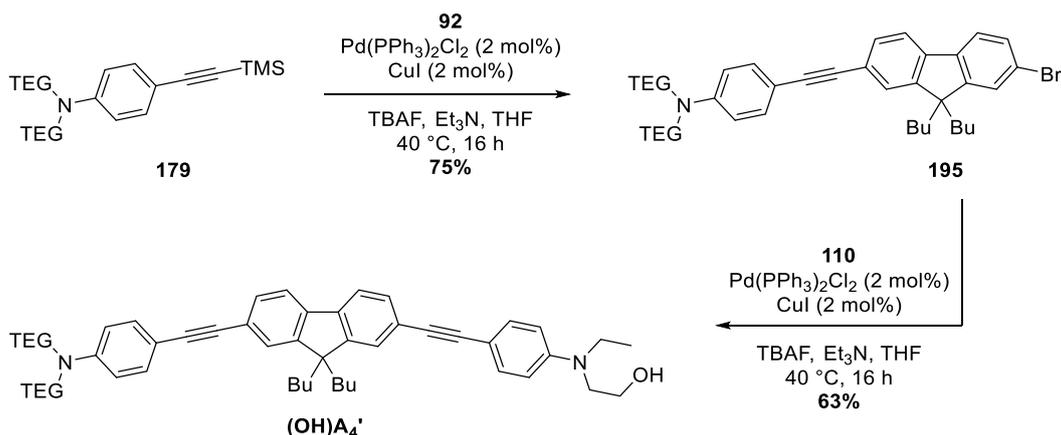
Pour plus de versatilité, il a ici été choisi de cager un acide carboxylique modèle. La fonction alcool du composé **194** a donc été estérifiée à température ambiante en utilisant un mélange d'anhydride acétique et de pyridine. Le rendement de la réaction est de 31 %, mais peut probablement être amélioré en utilisant du chlorure d'acétyle. Le décapeur de référence **PMNB-[Ac]** pourra être utilisé par la suite lors d'expériences d'irradiation à 365 nm.

III.2. Synthèse de l'antenne quadrupolaire

La synthèse de l'antenne quadrupolaire « amphiphile » (**DA4'**) est essentiellement semblable à celle des quadrupôles de la famille **A4**, et il s'agit principalement de changer la combinaison de synthons à partir de la liste de composés synthétisés précédemment.

Ainsi, le cœur 2,7-diromo-9,9-dibutylfluorène **92**, décrit dans le chapitre II, est couplé avec la branche amino-terminale hydrophile **179** en conditions de Sonogashira avec déprotection *in-situ* (schéma IV.21), en utilisant la même stratégie de désymétrisation. La purification sur gel de silice est ici facilitée par la très grande différence de polarité entre l'excès de fluorène et le produit attendu. Le produit de couplage mono-bromé **195** est alors isolé avec un rendement très satisfaisant.

L'intermédiaire bromé **195** est ensuite couplé avec le synthon portant la fonction de greffage désirée. Ici, l'intermédiaire **110** portant une fonction alcool primaire est sélectionné de façon à pouvoir ioder le quadrupôle en dernière étape, comme décrit dans le chapitre II. Le couplage de Sonogashira entre **195** et **110** donne donc accès au quadrupôle (**OH**)**A4'** avec un bon rendement après purification.

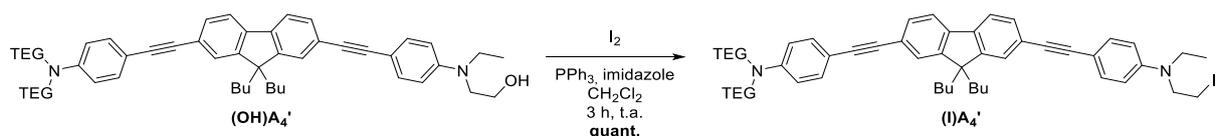
Schéma IV.20 : Synthèse du quadrupôle « amphiphile » (OH) A_4' par double couplage de Sonogashira.

Par ailleurs, au cours des investigations menées sur ces architectures coopératives hydrophiles, le quadrupôle (OH) A_4'' comportant aussi des chaînes TEG sur le cœur du fluorène a été synthétisé en couplant les intermédiaires **181** et **110** dans des conditions semblables (schéma IV.22). Il est obtenu avec un excellent rendement après purification, mais n'a finalement pas été utilisé dans la suite de ces travaux.



Schéma IV.21 : Synthèse d'un quadrupôle hydrophile greffable par une fonction alcool.

La dernière étape de synthèse consiste à modifier la fonction de greffage du quadrupôle afin de la rendre compatible avec le mode de greffage imposé par la plateforme acide gallique. Pour cela, le groupement hydroxyle terminal présent sur le quadrupôle (OH) A_4' est remplacé par un atome d'iode en vue d'effectuer la triple alkylation des phénols de la plateforme. L'iodation est effectuée dans les conditions de Garegg (Schéma IV.23), avec un rendement quantitatif lié à l'utilisation de triphénylphosphine supportée sur résine, qui facilite la séparation de l'oxyde de triphénylphosphine du milieu et nous affranchit de purification sur colonne. Le module final (**I**) A_4' est alors prêt à être introduit sur la plateforme.

Schéma IV.22 : Synthèse du quadrupôle (I) A_4' par iodation dans les conditions de Garegg.

III.3. Assemblage des modules

L'assemblage final de la tétrade (schémas IV.24-26) a lieu en trois étapes consécutives en partant du propyl gallate commercial **P₄**, analogue à l'acide gallique mais dont la fonction acide carboxylique est protégée par un ester propylique. Le chromophore est additionné sur la plateforme par une substitution nucléophile de l'oxygène sur l'iode du chromophore, dans des conditions classiques de réaction de Williamson.

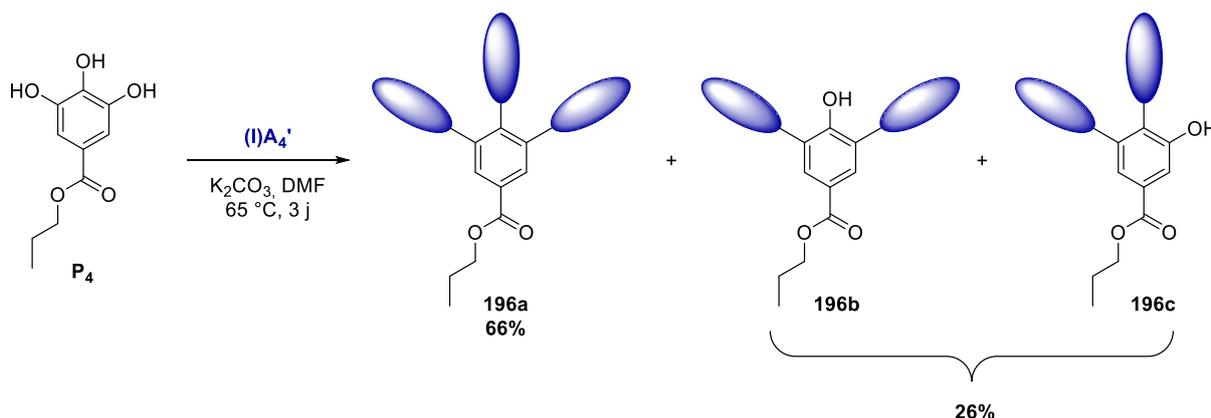


Schéma IV.23 : Fonctionnalisation de la plateforme propyl gallate par le quadropole **(I)-A₄'**.

Un léger excès de module quadropolaire **(I)-A₄'** est introduit de façon à fonctionnaliser au maximum l'acide gallique, et maximiser les propriétés d'absorption à deux photons. Les trois phénols n'ont intrinsèquement pas la même réactivité. Le phénol en *para* de la fonction ester est en effet moins réactif et plus encombré que ceux se situant en *mé*ta, et le milieu réactionnel est donc chauffé à $65\text{ }^\circ\text{C}$ pendant trois jours de façon à optimiser les chances de former le produit trisubstitué **196a** qui est finalement obtenu avec un bon rendement.

Le mélange réactionnel montre la formation de plusieurs produits présentant des schémas de substitution différents. Une chromatographie sur gel de silice a permis d'isoler plusieurs fractions qui ont toutes été analysées en spectrométrie MALDI. Les spectres de masse obtenus confirment que, sur les quatre fractions isolées, deux correspondent aux produits disubstitués **196b** et **196c** qui sont formés à hauteur de 26%. La fraction la plus polaire correspond quant à elle au produit trisubstitué attendu, isolé avec un rendement de 66%.

Afin de pouvoir greffer la cage par liaison peptidique, l'étape de déprotection de l'acide carboxylique est réalisée consécutivement. Cette déprotection est effectuée dans des conditions classiques de saponification, en utilisant de la soude dans du méthanol à reflux, et en ajoutant

du THF dans le milieu pour améliorer la solubilité du mélange (schéma IV.25). Compte tenu de sa masse importante, l'acide carboxylique peut être purifié par dialyse après traitement acide.

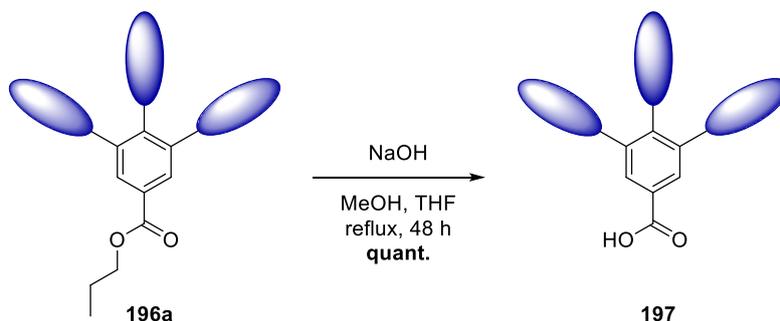


Schéma IV.24 : Déprotection de la fonction acide de l'intermédiaire **197** en conditions basiques.

Les modules décageurs (NHBoc)NDPA-[CLB] et (NHBoc)DEAC450-[CLB] ont été conçus de façon à pouvoir être introduits par couplage peptidique sur l'acide **197**, formant ainsi la liaison amide qui est un lien solide en conditions physiologiques. Dans cette optique, leurs fonctions amines terminales sont préalablement déprotégées en conditions acides en utilisant de l'acide chlorhydrique dans du dioxane. Une fois les chlorhydrates obtenus, ils sont couplés à l'intermédiaire trisubstitué **197** en présence d'EDC et d'une base (schéma IV.26).

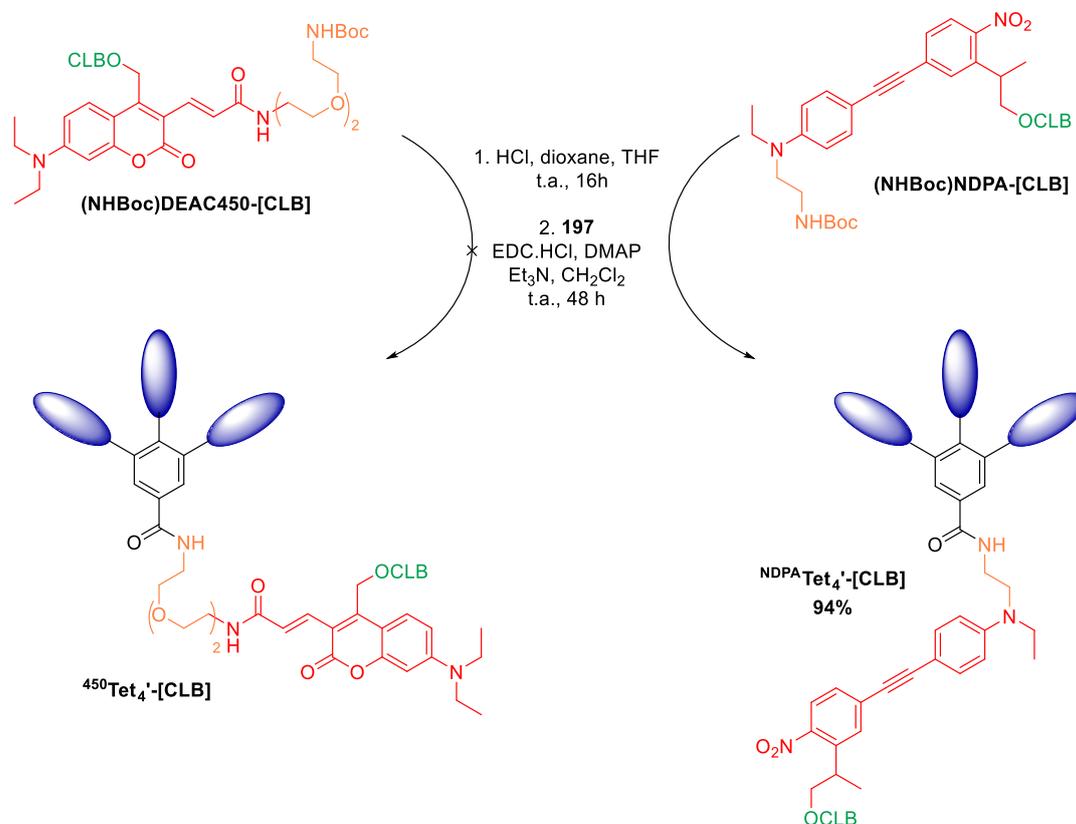


Schéma IV.25 : Greffage des cages (NHBoc)DEAC450-[CLB] et (NHBoc)NDPA-[CLB] sur la plateforme acide gallique par une séquence de déprotection et couplage peptidique.

Pour une raison inconnue, la réaction de couplage entre la coumarine et l'acide **197** n'a malheureusement pas permis d'isoler la tétrade **⁴⁵⁰Tet4'** visée. La réaction conduit à un mélange complexe de produits qui n'ont pas pu être séparés sur colonne de silice du fait de leur très forte polarité et potentielle instabilité.

Dans le cas du module NDPA cependant, la formation du produit est bien observée sur plaque CCM. Pour éviter une purification sur colonne de silice en salle noire sur un produit aussi sensible, le produit brut est purifié par dialyse avec une membrane de 1 kDa afin d'évacuer les potentiels résidus de cage n'ayant pas réagi. La spectroscopie MALDI confirme sans équivoque que le produit est formé, toutefois la RMN ¹H de la tétrade **^{NDPA}Tet4'** est difficile à interpréter, avec des signaux très larges traduisant de probables interactions entre systèmes aromatiques, et indique que le produit est impur. Dans l'attente d'une optimisation de la voie de synthèse et des conditions de purification, en cours au laboratoire, des études spectroscopiques préliminaires ont cependant pu être effectuées sur ce dernier de façon à évaluer ses propriétés optiques.

III.4. Caractérisation photophysique

Les propriétés spectroscopiques de la cage de référence **(NHBoc)NDPA-[CLB]**, du nouveau quadropôle absorbeur à deux photons **(OH)A4'**, et de la tétrade **^{NDPA}Tet4'-[CLB]** ont été mesurées dans deux solvants différents : le chloroforme, solvant organique modèle déjà utilisé dans le cas des dyades, mais également un mélange DMSO/H₂O (95/5, v/v), beaucoup plus polaire et se rapprochant plus des conditions physiologiques (cf. tableau IV.4).

Tableau IV.4. Propriétés optiques à un photon de la tétrade, et des sous-unités correspondantes dans CHCl₃ et dans un mélange DMSO/H₂O (95/5, v/v).

| Solvant | Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | ϵ^{max} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ [nm] | $\Phi_f^{\text{[a]}}$ |
|---------------------------------|--|---|---|--|-----------------------|
| CHCl ₃ | A₄' | 381 | 6.10 ⁴ | 427 | 0,67 |
| | NDPA | 388 | 1,1.10 ⁴ | 660 | _[b] |
| | ^{NDPA}Tet₄' | 379 | 2.10 ⁵ | 430 | 0,42 |
| DMSO/H ₂ O (95/5) | A₄' | 391 | 8,7.10 ⁴ | 506 | 0,58 |
| | NDPA | 392 | 1,3.10 ⁴ | _[b] | _[c] |
| | ^{NDPA}Tet₄' | 387 | 4,2.10 ⁵ | 508 | 0,46 |

[a] Rendement quantique de fluorescence, standard : FLSCN dans NaOH 0.1 M ($\Phi_f = 0.90$). [b] Aucune émission observée.

[c] Pas d'émission observée dans les mêmes conditions de mesure que la référence.

III.4.1. Propriétés d'optique linéaire et solvatochromie

Les propriétés optiques des trois composés considérés montrent des longueurs d'onde d'absorption maximale $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ très voisines dans les deux solvants étudiés. Ceci implique que, lorsque la tétrade est excitée à la longueur d'onde d'irradiation choisie pour la photolyse à un photon (365 nm), la cage sera excitée à la fois directement, et, en cas de FRET, indirectement par l'intermédiaire des antennes.

Un effet hyperchrome très prononcé est mis en évidence sur les trois composés au maximum de leur bande d'absorption. En particulier, le coefficient d'extinction molaire de la tétrade dans le mélange DMSO/H₂O atteint une valeur 1,5 fois supérieure à la somme des absorptions des modules (figure IV.4), traduisant cette fois un effet coopératif très positif. Dans le chloroforme, cet effet s'estompe et les spectres additionnés et mesurés se superposent bien, indiquant qu'il n'y a pas d'interaction entre les modules à l'état fondamental.

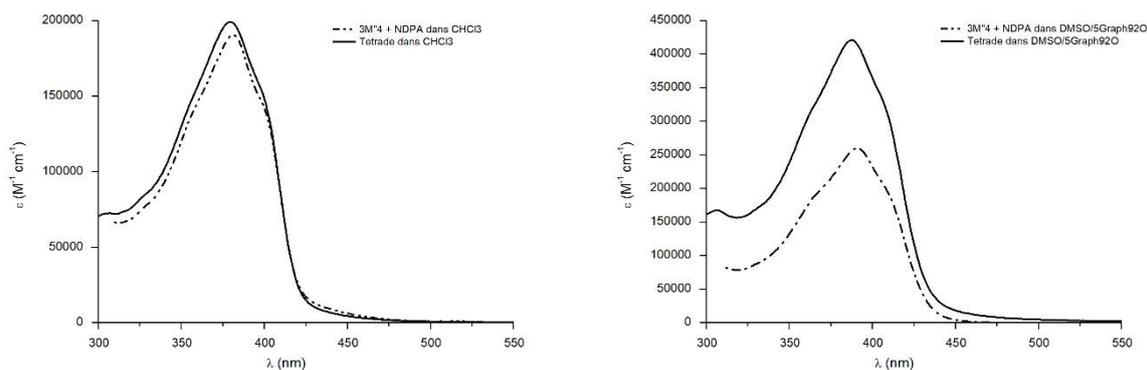


Figure IV.4 : Superposition des spectres d'absorption de la tétrade et de la somme des modules dans CHCl_3 (à gauche), et dans DMSO/H₂O (95/5, v/v) (à droite).

Les propriétés mesurées dans les deux solvants montrent aussi un caractère solvatochrome positif pour l'émission de l'antenne quadrupolaire **A₄'** (figure IV.5), qui se retrouve logiquement dans la tétrade **^{NDPA}Tet₄'**. Dans les deux composés, la bande d'émission se décale de 80 nm avec l'augmentation de polarité. Ce décalage est accompagné d'un élargissement du spectre d'émission, qui s'étend jusqu'à 700 nm dans le mélange DMSO/H₂O.

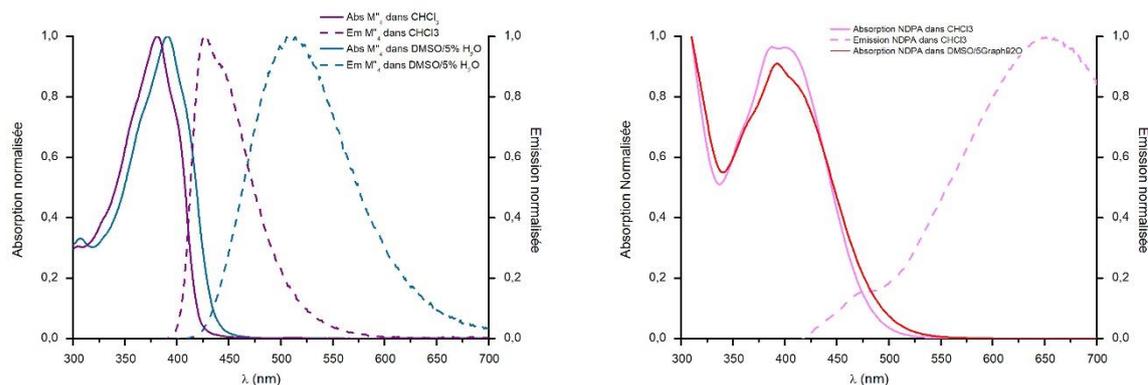


Figure IV.5 : Spectres d'absorption et d'émission de A_4' dans $CHCl_3$ et dans $DMSO/H_2O$ (95/5, v/v) (à gauche), et du module décaage NDPA dans $CHCl_3$ et dans $DMSO/H_2O$ (95/5, v/v) (à droite).

Au contraire, le spectre d'absorption des trois composés est, lui, très peu solvatochrome. En particulier, la bande d'absorption du composé **NDPA** reste presque inchangée avec l'augmentation de polarité. Cette différence de caractère entre l'émission du quadrupôle et l'absorption de la cage implique un certain nombre de conséquences au niveau du transfert d'énergie.

III.4.2. Recouvrement spectral et transfert d'énergie

Les propriétés d'émission des modules et de la tétrade montrent que, contrairement à la cage DEAC450, le NDPA de la famille des tolanes est très peu fluorescent. Une très faible émission rouge est enregistrée dans le chloroforme, mais celle-ci disparaît en présence d'eau. Ce caractère très peu émissif est caractéristique de beaucoup de dérivés nitrobenzènes, et se retrouvait aussi dans les dérivés *o*NV et MNI du chapitre II. La tétrade, elle, enregistre une baisse de rendement quantique d'émission de 12 à 25%, respectivement dans le mélange $DMSO/H_2O$ et dans le chloroforme, par rapport à la valeur mesurée pour le motif quadrupolaire isolé. Ces observations indiquent potentiellement la présence de transfert d'énergie. Néanmoins cette faible extinction de fluorescence montre que, contrairement au cas de la triade, le transfert n'est pas total.

La superposition entre les spectres d'émission du chromophore et d'absorption de la cage dans les deux solvants d'étude confirme la tendance indiquée par les valeurs de Φ_f . En effet, de par le caractère solvatochrome prononcé du quadrupôle (**OH**) A_4' , le recouvrement est largement meilleur dans le chloroforme que dans le mélange $DMSO/H_2O$ considéré, ce qui entérine la baisse de Φ_f deux fois moindre enregistrée dans ce milieu.

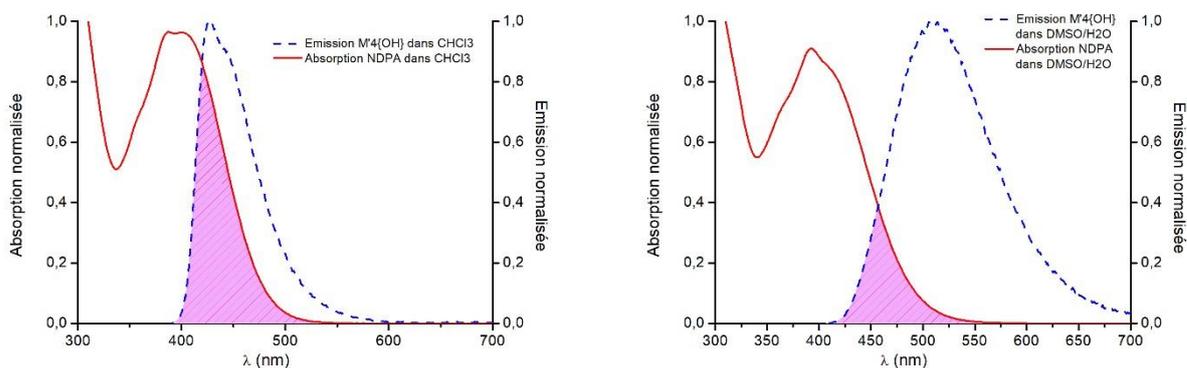


Figure IV.6 : Recouvrement entre les spectres d'émission du donneur quadrupolaire et de l'accepteur NDPA dans CHCl_3 (à gauche) et dans $\text{DMSO}/\text{H}_2\text{O}$ (95/5, v/v) (à droite).

Les données photophysiques collectées nous ont permis, à partir de l'équation I.33, de déterminer un rayon de Förster pour notre système en milieu aqueux. En négligeant les potentiels effets d'assemblage et en choisissant encore une valeur de $\kappa^2 = 2/3$, la distance à laquelle l'antenne transmet la moitié de son énergie à la cage est alors évaluée à 2,9 nm. Cette valeur, en accord avec la distance évaluée pour la triade dans le dichlorométhane, indique que le rayon de Förster est peu affecté par la polarité du milieu dans le cas de nos systèmes.

Finalement, bien que le recouvrement soit moins important que dans le cas des coumarines du chapitre III, il reste largement supérieur à celui des dyades synergiques basées sur l'*o*NV et le MNI. Des expériences de photolyse à un photon sont en cours d'élaboration au laboratoire pour pouvoir suivre la libération du chlorambucil par HPLC. Le tracé des cinétiques comparatives permettra d'évaluer l'efficacité photochimique de cette nouvelle tétrade et de confirmer ou non la compatibilité entre les cages NDPA et l'antenne quadrupolaire ; en mettant en perspective les résultats enregistrés dans les systèmes coopératifs $^{\text{NI}}\text{D}_4$ et $^{450}\text{T}_4$ synthétisés précédemment.

III.4.3. Propriétés d'optique non-linéaire

Les propriétés d'absorption à deux photons de la tétrade ont été évaluées dans le DMSO (figure IV.7). Les résultats montrent une bande d'absorption intense centrée à 720 nm, qui correspond à la transition fortement autorisée à deux-photons dans les systèmes centrosymétriques. L'épaule localisée à 790 nm possède une intensité 4 fois moindre. Il coïncide avec la bande interdite située à $2\lambda_{\text{IPA}}^{\text{max}}$ des antennes quadrupolaires, à laquelle s'ajoute la contribution de la cage NDPA dipolaire.

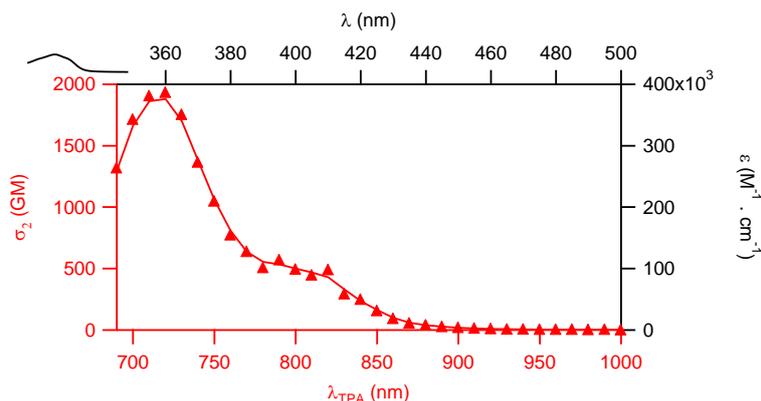


Figure IV.7 : Spectre d'absorption à deux photons issu d'expériences de TPEF de la tétrade $NDPATet_4'$ (rouge) dans le DMSO. Le spectre d'absorption à un photon (noir) du composé est donné à titre comparatif.

La valeur de σ_2^{\max} déterminée par expérience de TPEF s'élève ici à 1930 GM dans la bande localisée à 720 nm. À la longueur d'onde d'excitation de la cage seule (800 nm), le σ_2 enregistré atteint tout de même 570 GM grâce à la contribution des antennes A_4' .

Ces valeurs sont assez largement inférieures à la réponse attendue dans un système à trois antennes. Elles sont ici données à titre indicatif, mais sont à mettre en perspective en tenant compte du phénomène d'*uncaging* ayant lieu lors de l'excitation par le laser. Si la cinétique de photolibération à deux photons est aussi rapide que dans le cas de la triade $^{450}T_4$ (cf. chapitre III.), les valeurs en seraient largement faussées, et il serait difficile de conclure sur le σ_2 par le biais de mesures de TPEF.

IV. Conclusions

Dans ce chapitre, l'approche modulaire mise en place depuis le début de ce manuscrit a été adaptée à des systèmes plus hydrophiles synthétisés pour la photolibération de neuromessagers et d'actifs anticancéreux. Dans le premier cas, la synthèse d'antennes quadrupolaires a été adaptée de façon à incorporer autant de chaînes triéthylène glycol que possible. Cette nouvelle antenne a alors été utilisée pour synthétiser avec succès un analogue à la triade $^{450}T_4$ présentée dans le chapitre III, possédant huit chaînes TEG et adaptée à la photolibération de GABA. Si la triade en version hydrophile $^{450}T_4''$ conserve bien *a priori* le transfert d'énergie, les études photophysiques préliminaires montrent une perte non négligeable du caractère émissif de l'antenne qui pourrait altérer l'efficacité du mécanisme de transfert d'énergie. La solvatochromie de ces antennes quadrupolaires est aussi responsable d'une perte du recouvrement spectral dans la paire donneur-accepteur mise en jeu.

Dans le second cas, l'antenne quadrupolaire **A₄'** a été conçue de façon à conserver un cœur lipophile, et limiter ainsi cette perte de fluorescence. La tétrade **^{NDPA}Tet₄'**, dans laquelle l'agent anticancéreux CLB est cagé par l'intermédiaire d'un dérivé NDPA, reste cette fois soluble et fluorescente à des concentrations de l'ordre de $5 \cdot 10^{-5}$ M avec 20% d'eau dans le milieu. Avec des valeurs de σ_2 de l'ordre de 2000 GM à 720 nm (dans le DMSO), elle pourrait représenter un décapeur coopératif particulièrement efficace si la photochimie de la sous-unité NDPA n'est pas impactée.

En définitive, malgré des performances de photolibération à deux photons potentiellement remarquables pour les triades et tétrades synthétisées dans ce chapitre, les limites de l'approche coopérative ont peut-être été mises en évidence en abordant la problématique du milieu aqueux. En effet, ces imposantes molécules aromatiques nécessitent fondamentalement des efforts de synthèse importants pour incorporer des motifs hydrosolubilisants à leur structure. Malgré cela, les composés **⁴⁵⁰T₄'-[GABA]** et **^{NDPA}Tet₄'-[CLB]** synthétisés, comportant respectivement huit et six chaînes TEG, ne sont solubles qu'à des concentrations largement inférieures à 10^{-4} M, et uniquement en présence d'une quantité minimale de solvant organique. En outre, le caractère peu émissif des antennes quadrupolaires du type **A₄** dans l'eau, et l'importante perte de recouvrement spectral liée à leur émission très solvatochrome peuvent également être des freins pour la coopérativité et l'utilité du concept.

En cela, une approche différente basée sur l'incorporation des composés au sein de vésicules ou émulsions de taille contrôlée pourrait être une alternative très prometteuse. Au-delà de la relative accessibilité de synthèse des systèmes coopératifs lipophiles, le nano-environnement interne à la vésicule présenterait alors une polarité moindre qui permettrait de s'affranchir des phénomènes photophysiques parasites énumérés ci-dessus. Le devenir de la molécule décaagée dans ce nano-environnement et son passage dans le milieu physiologique restent toutefois la principale inconnue. Des travaux seront prochainement menés en ce sens au laboratoire.

En ce qui concerne la tétrade amphiphile, l'étude sera prochainement complétée en reproduisant et en optimisant la synthèse, puis en réalisant les expériences de photolyse à un et deux photons. Des perspectives dépassant le cadre moléculaire pourront être envisagées dans le futur. Il serait en effet intéressant de repenser la synthèse de façon à inclure de longues chaînes PEG en dernière étape, et d'étudier le potentiel d'assemblage de ces systèmes amphiphiles en nano-objets vésiculaires, qui permettrait alors de s'affranchir de tensioactifs.

En guise d'alternative à cette stratégie de formulation de nano-objets cinétiquement stables, et plutôt que de modifier en profondeur la synthèse des systèmes coopératifs pour les rendre plus hydrophiles, nous avons aussi orienté nos travaux vers la fonctionnalisation par chimie de surface de nouvelles nano-plateformes, intrinsèquement fluorescentes et hydrosolubles.¹

¹ Ces travaux ne seront pas présentés dans ce manuscrit pour des raisons de confidentialité liées à un dépôt de brevet.

Chapitre V.

Études structurales de nouveaux décageurs dipolaires et quadrupolaires de la famille des coumarines.

I. Optimisation de la photosensibilité des cages de la famille des coumarines : hypothèses et cibles

Dans les chapitres précédents ont été présentés des systèmes répondant à la stratégie de coopérativité, décorrélant les phénomènes d'absorption et de photochimie. Comme en atteste par exemple la performance de photolibération à deux photons de la triade $^{450}\text{T}_4$, les résultats obtenus par cette approche sont très intéressants et largement supérieurs à tous les autres décageurs parus à ce jour. Toutefois, la synthèse de ces objets est longue et parfois fastidieuse, et la taille des molécules conçues est un frein à la solubilité et à certaines applications. Pour cela, au cours de nos investigations, nous avons souhaité nous intéresser aussi à la stratégie la plus commune qui consiste à apporter des modifications structurelles directement sur le système π -conjugué de décageurs connus.

Comme présenté dans le chapitre I, il est en effet possible d'augmenter les performances de photolibération à deux photons par des modifications de la structure du chromophore ; notamment au niveau de la longueur de conjugaison et du transfert de charge intramoléculaire. Ces évolutions permettent théoriquement d'augmenter la section efficace d'absorption à deux photons σ_2 . Toutefois le Φ_u reste, lui, un paramètre imprévisible, et il est à l'heure actuelle difficile de baser une stratégie de design sur cette grandeur. Aussi, au-delà de l'amélioration des performances, il paraît clair qu'un grand pas serait fait dans le domaine de l'*uncaging* en dégagant des tendances rationnelles sur le comportement du Φ_u .

En suivant conjointement ces deux problématiques, nous avons entrepris la synthèse d'une nouvelle série de décageurs de la famille des coumarines. Encouragés par les performances photochimiques de la DEAC450, nous avons postulé que l'introduction de groupements électroattracteurs plus forts en position 3- du squelette de la cage provoquerait une augmentation du transfert de charge à l'état excité, menant ainsi à une meilleure section efficace d'absorption à deux photons, et potentiellement un meilleur δ_u si le Φ_u n'est pas affecté de manière significative. Dans cette optique, nous avons sélectionné des hétérocycles électroattracteurs azotés, comme les thiazoles, oxazoles et leurs dérivés, souvent utilisés en optique non linéaire.^[272] Une série de cibles analogues à la DEAC450 a donc initialement été imaginée à partir de ces hétérocycles (schéma V.1). Dans un second temps, afin de rationaliser les relations structure-propriétés influençant le rendement quantique de photolibération chez les décageurs coumarines, nous avons souhaité modifier le lien π -conjugué vinylique de la DEAC450, et synthétiser des analogues dans lesquels le groupement électroattracteur est lié par

un lien éthyne, ou bien directement en position 3-. Enfin, la centrosymétrie ayant un rôle primordial dans l'absorption à deux photons, des analogues quadrupolaires de ces nouveaux décapeurs ont été imaginés pour compléter la bibliothèque.

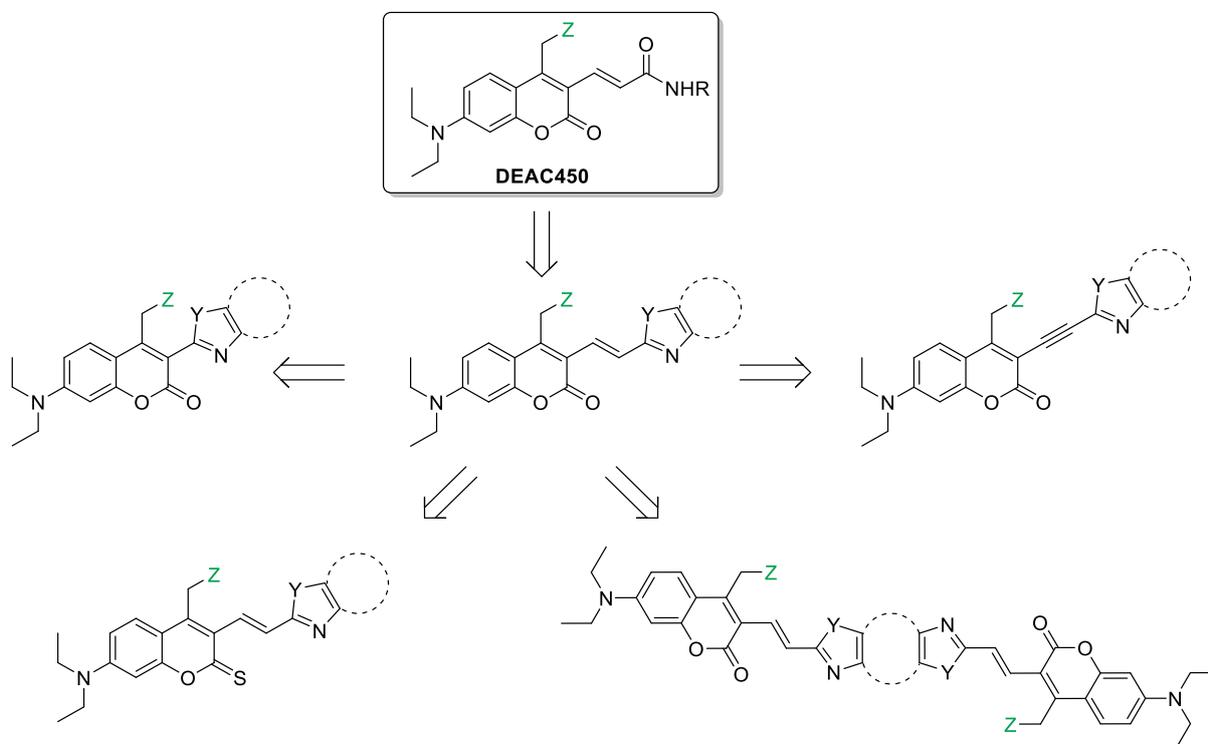


Schéma V.1 : Feuille de route des modifications structurales envisagées à partir le DEAC450.

En outre, en combinant les effets de la DEAC450 et de la DEATC, nous avons aussi postulé que la synthèse de thiocoumarines étendues en position 3- donnerait potentiellement accès à des décapeurs dont la bande d'absorption serait significativement décalée vers le rouge. Des travaux ont donc été entrepris en ce sens.

Dans cette étude, la glycine a été choisie comme molécule d'intérêt biologique modèle, pour son implication dans les processus neuronaux. En plus de son rôle de neurotransmetteur, la structure simple de cet acide aminé permet de suivre aisément la réaction de photoclivage de l'ester par $^1\text{H NMR}$, grâce à la différence de déplacement chimique attendue pour le CH_2 . Un groupement Fmoc a été conservé sur l'amine en prévision d'un éventuel suivi par LC-MS.

II. Synthèse des nouvelles coumarines π -étendues ciblées

L'extension du système π -conjugué des coumarines en position 3- étant effectuée généralement par couplages organométalliques,^[273] l'intermédiaire iodé **125**, dont la synthèse est présentée dans le chapitre III, est le synthon de départ clé de cette étude. La synthèse des

nouveaux décageurs dipolaires s'articule ensuite autour d'une succession de réactions palladocatalysées.

II.1. Effet du transfert de charge : synthèse de dipôles vinyliques

Dans une stratégie analogue à celle présentée dans le chapitre III, la synthèse des dipôles de la série « vinylique » est réalisée de manière convergente, à partir de l'intermédiaire iodé **125** et de synthons hétéroaromatiques possédant une fonction vinyle terminale.

II.1.1. Préparation des synthons vinyl-accepteurs

La synthèse des intermédiaires vinyliques est réalisée directement à partir des synthons hétérocycliques correspondants, disponibles commercialement. Ainsi, l'introduction du groupement vinyle terminal peut être réalisée par différents couplages organométalliques à partir de synthons halogénés, ou bien par réaction de Wittig à partir d'un aldéhyde.

Parmi les méthodologies envisagées, le couplage de Kumada n'est pas une option viable à cause du motif thiadiazole sensible aux organomagnésiens. La réaction de Stille implique, elle, l'utilisation de sels d'étain toxiques et persistants. Pour ces raisons, une réaction de Suzuki selon la procédure décrite par Smith *et al.*^[274] a été choisie (schéma V.2). La réaction a d'abord été réalisée sur les 2-chlorobenzothiazole **198** et son analogue benzoxazole **199**, en présence de vinyltrifluoroborate de potassium et d'un catalyseur au palladium (II).

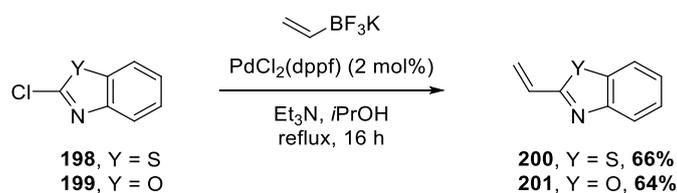
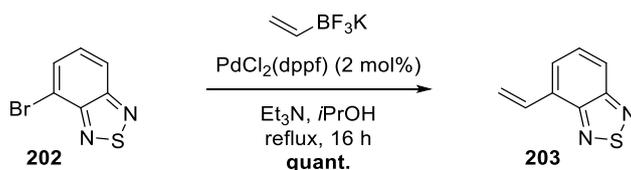


Schéma V.2 : Synthèse des intermédiaires vinyliques **200** et **201** par couplage de Suzuki.

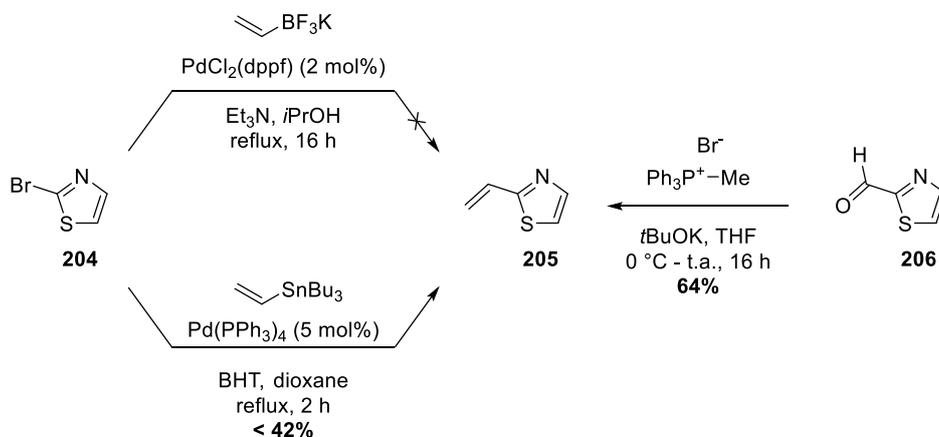
Par cette méthode, les composés **200** et **201** sont obtenus avec des rendements satisfaisants après purification sur gel de silice. Malgré une forte activation de la double liaison, très appauvrie en électrons, aucune polymérisation significative n'a été observée, et les composés peuvent même être conservés à température ambiante.

La même procédure a ensuite été adaptée au synthon benzothiadiazole visé. La réaction est effectuée dans les mêmes conditions sur le 4-bromobenzo[*c*][1,2,5]thiadiazole **202**, disponible commercialement (schéma V.3).

Schéma V.3 : Synthèse de l'intermédiaire vinylique **203** par couplage de Suzuki.

La conversion du réactif bromé **202** étant totale, une RMN ^1H d'un échantillon du mélange réactionnel a été réalisée. L'analyse confirme l'obtention du produit **203**, mais son instabilité à température ambiante est cette fois mise en évidence par un début de polymérisation dans le tube RMN. Pour cette raison, le produit **203** a par la suite été utilisé sans purification pour éviter une potentielle oligomérisation.

La réaction de Suzuki a enfin été réalisée sur le 2-bromothiazole commercial dans l'optique d'obtenir un synthon électroattracteur moins conjugué (schéma V.4). Dans les conditions opératoires utilisées, le produit de couplage croisé **205** n'est néanmoins pas formé. La fraction majoritaire isolée au cours de la purification par chromatographie correspond au 2,2'-bis(thiazole) issu de l'homocouplage du produit de départ.

Schéma V.4 : Voies de synthèses mises en œuvre pour la synthèse du 2-vinylthiazole **205**.

En guise d'alternative, une réaction de Stille est réalisée entre le même réactif bromé **204** et le tributyl(vinyl)étain en présence de tétrakis(triphénylphosphine)palladium (0) et de BHT pour inhiber une éventuelle polymérisation radicalaire (schéma V.4). Le produit est cette fois effectivement formé, toutefois une grande quantité de sels d'étain résiduels est observée dans le produit isolé après chromatographie. Plusieurs traitements consécutifs, notamment au fluorure de potassium, ont permis d'améliorer le taux de pureté du produit **205** en RMN ^1H , sans toutefois atteindre une pureté satisfaisante.

Pour remédier à ce problème, une réaction de Wittig entre le thiazole-2-carboxaldéhyde **206** et le bromure de méthyltriphenylphosphonium a finalement été réalisée (schéma V.4). Il est intéressant de noter que l'ylure de phosphore formé par addition de *tert*-butylate de potassium sur le sel de phosphonium prend une couleur jaune intense, qui disparaît au profit d'une coloration violette dès l'ajout de l'aldéhyde **206**. Le bon déroulement de la réaction peut donc être évalué à l'œil nu. Le produit **205** est cette fois isolé avec un rendement de 64%, malgré sa forte volatilité qui rend le séchage délicat.

Un analogue de la famille des oxazoles a aussi été ciblé pour compléter la série de composés hétérocycliques. Le 2-vinyloxazole étant un composé très volatil, le synthon visé a été agrémenté d'un groupement ester pour augmenter sa masse molaire. La fonction ester ouvre aussi la voie vers d'autres transformations, en particulier du greffage par une liaison amide. Pour cela, le composé **209** est synthétisé par condensation de Hantzsch entre l'acrylamide **207** et le bromopyruvate d'éthyle **208** (schéma V.5). L'aromatisation du système est assistée dans un second temps par l'ajout d'anhydride trifluoroacétique. L'oxazole 2,4-disubstituée **209** est ainsi obtenue avec un rendement de 62% après purification.

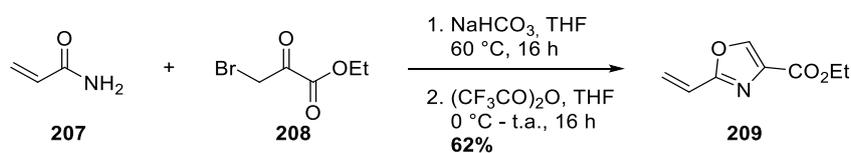


Schéma V.5 : Préparation de l'intermédiaire vinyloxazole **209** par réaction de Hantzsch.

II.1.2. Couplage de Heck et synthèse des décageurs correspondants

Les intermédiaires vinyliques obtenus sont ensuite couplés sur la position 3- du squelette de la coumarine, de façon à pouvoir effectuer une comparaison directe avec les propriétés de la DEAC450. La réaction de Heck en conditions de Jeffery, mise au point dans le chapitre III, est réalisée sur la coumarine iodée **125** (schéma V.6). Là encore, nous avons choisi de travailler sur l'alcool libre pour éviter les problèmes liés aux déprotections et oxydations parasites.

Les conditions de couplage sont adaptées au réactif vinylique impliqué. La réaction est ainsi menée en proportions stœchiométriques pour les dérivés **200** et **201**, mais un excès est introduit dans le cas de **203** et **205** à cause respectivement de leur risque de polymérisation et de leur volatilité. Par conséquent, les dipôles **210** et **211** sont isolés par simple précipitation, alors que **212** et **213** sont purifiés sur colonne de silice. Les rendements sont très satisfaisants puisqu'ils vont de 76 à 96% pour cette série de composés **210-213**.

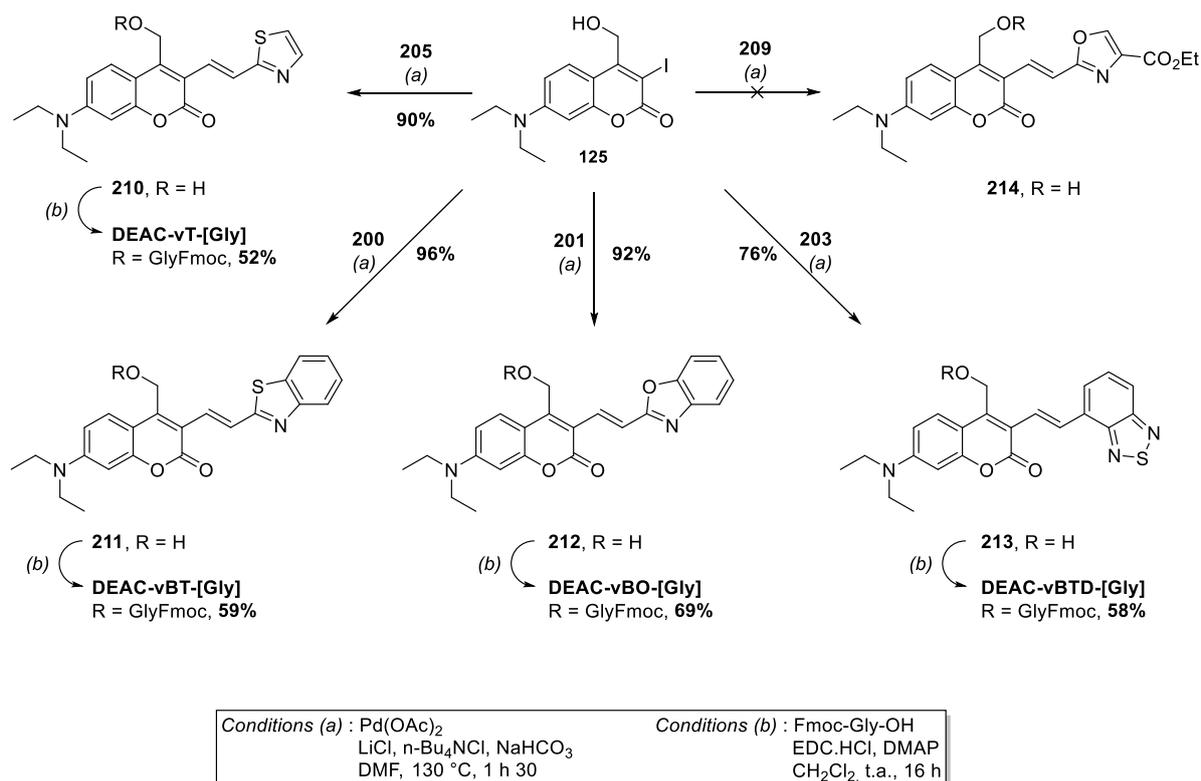


Schéma V.6 : Synthèse des nouveaux décageurs dipolaires par couplage de Heck en conditions de Jeffery et estérification entre les fonctions alcool et Fmoc-Gly-OH.

Le composé **214** est un cas isolé dans cette série. La réaction de couplage à cette fois formé une grande quantité de produit de déhalogénéation simple **116**, sans oxyder la fonction alcool. Or, le composé **116** issu de cette réaction parasite présente, quelles que soient les conditions d'éluion, un rapport frontal similaire au produit de couplage **214** effectivement détecté en RMN ¹H. Le produit, n'a finalement pas pu être isolé pur.

Pour cager la glycine sur les dipôles **210-213**, une estérification en présence d'EDC et de DMAP est réalisée. Après purification sur colonne de silice, les décageurs ciblés **DEAC-vT**, **DEAC-vBT**, **DEAC-vBO** et **DEAC-vBTD** sont isolés avec des rendements de l'ordre de 60%. En outre, pour une comparaison la plus rigoureuse possible lors des photolyses et des études photophysiques, nous avons aussi synthétisé par cette même méthode la DEAC et la DEAC450 cageant Fmoc-Gly-OH (schéma V.7).

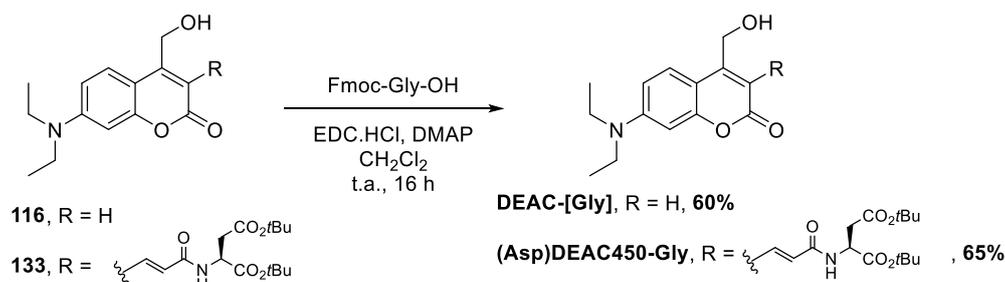


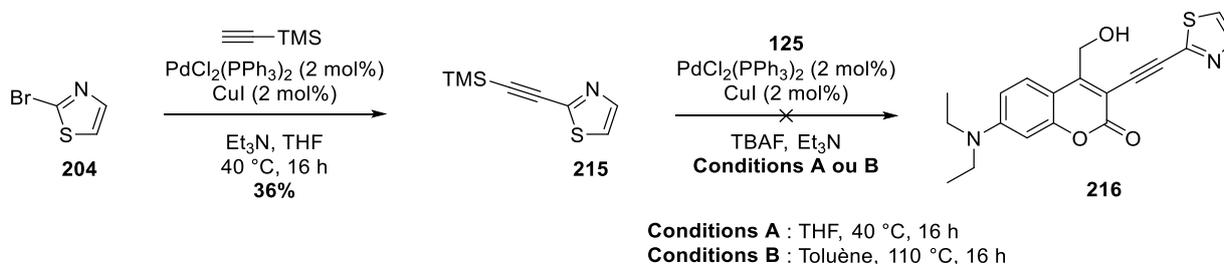
Schéma V.7 : Synthèse des composés de référence DEAC-[Gly] et (Asp)DEAC450-[Gly].

II.2. Effet de la conjugaison : synthèse des dipôles acétylénique et sans pont π -intermédiaire correspondants

Afin de compléter l'étude, nous avons souhaité diversifier les cibles en remplaçant le pont vinylique utilisé dans les composés **DEAC-vT**, **-vBT**, **-vBO** et **-vBTD**. L'introduction d'un lien éthyne intermédiaire, et la suppression du lien π -conjugué entre la coumarine et le groupement électroattracteur ont alors été considérées.

II.2.1. Synthèse de dipôles par réaction de Sonogashira

La méthode *a priori* la plus évidente pour introduire un synthon acétylénique en position 3- de la coumarine est de coupler l'intermédiaire iodé **125** avec un alcyne terminal par réaction de Sonogashira. Pour cela, le synthon acétylénique analogue au composé **205** est d'abord préparé à partir du 2-bromothiazole **204** (schéma V.8).

Schéma V.8 : Préparation du synthon acétylénique protégé **215**, et tentative de couplage de Sonogashira sur la coumarine iodée **125**.

La réaction avec le triméthylsilylacétylène donne accès au composé **215** avec un rendement de 36%. Il faut noter que le composé **215** s'est avéré particulièrement instable à température ambiante, et qu'une déprotection spontanée du groupement silylé est notamment observée.

L'assemblage du dipôle par réaction de Sonogashira a été mené dans les conditions classiques utilisées précédemment dans ce manuscrit, avec introduction de TBAF *in-situ* pour retirer le groupement silylé. La réaction a été réalisée une première fois dans le THF (schéma

V.8, conditions A), et une seconde fois dans le toluène à 110 °C (schéma V.8, conditions B), toutefois, dans les deux cas, aucune trace du produit n'est détectée en RMN ^1H ou spectrométrie de masse. La seule fraction fluorescente isolée correspond à un mélange complexe de produits de dégradation.

La réaction a été répétée une seconde fois en déprotégeant au préalable le composé acétylénique **215**, et en modifiant les conditions réactionnelles pour inclure des sels de tétrabutylammonium stabilisant le palladium (0) (schéma V.9). Néanmoins, les mêmes constatations sont effectuées dans ces nouvelles conditions opératoires.

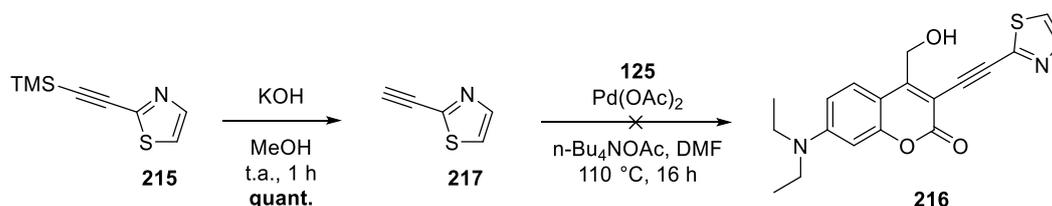


Schéma V.9 : Préparation du synthon acétylénique terminal **217**, et tentative de couplage de Sonogashira sur la coumarine iodée **125**.

La demande électronique n'étant pas favorable à cette réaction, nous avons entrepris de l'inverser en introduisant le groupement acétylène préalablement en position 3- de la DEAC. Pour cela, l'intermédiaire iodé **125** est à son tour engagé dans un couplage de Sonogashira avec le TMSA (schéma V.10). Le produit de couplage **218** est cette fois isolé avec un rendement de 57%.

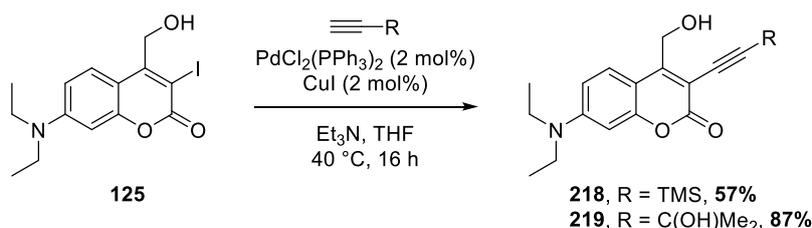


Schéma V.10 : Synthèse des coumarines **218** et **219** étendues en position 3- par une fonction acétylénique protégée.

Le 2-méthylbut-3-yn-2-ol, autre réactif acétylénique protégé dont la déprotection a lieu en conditions basiques, a aussi été utilisé dans un couplage du même type (schéma V.10). L'alcyne **219** est isolé là aussi avec un très bon rendement.

Suite à l'obtention de ces produits, l'intermédiaire **218** a d'abord été couplé dans les conditions classiques de Sonogashira avec le 2-bromothiazole **204**, avec introduction de TBAF

in situ (schéma V.11). De façon surprenante, le suivi CCM de la réaction montre dans ce cas la disparition du produit de départ sans l'apparition de taches fluorescentes.

Dans l'optique d'identifier l'origine du problème, nous avons pensé reproduire ce couplage de Sonogashira à partir de l'alcyne terminal **220** issu de la déprotection des composés **218** ou **219**. La déprotection de l'alcyne protégé par un TMS a été effectuée par du TBAF, ou par ajout de carbonate de potassium dans le méthanol. Celle de l'alcool **219**, par de la soude dans le toluène à chaud.

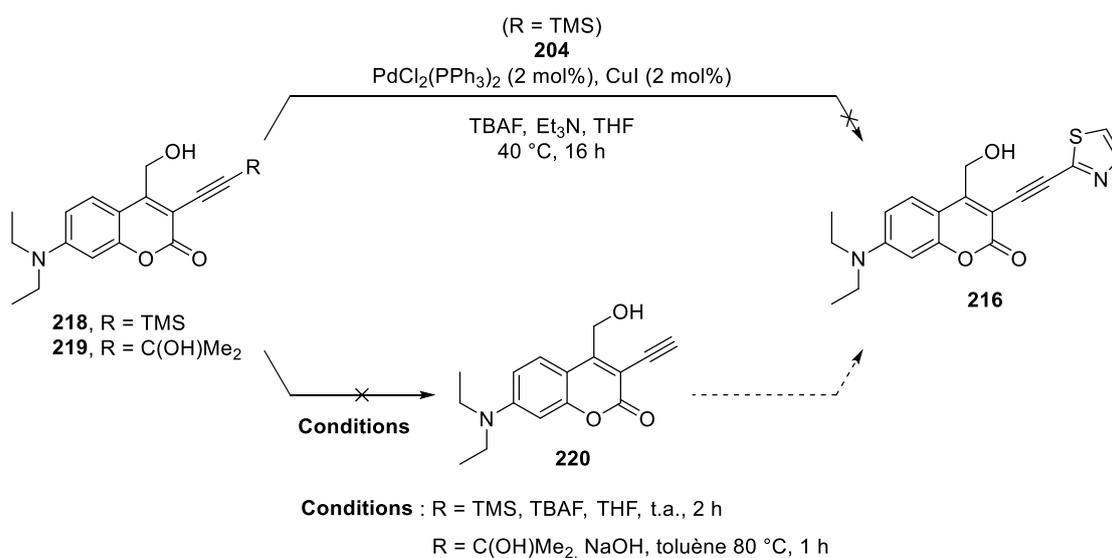


Schéma V.11 : Tentative de préparation du dipole **216** par couplage de Sonogashira avec déprotection *in situ*, ou avec déprotection préalable.

Dans les trois cas, une constatation identique est effectuée. Le produit de départ est en effet là aussi consommé, sans former de dérivé coumarine fluorescent. Un mélange complexe de produits de dégradation est détecté en RMN. Cette observation indique que l'échec du couplage précédent est potentiellement lié à la réaction de déprotection de l'alcyne.

La synthèse de l'analogue éthylnthiazole n'a finalement pas été poursuivie. Des investigations sont en cours au laboratoire pour déterminer la cause de cette dégradation, et pour modifier la demande électronique de la coumarine pour pouvoir éventuellement faciliter le couplage de Sonogashira.

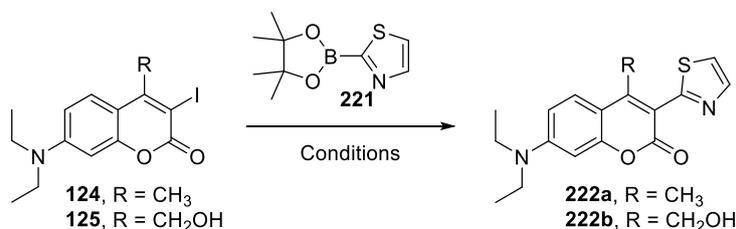
II.2.2. Suppression du pont π intermédiaire

Comme pour l'analogue acétylénique, nous avons envisagé d'effectuer la synthèse d'une coumarine comportant un hétérocycle électroattracteur directement en position 3- par couplage de Suzuki. Le dérivé thiazole **221** comportant un ester boronique en position 2- étant

disponible commercialement, la réaction de couplage croisé a été réalisée dans différentes conditions résumées dans le tableau V.1.

Le couplage a d'abord été réalisé en présence d'un catalyseur au palladium (II) dont le ligand promeut l'étape d'élimination réductrice (entrée 1). Le produit souhaité n'est pas isolé alors que le dimère de thiazole et le produit de déhalogénéation de la coumarine sont détectés sur plaque CCM. La réaction a été reproduite dans des conditions semblables, en introduisant cette fois directement une forte charge catalytique de palladium (0), pour les mêmes observations (entrée 2). La base carbonatée a été remplacée par du fluorure de césium (entrée 3), et l'alcool libre remplacé par le groupement méthyle, non réactif, (entrée 4) sans plus de succès. À aucun moment un produit de couplage croisé n'a été détecté.

Tableau V.1. Etudes des conditions de couplage de Suzuki entre la 3-iodocoumarine **125** et le dérivé thiazole **221**.



| Entrée | R = | Conditions | Rdt [%] |
|--------|---------------------|--|---------|
| 1 | -CH ₂ OH | PdCl ₂ (dppf) (2 mol%) Na ₂ CO ₃ , toluene/EtOH, 90 °C | - |
| 2 | -CH ₂ OH | Pd(PPh ₃) ₄ (10 mol%) Na ₂ CO ₃ , toluene/EtOH, 110 °C | - |
| 3 | -CH ₂ OH | Pd(PPh ₃) ₄ (10 mol%) CsF, dioxane, 100 °C | - |
| 4 | -CH ₃ | Pd(PPh ₃) ₄ (10 mol%) CsF, dioxane, 100 °C | - |

Malgré la tendance générale du couplage de Suzuki à tolérer l'encombrement stérique et une variété de groupements fonctionnels, y compris avec un caractère de base de Lewis comme dans les dérivés thiazoles, il ne s'agit pas ici d'une alternative viable. La demande électronique est aussi potentiellement en cause. Il est désormais envisagé, pour compléter cette série de composés, de procéder à la formation du squelette de la coumarine par condensation d'un phénol sur un synthon possédant déjà le groupement thiazole ou benzothiazole souhaité.

II.3. Effet de la symétrie : synthèse de quadrupôles à base de coumarines

Comme illustré dans plusieurs exemples du chapitre I, la centrosymétrie a une influence conséquente sur la section efficace d'absorption à deux photons. Au cours de notre étude, nous avons postulé que la synthèse de composés quadrupolaires du type D- π -A- π -D, possédant deux groupements protecteurs de type DEAC aux extrémités, ainsi qu'un cœur électroattracteur pour un transfert accru de charge à l'état excité, permettrait potentiellement d'exalter les propriétés d'absorption biphotonique de nos cages. Selon cette idée, nous avons entrepris des expériences préliminaires pour la synthèse d'analogues quadrupolaires directs des composés dipolaires **DEAC-vBT**, et **-vBTD**.

Depuis l'optimisation développée dans le chapitre III, les conditions de Jeffery ont donné jusqu'ici des résultats fiables pour la synthèse de dérivés 3-vinylcoumarines. Nous avons ici souhaité mener à bien le couplage en présence d'un cœur accepteur possédant deux fonctions vinyles pour la synthèse des quadrupôles ciblés. Dans cette optique, nous avons sélectionné un cœur 4,7-divinylbenzothiadiazole, et un cœur parfaitement centrosymétrique 2,6-divinylbenzobis(thiazole).

En suivant le modèle de la synthèse du composé monofonctionnalisé **202**, une double réaction de Suzuki en présence de vinyltrifluoroborate de potassium a été réalisée sur le dérivé dibromé commercial **223**. Dans les conditions utilisées précédemment, le produit n'est toutefois pas isolé. Aussi, un système catalytique plus actif a été employé en introduisant du tétrakis(triphénylphosphine)palladium (0) (schéma V.12). Cette modification permet effectivement l'obtention du produit désiré avec un rendement de 49%.

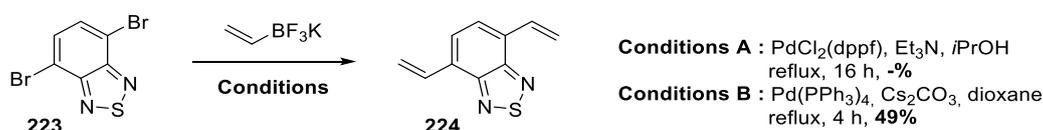
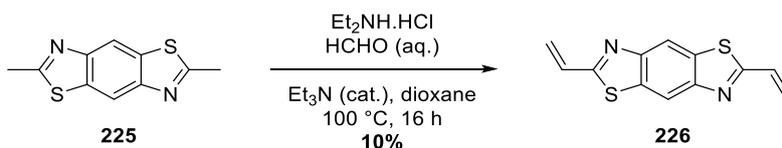


Schéma V.12 : Synthèse de l'intermédiaire divinyle **224** par couplage de Suzuki.

Du fait de l'absence de dérivés dihalogénés commerciaux, la synthèse du cœur benzobis(thiazole) a été réalisée par une réaction de Mannich avec déamination *in-situ* inspirée de la méthode de Xiao *et al.* (schéma V.13).^[275]

Schéma V.13 : Préparation du synthon benzobisthiazole **226** par réaction de Mannich avec déamination *in situ*.

La réaction de Mannich implique la fonctionnalisation des deux méthyles du composé de départ **225**, par une attaque nucléophile sur le sel d'iminium issu de la réaction entre le formaldéhyde et le chlorhydrate de diéthylamine. Le mécanisme proposé par Xiao *et al.* suggère ensuite une déamination assistée par l'azote de l'hétérocycle donnant accès au composé **226**. La mise en œuvre de ces conditions réactionnelles a effectivement permis de détecter et d'isoler une faible quantité du composé **226**. Outre le faible rendement enregistré, ce synthon très activé s'est, assez logiquement, avéré très instable. Il ne peut être conservé que quelques heures au congélateur avant qu'un polymère ne se forme, ce qui rend sa manipulation et sa caractérisation particulièrement délicates.

Pour les raisons mentionnées ci-dessus, les doubles réactions de Heck ont été effectuées rapidement après l'obtention des composés **224** et **226** (schéma V.14). Malheureusement, les conditions dures utilisées ne permettent ici pas d'isoler les quadrupôles **228** et **229**. Seul le produit d'oxydation déhalogéné **115** est identifié dans le mélange réactionnel, et il est probable que les cœurs électroattracteurs se dégradent par polymérisation.

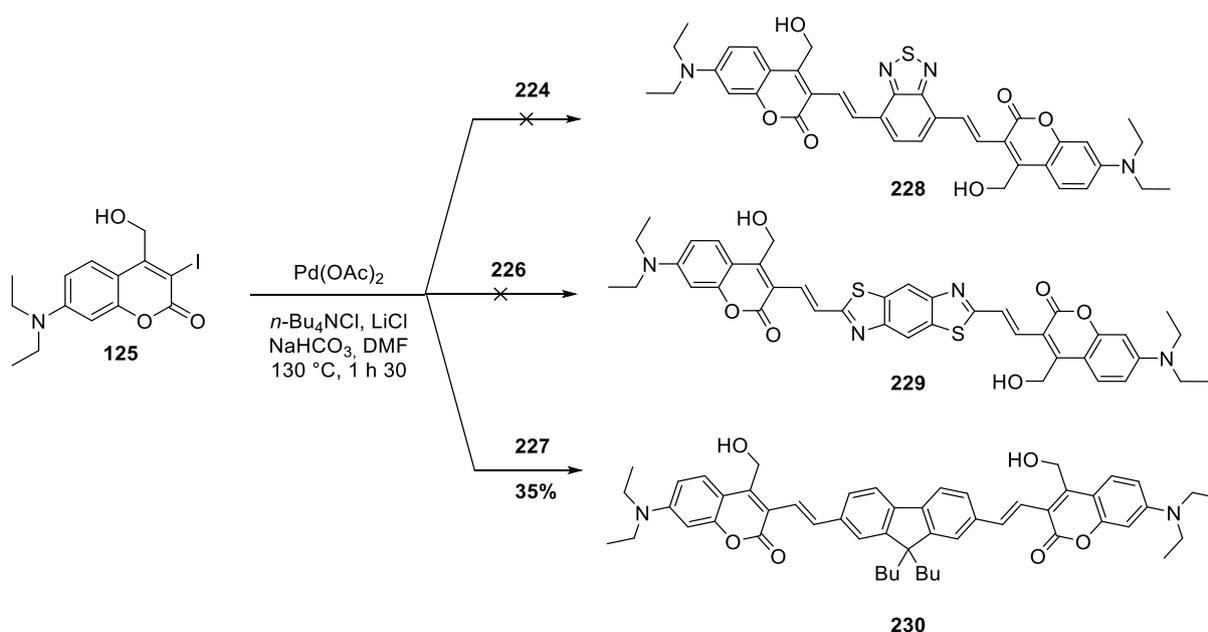


Schéma V.14 : Tentatives de synthèses de quadrupôles à base de coumarines par doubles réactions de Heck en conditions de Jeffery.

La réaction a récemment été réalisée avec du 2,7-divinyl-9,9-dibutylfluorène **227** disponible au laboratoire, moins appauvri en électrons et potentiellement plus stable dans les conditions opératoires de Jeffery. Le composé est cette fois isolé avec un rendement de 35% après purification, ce qui confirme notre hypothèse concernant la trop forte activation des doubles liaisons dans les composés **224** et **226**. Les propriétés du quadrupôle **230** seront prochainement étudiées au laboratoire pour confirmer la stratégie de design appliquée.

Les risques de cette voie de synthèse en termes de stabilité des modules divinyles activés se sont finalement confirmés. Des voies de synthèse alternatives sont actuellement entreprises au laboratoire pour remédier à ces problèmes de polymérisation.

II.4. Effet de la thionation : synthèse de thiocoumarines étendues

Au cours de notre étude sur les décalageurs de la famille des coumarines, l'idée de combiner le décalage bathochrome apporté par le thiocarbonyle à celui provenant de la présence d'un substituant π -conjugué en position 3- s'est très rapidement imposée. Plusieurs voies de synthèse peuvent être imaginées en ce sens, selon le moment où la réaction de thionation est réalisée. Cette fonction chimique étant particulièrement sensible, il est préférable de l'introduire en aval du chemin de synthèse, mais plusieurs options ont été étudiées en parallèle.

Pour synthétiser un analogue thioné exact à la DEAC450, une problématique de réactivité s'est soulevée. En effet, le réactif de Lawesson possède une affinité supérieure pour les carbonyles des amides que pour ceux des lactones. Aussi, nous avons souhaité appliquer le réactif de Lawesson avant la réaction de Heck, de façon à tenter consécutivement le couplage avec l'acrylamide **132** et s'affranchir de cette chimiosélectivité défavorable.

Pour cela, la fonction alcool du composé **125** est préalablement protégée par acétylation avec un rendement quantitatif (schéma V.15). Le composé acétylé **231** est ensuite mis en présence du réactif de Lawesson dans le toluène à reflux. De façon surprenante, le carbonyle de la coumarine est bien transformé en thiocarbonyle, cependant la partie vinyle iodée subit simultanément une réaction de déhalogénéation. Cette affirmation est confirmée par comparaison des déplacements chimiques en RMN ^1H du produit obtenu et de la DEATC décrite dans la littérature.

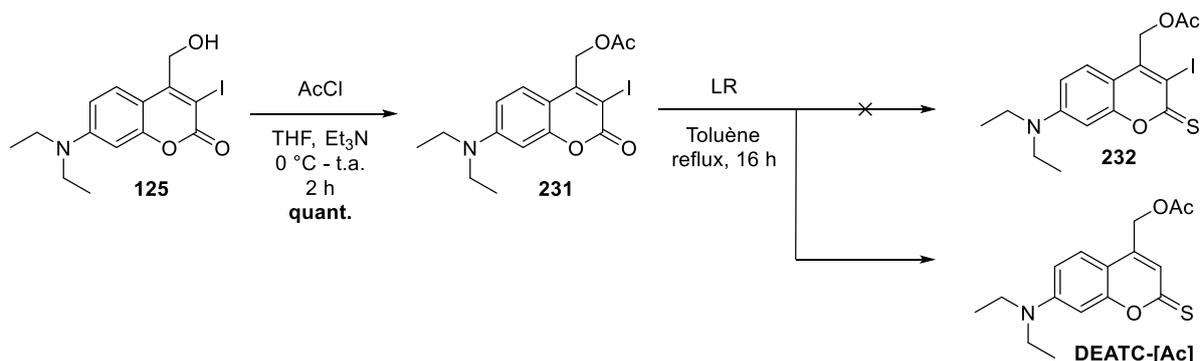


Schéma V.15 : Tentative de synthèse de la 3-iodothiocoumarine 232 par thionation au réactif de Lawesson.

En guise d'alternative, la réaction de thionation a finalement été tentée sur les coumarines π -étendues issues du couplage de Heck. Pour s'affranchir des problèmes liés à la thionation du groupement acrylamide sur la DEAC450, nous avons opté à la place pour les dipôles **212** et **213**. Leur fonction alcool a été protégée préalablement par un groupement acétate, puis le traitement avec le réactif de Lawesson a été réalisé (schéma V.16).

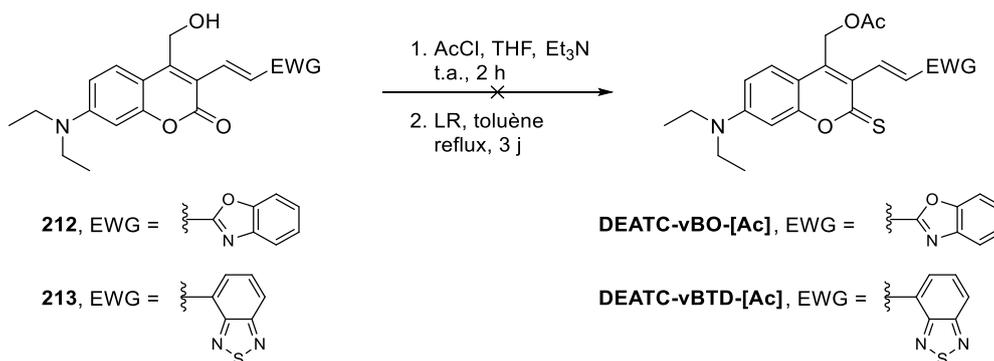


Schéma V.16 : Tentatives de synthèse de thiocoumarines étendues en position 3- par thionation au réactif de Lawesson.

Malheureusement, dans les deux cas, la conversion du produit de départ en thiocoumarine n'est pas observée sur plaque CCM, malgré plusieurs jours à reflux dans le toluène. Ce manque de réactivité peut être attribuable à un fort encombrement stérique du carbonyle dans cette position 2-, ou bien à un appauvrissement électronique de l'oxygène par le groupement électroattracteur voisin qui défavoriserait son attaque sur le phosphore. Très récemment, Lin *et al.*, dans une stratégie similaire à la nôtre, ont effectivement rapporté la synthèse de thiocoumarines étendues en position 3- par des groupements riches en électrons,^[276] ce qui supporterait la seconde hypothèse.

III. Études photophysiques et photochimiques

Parmi les composés ciblés en début d'étude, seuls les dipôles vinyliques **DEAC-vT**, **DEAC-vBT**, **DEAC-vBO**, **DEAC-vBTD** ont pu être obtenus jusqu'à présent. L'étude

complète de leurs propriétés photophysiques et photochimiques a donc été réalisée. Pour déterminer les performances de photolibération de cette série de dipôles, des photolyses comparatives à 455 nm ont été réalisées dans un mélange acétonitrile/H₂O (90/10, v/v).

III.1. Caractérisation photophysique

III.1.1. Propriétés d'optique linéaire

Les propriétés optiques des nouveaux dipôles, ainsi que de la DEAC et la DEAC450 pour comparaison, ont été mesurées dans le DMSO qui offrait la meilleure solubilité pour tous les composés. Les valeurs sont rassemblées dans le tableau V.2.

Comme anticipé, et déjà mis en évidence en comparant la longueur d'onde maximale d'absorption pour DEAC-Gly et DEAC450-Gly, l'extension du système conjugué avec un groupement vinyl-accepteur en position 3- induit un décalage bathochrome marqué de la courbe d'absorption.

Tableau V.2. Propriétés optiques à un photon des nouveaux décageurs dipolaires et des décageurs de référence dans le DMSO.

| Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | ϵ^{max} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | $\epsilon_{455\text{nm}}$ [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | $\lambda_{\text{em}}^{\text{max}}$ [nm] | $\Phi_{\text{f}}^{\text{[a]}}$ |
|---------------------------|---|---|---|--|--------------------------------|
| DEAC-[Gly] | 382 | 2.0 10 ⁴ | - | 470 | 0.19 ^[b] |
| (Asp)DEAC450-[Gly] | 444 | 3.4 10 ⁴ | 3.2 10 ⁴ | 523 | 0.82 ^[b] |
| DEAC-vT-[Gly] | 457 | 3.6 10 ⁴ | 3.6 10 ⁴ | 541 | 0.94 ^[b] |
| DEAC-vBT-[Gly] | 472 | 4.7 10 ⁴ | 4.1 10 ⁴ | 562 | 0.92 ^[b] |
| DEAC-vBO-[Gly] | 467 | 4.6 10 ⁴ | 4.1 10 ⁴ | 552 | 0.94 ^[b] |
| DEAC-vBTD-[Gly] | 472 | 3.3 10 ⁴ | 3.0 10 ⁴ | 692 | 0.13 ^[c] |

^[a] Rendement quantique de fluorescence ^[b] Standard : FLSCN dans 0.1M NaOH ($\Phi_{\text{f}} = 0.9$). ^[c] Standard : R6G dans EtOH ($\Phi_{\text{f}} = 0.94$).

Le pouvoir accepteur plus élevé des hétérocycles azotés dans les composés **DEAC-vT**, **-vBT**, **-vBO**, et **-vBTD** renforce légèrement cette tendance. En effet, le groupement thiazole dans **DEAC-vT** provoque un décalage vers le rouge de 13 nm par rapport à **(Asp)DEAC450-[Gly]**. Assez logiquement, l'augmentation de la conjugaison liée à la présence du benzothiazole dans **DEAC-vBT** déplace encore le $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ à 472 nm, avec un effet hyperchromique significatif supporté par l'augmentation de 30% de la valeur ϵ^{max} . Son homologue benzoxazole **DEAC-vBO** montre un comportement similaire, quoique légèrement moins décalé en absorption, ce qui pourrait être dû aux orbitales électroniques plus diffuses dans le soufre par rapport à l'oxygène. Enfin, le dérivé benzothiadiazole **DEAC-vBTD**, qui porte a priori le groupement le

plus électroattracteur de la série, atteint également un maximum d'absorption à 472 nm. Il apparaît également que la structure différente du cycle benzothiadiazole confère au composé un comportement quelque peu différent, avec une valeur ϵ^{\max} inférieure due à une bande d'absorption plus large et à une distribution différente des états d'énergie.

Tous les composés π -étendus de la série sont émissifs dans le DMSO, avec des rendements quantiques de fluorescence compris entre 13 et 94%. Le caractère émissif est plus prononcé pour notre série de dipôle que pour le composé parent DEAC450-Gly, ce qui pourrait traduire une efficacité de photolyse moindre dans le DMSO. Les nouveaux composés dipolaires présentent une fluorescence très prononcée avec des rendements quantiques d'émission de l'ordre de 90%. La tendance décalée en absorption se confirme en émission, avec un maximum décalé vers le rouge à mesure que le pouvoir accepteur de l'hétérocycle augmente, de **DEAC-vT** à **-vBTD**.

Une fois de plus, un comportement singulier a été observé pour **DEAC-vBTD** puisqu'il était le seul composé présentant un caractère solvatochrome marqué (figure V.1), avec un λ_{em}^{\max} compris entre 568 nm dans le toluène et 692 nm dans le DMSO. Cette émission rouge, caractéristique d'un état excité très polarisé et stabilisé par l'environnement, entraîne aussi un rendement quantique d'émission très inférieur aux autres composés. Contrairement à l'absorption, l'émission de **DEAC-vBTD** est beaucoup plus affectée par le caractère électroattracteur très prononcé du benzothiadiazole.

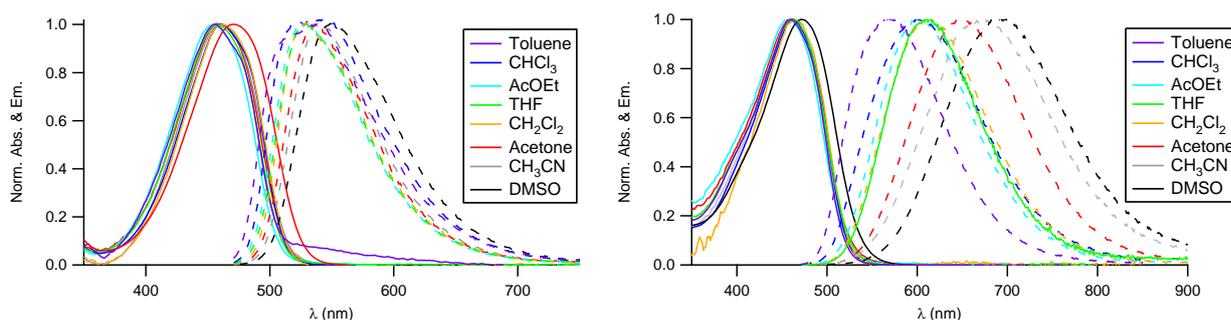


Figure V.1 : Étude de la solvatochromie en absorption et émission des composés DEAC-vBO (à gauche), et DEAC-vBTD (à droite).

III.1.2. Propriétés d'optique non linéaire

Pour déterminer l'effet des modifications structurales opérées sur le système *push-pull* de la coumarine, les propriétés d'absorption à deux photons de la nouvelle série de dipôle ont

été mesurées dans le DMSO et comparées aux composés DEAC et DEAC450 de référence. Les données correspondantes sont présentées dans le tableau V.3.

Les mesures effectuées sur nos les deux références montrent une seule bande d'absorption large entre 880 et 920 nm pour la DEAC450-Gly, qui est décrite comme inactive à 720 nm.^[162] D'autre part, **DEAC-[Gly]** n'affiche qu'une seule bande à 760 nm dans le DMSO. La tendance générale sur nos nouveaux composés montre la présence de deux bandes d'absorption fortes, la plus intense étant dans tous les cas la plus énergétique située autour de 700 nm. La deuxième transition forte correspond à deux fois la longueur d'onde maximale d'absorption à un photon, et est légèrement moins intense. Cette dualité de longueur d'onde d'excitation offre une certaine polyvalence pour l'*uncaging* à deux photons.

Tableau V.3. Propriétés d'absorption à deux photons des nouveaux décageurs dipolaires et des décageurs de référence dans le DMSO.

| Composé | $\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | $2\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}$ [nm] | $\lambda_{2\text{PA}}^{\text{max}}$ [nm] | σ_2^{max} [GM] ^[a] |
|---------------------------|---|--|---|--|
| DEAC-[Gly] | 382 | 764 | 760 | 44 |
| (Asp)DEAC450-[Gly] | 444 | 888 | 850 | 129 |
| DEAC-vT-[Gly] | 457 | 914 | 700 920 | 191 164 |
| DEAC-vBT-[Gly] | 472 | 944 | 710 970 | 441 371 |
| DEAC-vBO-[Gly] | 467 | 934 | 700 920 | 367 267 |
| DEAC-vBTD-[Gly] | 472 | 944 | 940 | 140 |

^[a] Section efficace d'absorption à deux photons à la longueur d'onde $\lambda_{2\text{PA}}^{\text{max}}$, dérivée d'expériences de TPEF

(1 GM = 10^{-50} cm⁴ s⁻¹).

Les valeurs de σ_2^{max} enregistrées pour les nouvelles cages dipolaires sont comprises entre 140 et 441 GM. En outre, la comparaison entre les σ_2^{max} des composés **DEAC-vT**, **DEAC-vBT**, **DEAC-vBO** et **DEAC-vBTD** confirme et amplifie la tendance observée en 1PA. Comme anticipé, la plus faible conjugaison du groupement vinylthiazole dans le composé **DEAC-vT** donne une valeur inférieure à son analogue benzo-. Le renforcement du système π -conjugué dans le benzothiazole fait plus que doubler la valeur mesurée pour la transition la plus intense, et la plus haute en énergie. Il est également intéressant de souligner que dans le cas des composés **DEAC-vBT** et **DEAC-vBO**, le soufre joue un rôle important dans les propriétés de 2PA, comme l'indique l'augmentation de 20% du σ_2^{max} chez **DEAC-vBT**. Enfin, comme

observé en 1PA, le composé **DEAC-vBTD** a montré un comportement différent avec une largeur de bande plus importante, entraînant une section efficace d'absorption maximale plus faible dans le DMSO à 940 nm.

Suite à cette observation, avons émis l'hypothèse que la première bande de haute énergie était également présente pour ce composé, mais qu'elle ne pouvait pas être mesurée par TPEF en raison de l'émission rouge/PIR observée dans le DMSO. Par conséquent, des mesures supplémentaires ont été effectuées dans le toluène, où l'émission est décalée dans le jaune (figure V.2).

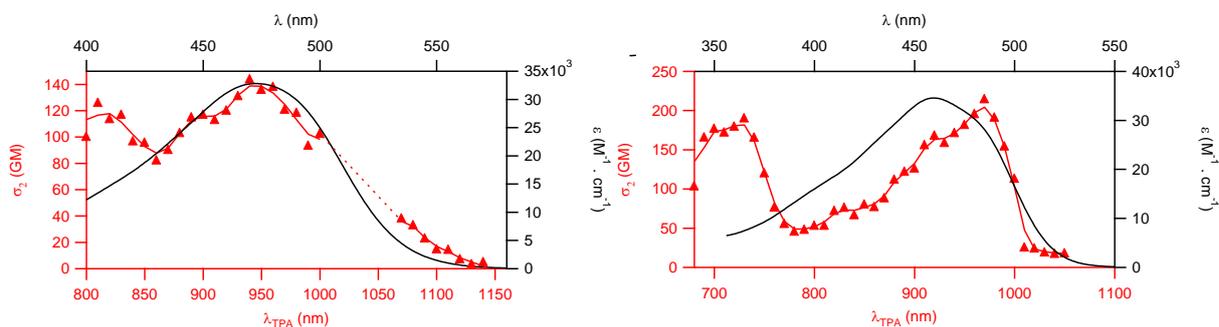


Figure V.2 : Spectres d'absorption à deux photons du composé DEAC-vBTD dans le DMSO (à gauche), et dans le toluène (à droite). Les spectres d'absorption à un photon (en noir) sont superposés à titre comparatif.

Le spectre d'absorption à deux photons dans le toluène a effectivement permis l'observation d'une seconde transition à 730 nm, dont l'intensité est toutefois inférieure à la large bande de plus basse énergie. Sa capacité d'absorption est finalement comparable à celle du composé **DEAC-vT**.

III.2. Expériences de cinétiques comparatives

L'efficacité d'*uncaging* à un photon de nos nouveaux composés a été évaluée en irradiant à 455 nm des échantillons de même concentration (0,5 mM) dans un mélange d'acétonitrile deutérée contenant 10% en volume de D₂O. Pour des raisons de solubilité dans le milieu d'étude, la photolyse du composé **DEAC-vBO** a dû être réalisée à une concentration deux fois plus faible. Le tracé des lois de vitesse a ensuite été comparé à la cinétique de notre référence pour la photolibération sous lumière bleue, (**Asp**)**DEAC450-[Gly]**, irradiée dans les mêmes conditions expérimentales. La conversion de la réaction de photolyse a été contrôlée par RMN ¹H (figure V.3, a). Au cours de l'irradiation, l'intensité du singulet correspondant à Fmoc-Gly-OR cagé (3,91 ppm) diminue, tandis qu'un singulet voisin (3,76 ppm) apparaît pour l'acide Fmoc-Gly-OH libéré. Il est intéressant de noter que l'avancée de la réaction peut aussi être

contrôlée à l'aide des doublets du groupement Fmoc conservé sur l'amine (4,14 et 4,33 ppm, respectivement). Une cinétique du premier ordre est vérifiée dans chaque cas (figure V.3, b).

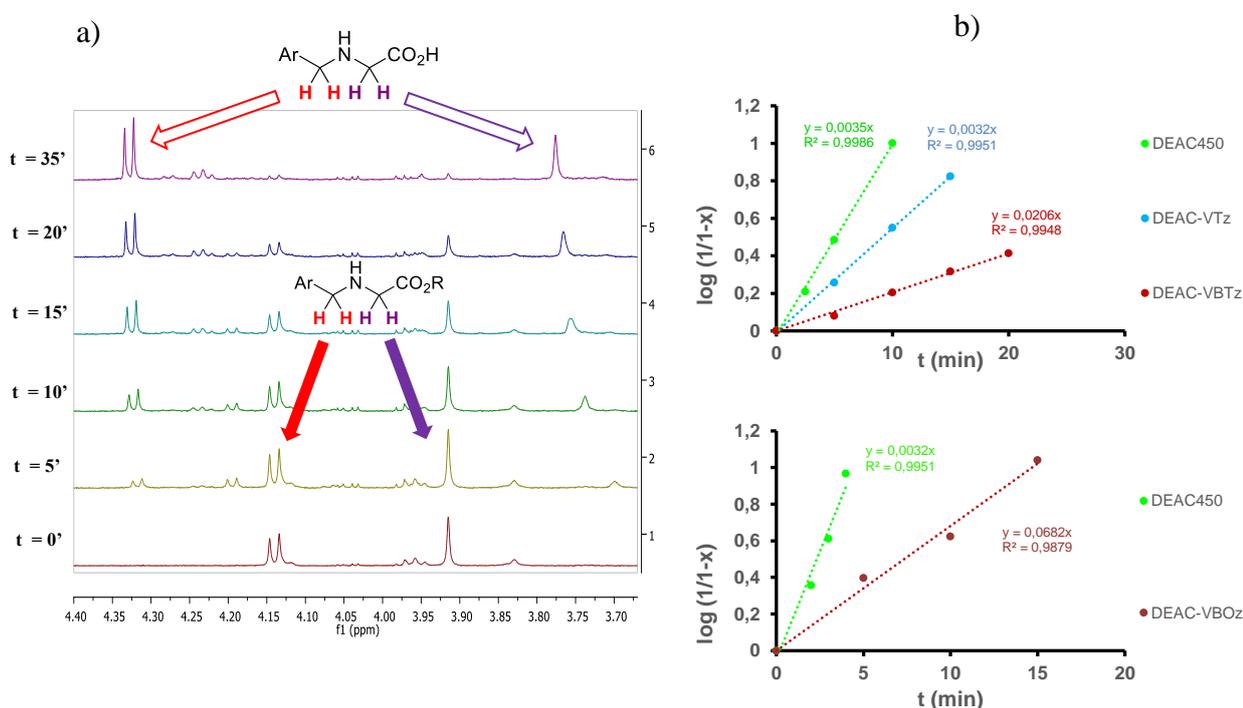


Figure V.3 : a) Suivi cinétique de la photolibération de Fmoc-Gly-OH sous excitation à 455 nm par RMN ¹H (600 MHz) dans CD₃CN/D₂O (9/1, v/v)₃. b) Tracé des lois de vitesse d'ordre 1 issues des expériences de photolyse.

Les constantes de vitesse apparentes sont ensuite déduites de ces expériences. Par la méthode décrite dans le chapitre II, et à l'aide des valeurs de ϵ mesurées dans le solvant de photolyse, le rapport de ces constantes de vitesse permet de déterminer une valeur de Q_u relativement à la DEAC450 de référence. Les composés **DEAC-vT**, **DEAC-vBT**, **DEAC-vBO** et **DEAC-vBTD** se sont tous avérés avoir une cinétique plus lente que la DEAC450, ce qui est cohérent avec la tendance observée pour les rendements quantiques d'émission. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau V.4.

Les rendements quantiques relatifs de photolibération de la glycine dans l'acétonitrile contenant 10% d'eau sont au moins deux fois inférieurs à celui de la DEAC450. Le composé **DEAC-vT**, comportant l'hétérocycle le moins attracteur, est le composé le plus rapide de la série de nouveaux dipôles. En extrapolant les résultats à un milieu de photolyse similaire à celui de la DEAC450, cela engendrerait un Φ_u de 19,5%, ce qui reste supérieur à beaucoup de décapeurs décrits dans la littérature. L'augmentation de la conjugaison dans les composés **DEAC-vBT** et **DEAC-vBO** divise encore l'efficacité d'un facteur deux. Enfin, il a été constaté que le composé **DEAC-vBTD**, possédant l'hétérocycle le plus attracteur, n'est pas un candidat

adapté à l'*uncaging*. Sa cinétique de photolibération est plus lente que la photodégradation du composé, et la glycine n'est finalement décaagée qu'à hauteur de 57% de la stœchiométrie.

Tableau V.4. Propriétés de photolibération à un et deux photons des nouveaux décaageurs dipolaires dans CH₃CN/H₂O (9/1, v/v).

| Composé | ϵ^{\max} [M ⁻¹ .cm ⁻¹] | Q_u/Φ_u^{ref} | $\epsilon^{\max}Q_u$ [M ⁻¹ .cm ⁻¹] ^[a] | δ_u [GM] ^[b] |
|--------------------|---|---------------------------|---|-----------------------------------|
| (Asp)DEAC450-[Gly] | 3.9 10 ⁴ | 1 | 13 10 ³ | 0.5 ^[c] |
| DEAC-vT-[Gly] | 4.0 10 ⁴ | 0.5 | 7.8 10 ³ | 37 |
| DEAC-vBT-[Gly] | 4.9 10 ⁴ | 0.21 | 4.0 10 ³ | 36 |
| DEAC-vBO-[Gly] | 4.8 10 ⁴ | 0.24 | 4.5 10 ³ | 35 |
| DEAC-vBTD-[Gly] | 3.2 10 ⁴ | 0.02 ^[d] | - | - |

^[a] Photosensibilité sous excitation à un photon, déduite d'expériences de photolyses comparatives à 455 nm en utilisant une valeur de $\Phi_u = 0,39$ pour (Asp)DEAC450-[Gly]. ^[b] Photosensibilité sous excitation à deux photons ($\delta_u = \sigma_2^{\max} Q_u$) déduite des expériences de cinétique comparative à un photon dans CD₃CN/D₂O et des valeurs de σ_2^{\max} dans le DMSO. ^[c] Valeur rapportée dans la réf. ^[109] à 900 nm. ^[d] Photodégradation du composé dans les conditions de photolyse.

Une estimation des photosensibilités à un et deux photons peut être déduite des valeurs de Q_u obtenues. La DEAC450 reste le composé le plus sensible en IPA, avec un ϵ_u supérieur à 10⁴ M⁻¹ cm⁻¹ dans MeCN/H₂O (90/10). Bien que possédant des ϵ^{\max} supérieurs, les nouveaux composés dipolaires sont tous affectés par la baisse de Q_u enregistrée. La photosensibilité de nos composés en excitation biphotonique est évaluée à environ 35 GM. Il s'avère que l'augmentation de σ_2 liée à la force du groupement électroattracteur est presque exactement compensée la baisse de Q_u concomitante.

En considérant les résultats dans leur ensemble, une tendance générale se dégage. Le rendement quantique de photolibération des coumarines semble diminuer à mesure que le pouvoir attracteur du groupement en position 3- augmente. Cet effet atteint son paroxysme sur le composé **DEAC-vBTD**. Très récemment, Lin *et al.* ont rapporté que le rendement quantique de photolibération de leurs DEAC augmentait avec le pouvoir donneur de leurs substituants en position 3-.^[276] Leur postulat implique une stabilisation et un piégeage du carbocation intermédiaire assisté par le groupement styryl enrichi. Notre tendance irait finalement dans le même sens, ce qui représente un pas important dans la rationalisation du rendement quantique de photolibération pour l'élaboration de nouvelles cages.

IV. Conclusions

La famille des coumarines présente une richesse structurelle et une versatilité hors norme pour le design de nouveaux décageurs. Inspirés par les performances photochimiques de la DEAC450, les travaux entrepris dans ce chapitre ont conduit à une série de modifications structurelles (pont π , effets électroniques, centrosymétrie, et thionation) dont la feuille de route devait nous permettre d'établir des relations structure-propriétés. Confrontés à des difficultés de synthèse liées notamment à un manque de réactivité lors des couplages organométalliques, seule une partie des composés ciblés a pour l'instant pu être synthétisée.

Le comportement sous irradiation de cette série de composés, étendus par différents groupements vinyl-azoles électroattracteurs, a pu ensuite être étudié dans un mélange de solvant organique et d'eau. Les résultats montrent que les modifications opérées entraînent bien une modification significative de σ_2 , qui est cependant exactement compensée entre les composés par la baisse de Q_u simultanée. Trois des quatre composés synthétisés présentent une efficacité de photolibération à deux photons parmi les plus importantes rapportées à ce jour pour des cages de structure simple. Contrairement au composé parent, la DEAC450, ils présentent aussi la particularité d'être excitable à deux longueurs d'onde distinctes dans le proche infrarouge. Cette caractéristique pourrait potentiellement être intéressante pour cager à la fois des neurotransmetteurs excitateurs et inhibiteurs avec le même composé, et les libérer à volonté avec deux longueurs d'ondes différentes.

L'étude de ces nouveaux composés a aussi permis de mettre en évidence une relation entre la valeur du rendement quantique de photolibération des dérivés DEAC et la force des effets électroniques des substituants introduits en position 3-. En accord avec les travaux de Lin *et al.*^[276] développés parallèlement aux nôtres, il semble *a priori* que le Φ_u soit influencé négativement par un appauvrissement en électrons. Ce début de rationalisation est un pas en avant important pour le design de décageurs plus efficaces pour applications biologiques. Cette interprétation sera prochainement étayée par la synthèse de nouveaux composés pour compléter la présente série. En ce sens, le quadrupôle **230**, dont le cœur est cette fois électroniquement « neutre », pourrait être particulièrement intéressant.

Conclusions générales

Ces travaux de thèse s'inscrivent dans les larges thématiques du signalement physiologique, et de la libération photo-induite de molécules d'intérêt biologiques. À l'heure où les fibres ou tissus optiques médicalisés et les microscopes à deux photons se démocratisent dans les laboratoires et les hôpitaux, on ne saurait que trop en souligner les enjeux en matière de santé et d'avancées scientifiques.

Les groupements protecteurs photolabiles font partie de ces outils moléculaires dont la portée dépasse les frontières de la chimie. La perspective de déclencher à la demande une réponse biologique avec un stimulus aussi doux et précis que la lumière est en effet séduisante, mais les exigences sont à la hauteur de l'enjeu. Pour le chimiste, l'ingénierie moléculaire de cages pouvant être excitées dans la fenêtre de transparence biologique, solubles dans l'eau, inertes dans le noir et dans le milieu biologique, tout en étant suffisamment efficaces pour éviter les potentiels dommages liés à une exposition prolongée à la lumière est un défi de taille traversant les disciplines.

Dans ce manuscrit ont été présentés les efforts menés vers la réponse à ces problématiques, en se concentrant sur les décageurs pouvant être activés dans la fenêtre de transparence biologique par excitation biphotonique. Trois stratégies de conception ont été présentées.

La modification directe de la structure π -conjuguée du chromophore, stratégie la plus communément appliquée, a permis de préparer plusieurs cages sensibles à deux longueurs d'onde dans le PIR. L'étude a aussi permis de rationaliser partiellement les paramètres régissant l'efficacité photochimique. Cette stratégie est la plus incertaine, et paradoxalement la plus facile à mettre en œuvre. Les coumarines sont des candidates particulièrement adaptées à cette stratégie au vu de la versatilité de leurs propriétés photophysique.

Pour pallier à l'incertitude de cette stratégie, il est possible de décorréler le phénomène d'absorption de la photolibération en mettant au point des systèmes multichromophoriques comportant une ou plusieurs antennes à énergie. Cette méthode, présentée dans les chapitres II, III et IV a permis, par un design et un choix de sous-unités appropriés, de repousser les limites de performance de l'*uncaging* à deux photons en obtenant des valeurs de δ_u plus de dix fois supérieures aux meilleures cages rapportées à ce jour. Cette technique présente toutefois des

limites. La synthèse de ces architectures multichromophoriques complexes est longue et coûteuse. Les composés finaux sont de taille et de poids moléculaire très importants, avec ce que cela implique en termes de solubilité et de compatibilité biologique. En outre, les fluorophores utilisés pour le transfert d'énergie doivent être adaptés à une utilisation en milieu aqueux.

Finalement, en axant la conception sur les problématiques de biocompatibilité et d'hydrosolubilité, des nanoparticules cœur-écorce, fonctionnalisées par chimie de surface, pour la libération d'agents anticancéreux ont été préparées. Ces nano-objets présentent à priori toutes les qualités requises pour une utilisation en nanomédecine, et des tests biologiques seront prochainement menés en ce sens. Ces travaux n'ont pas été présentés dans ce manuscrit pour des raisons de confidentialité.

Ces trois stratégies présentent des avantages et des inconvénients. Il serait finalement dérisoire de juger de l'intérêt, puisqu'il est finalement question de trouver la bonne formule et le bon équilibre, en tenant compte des critères propres à chaque application. Toutefois, il semblerait que, depuis quelques temps, les cages rapportées commencent à atteindre des photosensibilités louables pour les applications souhaitées, même en 2PA. Face à cette constatation, il serait probablement souhaitable que la performance ne soit plus nécessairement une priorité absolue, mais que les futures stratégies de design soit orientées en priorité sur la façon de vectoriser la cage dans le milieu biologique et sur les contraintes qui lui sont spécifiques, par le biais d'un grand dialogue interdisciplinaire.

Aussi, dans la continuité de ce manuscrit, des efforts seront prochainement menés pour rendre les systèmes moléculaires synthétisés compatibles avec une utilisation en milieu physiologique. Il apparaît que l'incorporation de motifs hydrophiles est une stratégie viable pour les « petits » décageurs du chapitre VI. Les systèmes coopératifs « macromoléculaires » seraient, eux, plus adaptés à une encapsulation au sein de vésicules. Cette approche permettrait d'accéder à des décageurs ultra-sensibles à l'excitation biphotonique, de structure parfaitement contrôlée et définie, qui ouvriraient potentiellement de nouvelles portes biologiques.

Bibliographie

- [1] F. Yang, L. G. Moss, G. N. Phillips, *Nat. Biotechnol.* **1996**, *14*, 1246–1251.
- [2] C. Taboada, A. E. Brunetti, F. N. Pedron, F. C. Neto, D. A. Estrin, S. E. Bari, L. B. Chemes, N. P. Lopes, M. G. Lagorio, J. Faivovich, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2017**, *114*, 3672–3677.
- [3] M. H. J. Oh, M. R. Salvador, C. Y. Wong, G. D. Scholes, *ChemPhysChem* **2011**, *12*, 88–100.
- [4] R. L. Sutherland, D. G. McLean, S. Kirkpatrick, *Handbook of Nonlinear Optics*, Marcel Dekker, New York, **2003**.
- [5] M. Göppert-Mayer, *Ann. Phys.* **1931**, *401*, 273–294.
- [6] W. Kaiser, C. G. B. Garrett, *Phys. Rev. Lett.* **1961**, *7*, 229–231.
- [7] B. Valeur, *Molecular Fluorescence Principles and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.
- [8] J. Hales, D. J. Hagan, E. W. V. Stryland, in *2003 Conf. Lasers Electro-Opt. Eur. CLEOEurope 2003 IEEE Cat No03TH8666*, **2003**, pp. 212-.
- [9] J. M. Hales, D. J. Hagan, E. W. Van Stryland, K. J. Schafer, A. R. Morales, K. D. Belfield, P. Pacher, O. Kwon, E. Zojer, J. L. Bredas, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 3152–3160.
- [10] C. M. Cirloganu, L. A. Padilha, D. A. Fishman, S. Webster, D. J. Hagan, E. W. V. Stryland, *Opt. Express* **2011**, *19*, 22951–22960.
- [11] R. Weissleder, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 316–317.
- [12] F. Terenziani, C. Katan, E. Badaeva, S. Tretiak, M. Blanchard-Desce, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 4641–4678.
- [13] C. Andraud, O. Maury, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, *2009*, 4357–4371.
- [14] M. Rumi, J. W. Perry, *Adv. Opt. Photonics* **2010**, *2*, 451.
- [15] P. N. Butcher, D. Cotter, *The Elements of Nonlinear Optics*, Cambridge University Press, **1991**.
- [16] A. D. Buckingham, in *Adv. Chem. Phys.* (Ed.: J.O. Hirschfelder), John Wiley & Sons, Inc., **1967**, pp. 107–142.
- [17] A. Takahashi, S. Mukamel, *J. Chem. Phys.* **1994**, *100*, 2366–2384.
- [18] B. J. Orr, J. F. Ward, *Mol. Phys.* **1971**, *20*, 513–526.
- [19] S. Mazumdar, D. Guo, S. N. Dixit, *Synth. Met.* **1993**, *57*, 3881–3888.
- [20] R. R. Birge, B. M. Pierce, *J. Chem. Phys.* **1979**, *70*, 165–178.
- [21] C. W. Dirk, L.-T. Cheng, M. G. Kuzyk, *Int. J. Quantum Chem.* **1992**, *43*, 27–36.
- [22] M. G. Kuzyk, K. D. Singer, G. I. Stegeman, *Adv. Opt. Photonics* **2013**, *5*, 4–82.
- [23] W. J. Meath, E. A. Power, *J. Phys. B At. Mol. Phys.* **1984**, *17*, 763.
- [24] O. V. Przhonska, S. Webster, L. A. Padilha, H. Hu, A. D. Kachkovski, D. J. Hagan, E. W. V. Stryland, in *Adv. Fluoresc. Report. Chem. Biol. I*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2010**, pp. 105–147.
- [25] E. Zojer, D. Beljonne, T. Kogej, H. Vogel, S. R. Marder, J. W. Perry, J. L. Brédas, *J. Chem. Phys.* **2002**, *116*, 3646–3658.
- [26] 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, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9500–9510.
- [27] M. Pawlicki, H. A. Collins, R. G. Denning, H. L. Anderson, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3244–3266.
- [28] G. S. He, L.-S. Tan, Q. Zheng, P. N. Prasad, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1245–1330.
- [29] E. Collini, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 3725–3736.
- [30] T. Kogej, D. Beljonne, F. Meyers, J. W. Perry, S. R. Marder, J. L. Brédas, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *298*, 1–6.
- [31] W. L. Peticolas, J. P. Goldsborough, K. E. Rieckhoff, *Phys. Rev. Lett.* **1963**, *10*, 43–45.
- [32] 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, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 1863–1874.
- [33] J. E. Ehrlich, X. L. Wu, I.-Y. S. Lee, Z.-Y. Hu, H. Röckel, S. R. Marder, J. W. Perry, *Opt. Lett.* **1997**, *22*, 1843–1845.

- [34] M. Albota, D. Beljonne, J.-L. Brédas, J. E. Ehrlich, J.-Y. Fu, A. A. Heikal, S. E. Hess, T. Kogej, M. D. Levin, S. R. Marder, et al., *Science* **1998**, *281*, 1653–1656.
- [35] O. Mongin, L. Porrès, M. Charlot, C. Katan, M. Blanchard-Desce, *Chem. – Eur. J.* **2007**, *13*, 1481–1498.
- [36] Y. Tian, C.-Y. Chen, C.-C. Yang, A. C. Young, S.-H. Jang, W.-C. Chen, A. K.-Y. Jen, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 1977–1987.
- [37] C. Hansch, A. Leo, R. W. Taft, *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 165–195.
- [38] M. Drobizhev, Y. Stepanenko, Y. Dzenis, A. Karotki, A. Rebane, P. N. Taylor, H. L. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15352–15353.
- [39] M. J. Frampton, H. Akdas, A. R. Cowley, J. E. Rogers, J. E. Slagle, P. A. Fleitz, M. Drobizhev, A. Rebane, H. L. Anderson, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5365–5368.
- [40] Z. Pokladek, N. Ripoche, M. Betou, Y. Trolez, O. Mongin, J. Olesiak-Banska, K. Matczyszyn, M. Samoc, M. G. Humphrey, M. Blanchard-Desce, et al., *Chem. – Eur. J.* **2016**, *22*, 10155–10167.
- [41] M. Drobizhev, A. Karotki, Y. Dzenis, A. Rebane, Z. Suo, C. W. Spangler, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 7540–7543.
- [42] D. Beljonne, W. Wenseleers, E. Zojer, Z. Shuai, H. Vogel, S. j. k. Pond, J. w. Perry, S. r. Marder, J.-L. Brédas, *Adv. Funct. Mater.* **2002**, *12*, 631–641.
- [43] W.-H. Lee, H. Lee, J.-A. Kim, J.-H. Choi, M. Cho, S.-J. Jeon, B. R. Cho, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10658–10667.
- [44] M. Drobizhev, A. Karotki, A. Rebane, C. W. Spangler, *Opt. Lett.* **2001**, *26*, 1081–1083.
- [45] O. Mongin, T. R. Krishna, M. H. V. Werts, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, M. Blanchard-Desce, *Chem. Commun.* **2006**, 915–917.
- [46] S.-J. Chung, S. Zheng, T. Odani, L. Beverina, J. Fu, L. A. Padilha, A. Biesso, J. M. Hales, X. Zhan, K. Schmidt, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14444–14445.
- [47] T. R. Krishna, M. Parent, M. H. V. Werts, L. Moreaux, S. Gmouh, S. Charpak, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, M. Blanchard-Desce, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4645–4648.
- [48] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 380.
- [49] M. DeRosa, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233–234*, 351–371.
- [50] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 889–905.
- [51] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer, New York, **2006**.
- [52] A. M. Brouwer, *Pure Appl. Chem.* **2011**, *83*, 2213–2228.
- [53] D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836–850.
- [54] M. Kasha, *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 71–74.
- [55] J. Najbar, M. Mac, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1991**, *87*, 1523–1529.
- [56] S. P. McGlynn, J. Daigre, F. J. Smith, *J. Chem. Phys.* **1963**, *39*, 675–679.
- [57] D. R. Kearns, A. J. Stone, *J. Chem. Phys.* **1971**, *55*, 3383–3389.
- [58] D. F. Evans, *J. Chem. Soc. Resumed* **1957**, *0*, 1351–1357.
- [59] M. Inokuti, F. Hirayama, *J. Chem. Phys.* **1965**, *43*, 1978–1989.
- [60] R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Bioenerg.* **1985**, *811*, 265–322.
- [61] G. I. Likhtenshtein, *Solar Energy Conversion: Chemical Aspects*, John Wiley & Sons, **2012**.
- [62] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55–75.
- [63] P. G. Wu, L. Brand, *Anal. Biochem.* **1994**, *218*, 1–13.
- [64] P. R. Selvin, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2000**, *7*, 730.
- [65] R. M. Clegg, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1995**, *6*, 103–110.
- [66] E. A. Jares-Erijman, T. M. Jovin, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1387.
- [67] G. Bunt, F. S. Wouters, in *Int. Rev. Cytol.*, Academic Press, **2004**, pp. 205–277.
- [68] L. Stryer, *Annu. Rev. Biochem.* **1978**, *47*, 819–846.
- [69] G. Jiang, A. S. Susha, A. A. Lutich, F. D. Stefani, J. Feldmann, A. L. Rogach, *ACS Nano* **2009**, *3*, 4127–4131.
- [70] P. K. Dutta, R. Varghese, J. Nangreave, S. Lin, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11985–11993.

- [71] J.-B. Verlhac, G. Clermont, M. Blanchard-Desce, *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2017**, *21*, 77–87.
- [72] J. Li, S. Jeong, L. Esser, P. G. Harran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4765–4769.
- [73] R. Blomhoff, H. K. Blomhoff, *J. Neurobiol.* **2006**, *66*, 606–630.
- [74] H. Dürr, H. Bouas-Laurent, *Photochromism: Molecules and Systems*, Elsevier, **2003**.
- [75] R. B. Woodward, R. Hoffmann, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 395–397.
- [76] M. Yasuda, T. Kishi, C. Goto, H. Satoda, K. Nakabayashi, T. Minami, K. Shima, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6465–6468.
- [77] F. D. Lewis, S. V. Barancyk, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8653–8661.
- [78] N. Vallavoju, S. Selvakumar, B. C. Pemberton, S. Jockusch, M. P. Sibi, J. Sivaguru, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 5446–5451.
- [79] J. Xuan, X.-D. Xia, T.-T. Zeng, Z.-J. Feng, J.-R. Chen, L.-Q. Lu, W.-J. Xiao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5653–5656.
- [80] J. A. Barltrop, P. Schofield, *Tetrahedron Lett.* **1962**, *3*, 697–699.
- [81] D. H. R. Barton, Y. L. Chow, A. Cox, G. W. Kirby, *Tetrahedron Lett.* **1962**, *3*, 1055–1057.
- [82] J. Engels, E. J. Schlaeger, *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 907–911.
- [83] J. H. Kaplan, B. Forbush, J. F. Hoffman, *Biochemistry (Mosc.)* **1978**, *17*, 1929–1935.
- [84] N. I. Kiskin, D. Ogden, *Eur. Biophys. J.* **2002**, *30*, 571–587.
- [85] W. Denk, J. H. Strickler, W. W. Webb, *Science* **1990**, *248*, 73–76.
- [86] S. R. Adams, R. Y. Tsien, *Annu. Rev. Physiol.* **1993**, *55*, 755–784.
- [87] M. Matsuzaki, G. C. R. Ellis-Davies, T. Nemoto, Y. Miyashita, M. Iino, H. Kasai, *Nat. Neurosci.* **2001**, *4*, 1086–1092.
- [88] T. Branco, B. A. Clark, M. Häusser, *Science* **2010**, *329*, 1671–1675.
- [89] F. F. Trigo, J. E. T. Corrie, D. Ogden, *J. Neurosci. Methods* **2009**, *180*, 9–21.
- [90] E. Fino, R. Araya, D. S. Peterka, M. Salierno, R. Etchenique, R. Yuste, *Front. Neural Circuits* **2009**, *3*, DOI 10.3389/neuro.04.002.2009.
- [91] A. G. Carter, B. L. Sabatini, *Neuron* **2004**, *44*, 483–493.
- [92] S. Shoham, D. H. O’Connor, D. V. Sarkisov, S. S.-H. Wang, *Nat. Methods* **2005**, *2*, 837–843.
- [93] V. Nikolenko, K. E. Poskanzer, R. Yuste, *Nat. Methods* **2007**, *4*, 943–950.
- [94] V. Nikolenko, B. O. Watson, R. Araya, A. Woodruff, D. S. Peterka, R. Yuste, *Front. Neural Circuits* **2008**, *2*, DOI 10.3389/neuro.04.005.2008.
- [95] C. Lutz, T. S. Otis, V. DeSars, S. Charpak, D. A. DiGregorio, V. Emiliani, *Nat. Methods* **2008**, *5*, 821–827.
- [96] M. Zahid, M. Vélez-Fort, E. Papagiakoumou, C. Ventalon, M. C. Angulo, V. Emiliani, *PLOS ONE* **2010**, *5*, e9431.
- [97] T. Abrahamsson, L. Cathala, K. Matsui, R. Shigemoto, D. A. DiGregorio, *Neuron* **2012**, *73*, 1159–1172.
- [98] R. Araya, *Front. Neuroanat.* **2014**, *8*, DOI 10.3389/fnana.2014.00141.
- [99] P. Klán, T. Šolomek, C. G. Bochet, A. Blanc, R. Givens, M. Rubina, V. Popik, A. Kostikov, J. Wirz, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 119–191.
- [100] A. P. Pelliccioli, J. Wirz, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 441–458.
- [101] A. Herrmann, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 446–459.
- [102] N. I. Kiskin, R. Chillingworth, J. A. McCray, D. Piston, D. Ogden, *Eur. Biophys. J.* **2002**, *30*, 588–604.
- [103] A. Hopt, E. Neher, *Biophys. J.* **2001**, *80*, 2029–2036.
- [104] G. Bort, T. Gallavardin, D. Ogden, P. I. Dalko, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4526–4537.
- [105] C. G. Bochet, A. Blanc, in *Handb. Synth. Photochem.*, John Wiley & Sons, **2009**.
- [106] R. W. Yip, D. K. Sharma, R. Giasson, D. Gravel, *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 5328–5330.
- [107] Y. V. Il’ichev, M. A. Schwörer, J. Wirz, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4581–4595.
- [108] J. E. T. Corrie, A. Barth, V. R. N. Munasinghe, D. R. Trentham, M. C. Hutter, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8546–8554.
- [109] T. Furuta, S. S.-H. Wang, J. L. Dantzker, T. M. Dore, W. J. Bybee, E. M. Callaway, W. Denk, R. Y. Tsien, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1999**, *96*, 1193–1200.

- [110] L. C. Katz, M. B. Dalva, *J. Neurosci. Methods* **1994**, *54*, 205–218.
- [111] H. Barzynski, D. Sanger, *Angew. Makromol. Chem.* **1981**, *93*, 131–141.
- [112] J. A. Barltrop, P. J. Plant, P. Schofield, *Chem. Commun. Lond.* **1966**, *0*, 822–823.
- [113] I. Aujard, C. Benbrahim, M. Gouget, O. Ruel, J.-B. Baudin, P. Neveu, L. Jullien, *Chem. – Eur. J.* **2006**, *12*, 6865–6879.
- [114] R. Wieboldt, K. R. Gee, L. Niu, D. Ramesh, B. K. Carpenter, G. P. Hess, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 8752–8756.
- [115] S. Walbert, W. Pfleiderer, U. E. Steiner, *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 1601–1611.
- [116] S. Buhler, I. Lagoja, H. Giegrich, K.-P. Stengele, W. Pfleiderer, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 620–659.
- [117] A. Specht, J.-S. Thomann, K. Alarcon, W. Wittayanan, D. Ogden, T. Furuta, Y. Kurakawa, M. Goeldner, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1690–1695.
- [118] D. L. Pettit, S. S.-H. Wang, K. R. Gee, G. J. Augustine, *Neuron* **1997**, *19*, 465–471.
- [119] E. B. Brown, J. B. Shear, S. R. Adams, R. Y. Tsien, W. W. Webb, *Biophys. J.* **1999**, *76*, 489–499.
- [120] A. Momotake, N. Lindegger, E. Niggli, R. J. Barsotti, G. C. R. Ellis-Davies, *Nat. Methods* **2006**, *3*, 35–40.
- [121] P. Lipp, E. Niggli, *J. Physiol.* **1998**, *508*, 801–809.
- [122] S. Gug, S. Charon, A. Specht, K. Alarcon, D. Ogden, B. Zietz, J. Leonard, S. Haacke, F. Bolze, J.-F. Nicoud, et al., *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1303–1307.
- [123] A. Specht, F. Bolze, L. Donato, C. Herbivo, S. Charon, D. Warther, S. Gug, J.-F. Nicoud, M. Goeldner, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 578–586.
- [124] L. Donato, A. Mourot, C. M. Davenport, C. Herbivo, D. Warther, J. Leonard, F. Bolze, J.-F. Nicoud, R. H. Kramer, M. Goeldner, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1840–1843.
- [125] K. M. Schelkle, T. Griesbaum, D. Ollech, S. Becht, T. Buckup, M. Hamburger, R. Wombacher, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 2825–2829.
- [126] S. Gug, F. Bolze, A. Specht, C. Bourgogne, M. Goeldner, J.-F. Nicoud, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 9667–9671.
- [127] H. K. Agarwal, R. Janicek, S.-H. Chi, J. W. Perry, E. Niggli, G. C. R. Ellis-Davies, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3687–3693.
- [128] J. C. Sheehan, K. Umezawa, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 3771–3774.
- [129] R. S. Givens, P. S. Athey, L. W. Kueper, B. Matuszewski, J. Y. Xue, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8708–8710.
- [130] R. S. Givens, C.-H. Park, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6259–6262.
- [131] R. S. Givens, A. Jung, C.-H. Park, J. Weber, W. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8369–8370.
- [132] R. S. Givens, J. F. W. Weber, P. G. Conrad, G. Orosz, S. L. Donahue, S. A. Thayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2687–2697.
- [133] R. S. Givens, D. Heger, B. Hellrung, Y. Kamdzhilov, M. Mac, P. G. Conrad, E. Cope, J. I. Lee, J. F. Mata-Segreda, R. L. Schowen, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3307–3309.
- [134] R. S. Givens, M. Rubina, J. Wirz, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 472–488.
- [135] A. L. Houk, R. S. Givens, C. G. Elles, *J. Phys. Chem. B* **2016**, *120*, 3178–3186.
- [136] P. G. Conrad, R. S. Givens, J. F. W. Weber, K. Kandler, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1545–1547.
- [137] B. Amit, D. A. Ben-Efraim, A. Patchornik, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 843–844.
- [138] G. Papageorgiou, D. C. Ogden, A. Barth, J. E. T. Corrie, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6503–6504.
- [139] G. Papageorgiou, J. E. T. Corrie, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8197–8205.
- [140] M. Canepari, L. Nelson, G. Papageorgiou, J. E. Corrie, D. Ogden, *J. Neurosci. Methods* **2001**, *112*, 29–42.
- [141] J. Corrie, G. Papageorgiou, *7-Nitroindoline Derivatives and Their Uses*, **2004**, WO2004085394 (A1).
- [142] G. Papageorgiou, D. Ogden, G. Kelly, J. E. T. Corrie, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, *4*, 887–896.
- [143] J. Morrison, P. Wan, J. E. T. Corrie, G. Papageorgiou, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 960–969.

- [144] G. Papageorgiou, M. Lukeman, P. Wan, J. E. T. Corrie, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, *3*, 366–373.
- [145] F. F. Trigo, G. Papageorgiou, J. E. T. Corrie, D. Ogden, *J. Neurosci. Methods* **2009**, *181*, 159–169.
- [146] O. D. Fedoryak, J.-Y. Sul, P. G. Haydon, G. C. R. Ellis-Davies, *Chem. Commun.* **2005**, 3664–3666.
- [147] G. C. R. Ellis-Davies, M. Matsuzaki, M. Paukert, H. Kasai, D. E. Bergles, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 6601–6604.
- [148] Y. M. Li, H. Y. Zhao, Q. X. Guo, *Nanosci. Nanotechnol. Lett.* **2011**, *3*, 306–308.
- [149] R. S. Givens, B. Matuszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6860–6861.
- [150] T. Šolomek, J. Wirz, P. Klán, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 3064–3072.
- [151] B. Schade, V. Hagen, R. Schmidt, R. Herbrich, E. Krause, T. Eckardt, J. Bendig, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9109–9117.
- [152] R. Schmidt, D. Geissler, V. Hagen, J. Bendig, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5000–5004.
- [153] A. Z. Suzuki, T. Watanabe, M. Kawamoto, K. Nishiyama, H. Yamashita, M. Ishii, M. Iwamura, T. Furuta, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4867–4870.
- [154] B. Cürten, P. H. M. Kullmann, M. E. Bier, K. Kandler, B. F. Schmidt, *Photochem. Photobiol.* **2005**, *81*, 641–648.
- [155] V. Hagen, B. Dekowski, V. Nache, R. Schmidt, D. Geißler, D. Lorenz, J. Eichhorst, S. Keller, H. Kaneko, K. Benndorf, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7887–7891.
- [156] G. P. Hess, B. K. Carpenter, V. R. Shembekar, Y. Chen, *Protecting Group for Carboxylic Acids That Can Be Photolyzed by Visible Light*, **2007**, US2007243519 (A1).
- [157] N. Senda, A. Momotake, T. Arai, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2007**, *80*, 2384–2388.
- [158] V. R. Shembekar, Y. Chen, B. K. Carpenter, G. P. Hess, *Biochemistry (Mosc.)* **2007**, *46*, 5479–5484.
- [159] T. Narumi, H. Takano, N. Ohashi, A. Suzuki, T. Furuta, H. Tamamura, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1184–1187.
- [160] A. Nadler, D. A. Yushchenko, R. Müller, F. Stein, S. Feng, C. Mülle, M. Carta, C. Schultz, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 10056.
- [161] C. Bao, G. Fan, Q. Lin, B. Li, S. Cheng, Q. Huang, L. Zhu, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 572–575.
- [162] J. P. Olson, H.-B. Kwon, K. T. Takasaki, C. Q. Chiu, M. J. Higley, B. L. Sabatini, G. C. R. Ellis-Davies, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5954–5957.
- [163] G. C. R. Ellis-Davies, J. M. Amatrudo, J. P. Olson, G. Lur, C. Q. Chiu, M. J. Higley, *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, *5*, 64–70.
- [164] J. P. Olson, M. R. Banghart, B. L. Sabatini, G. C. R. Ellis-Davies, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 15948–15954.
- [165] H. K. Agarwal, S. Zhai, D. J. Surmeier, G. C. R. Ellis-Davies, *ACS Chem. Neurosci.* **2017**, *8*, 2139–2144.
- [166] M. T. Richers, J. M. Amatrudo, J. P. Olson, G. C. R. Ellis-Davies, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *129*, 199–203.
- [167] A. S. C. Fonseca, A. M. S. Soares, M. S. T. Gonçalves, S. P. G. Costa, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 7892–7900.
- [168] L. Fournier, I. Aujard, T. Le Saux, S. Maurin, S. Beaupierre, J.-B. Baudin, L. Jullien, *Chem. – Eur. J.* **2013**, *19*, 17494–17507.
- [169] L. Fournier, C. Gauron, L. Xu, I. Aujard, T. Le Saux, N. Gagey-Eilstein, S. Maurin, S. Dubruille, J.-B. Baudin, D. Bensimon, et al., *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1528–1536.
- [170] A. Maciejewski, R. P. Steer, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 67–98.
- [171] A. Gandioso, M. Cano, A. Massaguer, V. Marchán, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 11556–11564.
- [172] A. Gandioso, S. Contreras, I. Melnyk, J. Oliva, S. Nonell, D. Velasco, J. García-Amorós, V. Marchán, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 5398–5408.
- [173] S. Weis, Z. Shafiq, R. A. Gropeanu, A. del Campo, *J. Photochem. Photobiol. Chem.* **2012**, *241*, 52–57.
- [174] B. Goegan, F. Terzi, F. Bolze, S. Cambridge, A. Specht, *ChemBioChem* **2018**, *19*, n/a-n/a.

- [175] M. Skwarczynski, M. Noguchi, S. Hirota, Y. Sohma, T. Kimura, Y. Hayashi, Y. Kiso, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4492–4496.
- [176] Q. Huang, C. Bao, W. Ji, Q. Wang, L. Zhu, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 18275–18282.
- [177] P. Stegmaier, J. M. Alonso, A. del Campo, *Langmuir* **2008**, *24*, 11872–11879.
- [178] S. Karthik, N. Puvvada, B. N. P. Kumar, S. Rajput, A. Pathak, M. Mandal, N. D. P. Singh, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 5232–5238.
- [179] L.-M. Herzig, I. Elamri, H. Schwalbe, J. Wachtveitl, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2017**, DOI 10.1039/C7CP02030A.
- [180] O. D. Fedoryak, T. M. Dore, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3419–3422.
- [181] Y. Zhu, C. M. Pavlos, J. P. Toscano, T. M. Dore, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4267–4276.
- [182] M. J. Davis, C. H. Kragor, K. G. Reddie, H. C. Wilson, Y. Zhu, T. M. Dore, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1721–1729.
- [183] J. Ma, A. C. Rea, H. An, C. Ma, X. Guan, M.-D. Li, T. Su, C. S. Yeung, K. T. Harris, Y. Zhu, et al., *Chem. – Eur. J.* **2012**, *18*, 6854–6865.
- [184] A. C. Rea, L. N. Vandenberg, R. E. Ball, A. A. Snouffer, A. G. Hudson, Y. Zhu, D. E. McLain, L. L. Johnston, J. D. Lauderdale, M. Levin, et al., *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 1536–1546.
- [185] D. E. McLain, A. C. Rea, M. B. Widegren, T. M. Dore, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2015**, *14*, 2151–2158.
- [186] M. Petit, C. Tran, T. Roger, T. Gallavardin, H. Dhimane, F. Palma-Cerda, M. Blanchard-Desce, F. C. Acher, D. Ogden, P. I. Dalko, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 6366–6369.
- [187] C. Tran, T. Gallavardin, M. Petit, R. Slimi, H. Dhimane, M. Blanchard-Desce, F. C. Acher, D. Ogden, P. I. Dalko, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 402–405.
- [188] P. Dunkel, C. Tran, T. Gallavardin, H. Dhimane, D. Ogden, P. I. Dalko, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 9899–9908.
- [189] C. Tran, N. Berqouch, H. Dhimane, G. Clermont, M. Blanchard-Desce, D. Ogden, P. I. Dalko, *Chem. – Eur. J.* **2017**, *23*, 1860–1868.
- [190] P. Dalko, M. Petit, D. Ogden, F. Acher, *Multiphoton Activable Quinoline Derivatives, Their Preparation and Their Uses*, **2011**, WO2011086469 (A1).
- [191] S. Picard, E. Genin, G. Clermont, V. Hugues, O. Mongin, M. Blanchard-Desce, *New J. Chem.* **2013**, *37*, 3899–3913.
- [192] A. D. Turner, S. V. Pizzo, G. Rozakis, N. A. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 244–250.
- [193] N. Gagey, P. Neveu, C. Benbrahim, B. Goetz, I. Aujard, J.-B. Baudin, L. Jullien, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9986–9998.
- [194] N. Gagey, P. Neveu, L. Jullien, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2467–2469.
- [195] N. Gagey, M. Emond, P. Neveu, C. Benbrahim, B. Goetz, I. Aujard, J.-B. Baudin, L. Jullien, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2341–2344.
- [196] X.-Y. Duan, B.-C. Zhai, Q.-H. Song, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 593–598.
- [197] A. Paul, R. Mengji, O. Abraham Chandy, S. Nandi, M. Bera, A. Jana, A. Anoop, N. D. Pradeep Singh, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 8544–8552.
- [198] V. Nikolenko, R. Yuste, L. Zayat, L. M. Baraldo, R. Etchenique, *Chem. Commun.* **2005**, *0*, 1752–1754.
- [199] M. Salierno, E. Marceca, D. S. Peterka, R. Yuste, R. Etchenique, *J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104*, 418–422.
- [200] R. Araya, V. Andino-Pavlovsky, R. Yuste, R. Etchenique, *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 1163–1167.
- [201] Y. Venkatesh, Y. Rajesh, S. Karthik, A. C. Chetan, M. Mandal, A. Jana, N. D. P. Singh, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 11168–11175.
- [202] Y. Venkatesh, Y. Rajesh, S. Karthik, A. C. Chetan, M. Mandal, A. Jana, N. D. P. Singh, *J. Org. Chem.* **2016**, DOI 10.1021/acs.joc.6b02152.
- [203] Y. Venkatesh, S. Nandi, M. Shee, B. Saha, A. Anoop, N. D. Pradeep Singh, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 6121–6130.

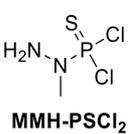
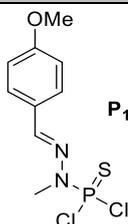
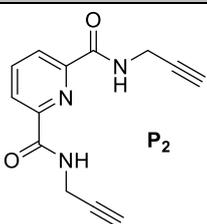
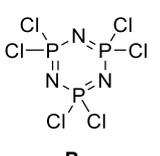
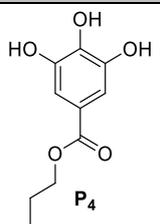
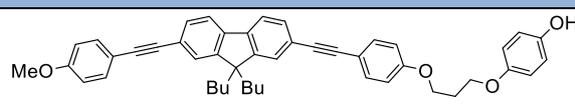
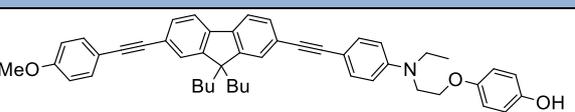
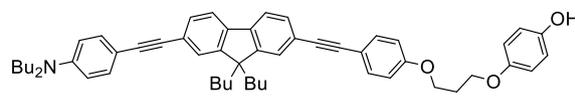
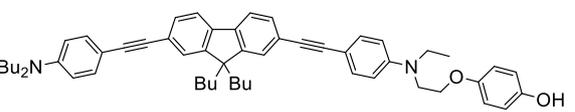
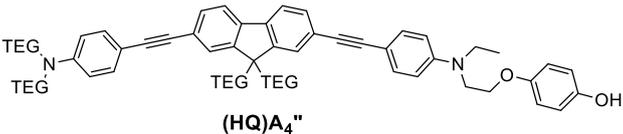
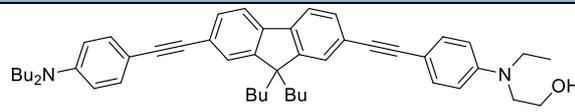
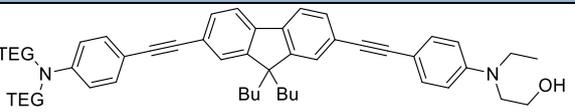
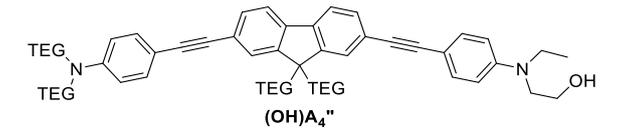
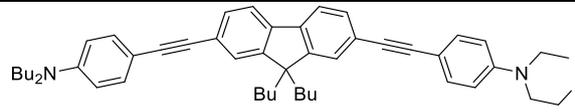
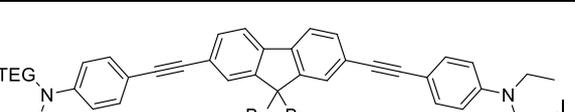
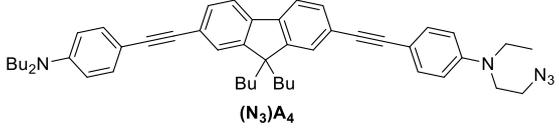
- [204] Y. Venkatesh, S. Karthik, Y. Rajesh, M. Mandal, A. Jana, N. D. P. Singh, *Chem. – Asian J.* **2016**, *11*, 3482–3486.
- [205] N. Umeda, H. Takahashi, M. Kamiya, T. Ueno, T. Komatsu, T. Terai, K. Hanaoka, T. Nagano, Y. Urano, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 2242–2246.
- [206] M. Kawatani, M. Kamiya, H. Takahashi, Y. Urano, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 1–5.
- [207] K. Sitkowska, B. L. Feringa, W. Szymański, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 1819–1827.
- [208] T. Slanina, P. Shrestha, E. Palao, D. Kand, J. A. Peterson, A. S. Dutton, N. Rubinstein, R. Weinstain, A. H. Winter, P. Klán, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 15168–15175.
- [209] A. Chaudhuri, Y. Venkatesh, K. K. Behara, N. D. P. Singh, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 1598–1601.
- [210] Y. Zhao, Q. Zheng, K. Dakin, K. Xu, M. L. Martinez, W.-H. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4653–4663.
- [211] P. Neveu, I. Aujard, C. Benbrahim, T. Le Saux, J.-F. Allemand, S. Vriz, D. Bensimon, L. Jullien, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3744–3746.
- [212] G. Papageorgiou, D. Ogden, J. E. T. Corrie, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7228–7233.
- [213] G. Papageorgiou, D. Ogden, J. E. T. Corrie, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 423–432.
- [214] K. A. Korzycka, P. M. Bennett, E. J. Cueto-Diaz, G. Wicks, M. Drobizhev, M. Blanchard-Desce, A. Rebane, H. L. Anderson, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2419–2426.
- [215] D. E. Falvey, C. Sundararajan, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, *3*, 831–838.
- [216] C. Sundararajan, D. E. Falvey, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2631–2634.
- [217] S. Picard, E. J. Cueto-Diaz, E. Genin, G. Clermont, F. Acher, D. Ogden, M. Blanchard-Desce, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 10805–10807.
- [218] E. J. Cueto Díaz, S. Picard, V. Chevasson, J. Daniel, V. Hugues, O. Mongin, E. Genin, M. Blanchard-Desce, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 102–105.
- [219] G. Dijkstra, W. H. Kruizinga, R. M. Kellogg, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4230–4234.
- [220] C. Katan, M. Charlot, O. Mongin, C. Le Droumaguet, V. Jouikov, F. Terenziani, E. Badaeva, S. Tretiak, M. Blanchard-Desce, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 3152–3169.
- [221] D. L. Andrews, J. S. Ford, *J. Chem. Phys.* **2013**, *139*, 014107.
- [222] C. Rouxel, M. Charlot, O. Mongin, T. R. Krishna, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, M. Blanchard-Desce, *Chem. - Eur. J.* **2012**, *18*, 16450–16462.
- [223] F. Terenziani, M. Morone, S. Gmouh, M. Blanchard-Desce, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 685–696.
- [224] S. R. Adams, J. P. Y. Kao, G. Gryniewicz, A. Minta, R. Y. Tsien, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3212–3220.
- [225] C. A. Parker, *Proc R Soc Lond A* **1953**, *220*, 104–116.
- [226] K. Lee, D. E. Falvey, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9361–9366.
- [227] V. Berl, I. Huc, R. G. Khoury, M. J. Krische, J.-M. Lehn, *Nature* **2000**, *407*, 720–723.
- [228] A. D. Cian, G. Cristofari, P. Reichenbach, E. D. Lemos, D. Monchaud, M.-P. Teulade-Fichou, K. Shin-ya, L. Lacroix, J. Lingner, J.-L. Mergny, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 17347–17352.
- [229] P. Yang, A. De Cian, M.-P. Teulade-Fichou, J.-L. Mergny, D. Monchaud, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2188–2191.
- [230] A. Marchand, A. Granzhan, K. Iida, Y. Tsushima, Y. Ma, K. Nagasawa, M.-P. Teulade-Fichou, V. Gabelica, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 750–756.
- [231] D. A. Leigh, A. Murphy, J. P. Smart, A. M. Z. Slawin, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 728–732.
- [232] P. J. Garegg, *Pure Appl. Chem.* **1984**, *56*, 845–858.
- [233] E. Cueto Diaz, S. Picard, M. Klausen, V. Hugues, P. Pagano, E. Genin, M. Blanchard-Desce, *Chem. – Eur. J.* **2016**, *22*, 10848–10859.
- [234] M. G. Vetelino, J. W. Coe, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 219–222.
- [235] R. F. Abdulla, R. S. Brinkmeyer, *Tetrahedron* **1979**, *35*, 1675–1735.
- [236] E. C. Riesgo, X. Jin, R. P. Thummel, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3017–3022.
- [237] T. Jeffery, J.-C. Galland, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4103–4106.
- [238] T. Jeffery, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 10113–10130.
- [239] J. Muzart, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5789–5816.

- [240] T. Kesharwani, R. C. Larock, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6090–6102.
- [241] B. M. Choudary, N. P. Reddy, M. L. Kantam, Z. Jamil, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6257–6258.
- [242] T. Ozturk, E. Ertas, O. Mert, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5210–5278.
- [243] K. Barral, A. D. Moorhouse, J. E. Moses, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809–1811.
- [244] Y.-W. Lu, C.-W. Chien, P.-C. Lin, L.-D. Huang, C.-Y. Chen, S.-W. Wu, C.-L. Han, K.-H. Khoo, C.-C. Lin, Y.-J. Chen, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 8268–8276.
- [245] O. Rolland, L. Griffe, M. Poupot, A. Maraval, A. Ouali, Y. Coppel, J.-J. Fournié, G. Bacquet, C.-O. Turrin, A.-M. Caminade, et al., *Chem. - Eur. J.* **2008**, *14*, 4836–4850.
- [246] N. Launay, M. Slany, A.-M. Caminade, J. P. Majoral, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3799–3805.
- [247] C. Galliot, D. Prevote, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5470–5476.
- [248] R.-M. Sebastián, G. Magro, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6269–6277.
- [249] A. Nazih, D. Heissler, *Synthesis* **2002**, *2002*, 0203–0206.
- [250] H. Kasai, H. S. Nalwa, H. Oikawa, S. Okada, H. Matsuda, N. Minami, A. Kakuta, K. Ono, A. Mukoh, H. Nakanishi, *Jpn. J. Appl. Phys.* **1992**, *31*, L1132.
- [251] D. Horn, J. Rieger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4330–4361.
- [252] C. Solans, P. Izquierdo, J. Nolla, N. Azemar, M. J. Garcia-Celma, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2005**, *10*, 102–110.
- [253] A. D. Bangham, R. W. Horne, *J. Mol. Biol.* **1964**, *8*, 660-IN10.
- [254] V. P. Torchilin, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 145–160.
- [255] B.-K. An, S.-K. Kwon, S.-D. Jung, S. Y. Park, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14410–14415.
- [256] V. Parthasarathy, S. Fery-Forgues, E. Campioli, G. Recher, F. Terenziani, M. Blanchard-Desce, *Small* **2011**, *7*, 3219–3229.
- [257] E. Genin, Z. Gao, J. A. Varela, J. Daniel, Bsaibess, I. Gosse, L. Groc, L. Cognet, M. Blanchard-Desce, *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 2258–2261.
- [258] C.-C. Chang, M.-C. Hsieh, J.-C. Lin, T.-C. Chang, *Biomaterials* **2012**, *33*, 897–906.
- [259] C.-J. Carling, J. Olejniczak, A. Foucault-Collet, G. Collet, M. L. Viger, V. A. N. Huu, B. M. Duggan, A. Almutairi, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 2392–2398.
- [260] G. Liu, C.-M. Dong, *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 1573–1583.
- [261] C. Schutt, S. Ibsen, E. Zahavy, S. Aryal, S. Kuo, S. Esener, M. Berns, S. Esener, *Pharm. Res.* **2017**, *34*, 2025–2035.
- [262] J. A. Johnson, Y. Y. Lu, A. O. Burts, Y.-H. Lim, M. G. Finn, J. T. Koberstein, N. J. Turro, D. A. Tirrell, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 559–566.
- [263] Y. Liang, W. Gao, X. Peng, X. Deng, C. Sun, H. Wu, B. He, *Biomaterials* **2016**, *100*, 76–90.
- [264] M. Ferrari, *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 161–171.
- [265] A. Z. Wang, R. Langer, O. C. Farokhzad, *Annu. Rev. Med.* **2012**, *63*, 185–198.
- [266] J. Shi, P. W. Kantoff, R. Wooster, O. C. Farokhzad, *Nat. Rev. Cancer* **2017**, *17*, 20–37.
- [267] L. E. Gerlowski, R. K. Jain, *Microvasc. Res.* **1986**, *31*, 288–305.
- [268] L. Zhang, Y. Hu, X. Jiang, C. Yang, W. Lu, Y. H. Yang, *J. Controlled Release* **2004**, *96*, 135–148.
- [269] G. J. Weiss, J. Chao, J. D. Neidhart, R. K. Ramanathan, D. Bassett, J. A. Neidhart, C. H. J. Choi, W. Chow, V. Chung, S. J. Forman, et al., *Invest. New Drugs* **2013**, *31*, 986–1000.
- [270] M. Mąkosza, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 2855–2868.
- [271] U. Pradère, A. Brunschweiler, L. F. R. Gebert, M. Lucic, M. Roos, J. Hall, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 12028–12032.
- [272] K. D. Belfield, A. R. Morales, B.-S. Kang, J. M. Hales, D. J. Hagan, E. W. Van Stryland, V. M. Chapela, J. Percino, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 4634–4641.
- [273] M.-S. Schiedel, C. A. Briehn, P. Bäuerle, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4677–4680.
- [274] J. J. Smith, D. Best, H. W. Lam, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 3770–3772.
- [275] J. Xiao, Y. Huang, Z. Song, W. Feng, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 99095–99098.
- [276] Q. Lin, L. Yang, Z. Wang, Y. Hua, D. Zhang, B. Bao, C. Bao, X. Gong, L. Zhu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 3722–3726.
- [277] C. Würth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles, U. Resch-Genger, *Nat. Protoc.* **2013**, *8*, 1535–1550.
- [278] U. Resch-Genger, K. Rurack, *Pure Appl. Chem.* **2013**, *85*, 2005–2013.

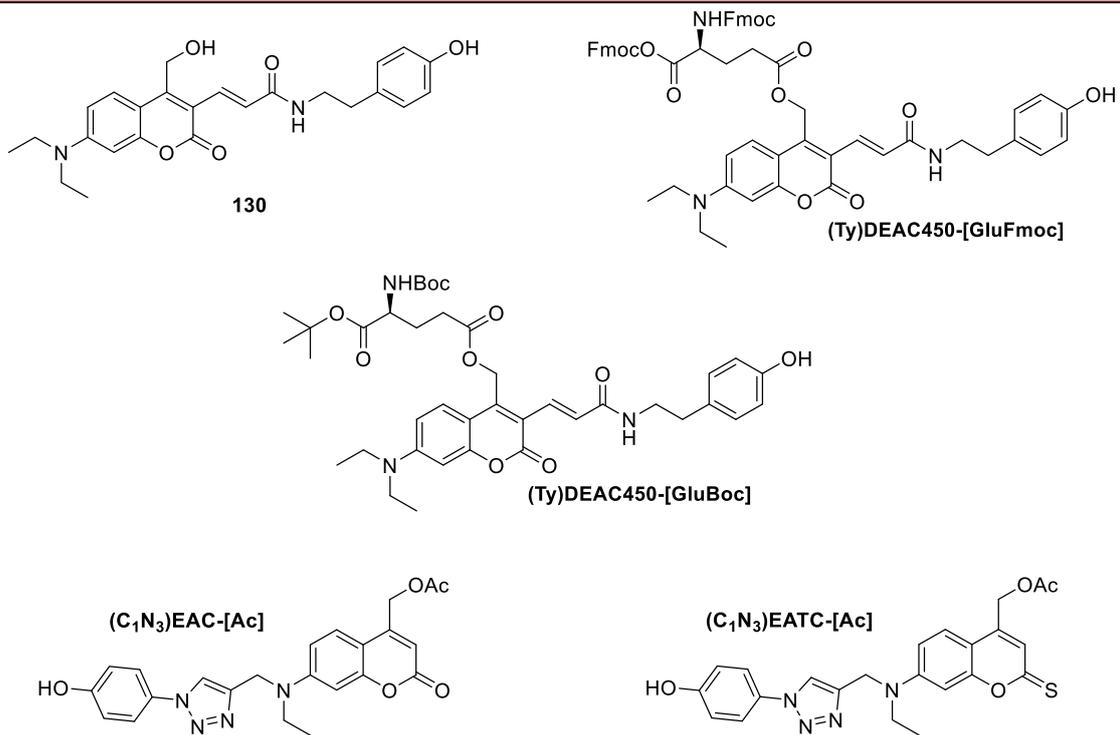
- [279] N. S. Makarov, M. Drobizhev, A. Rebane, *Opt. Express* **2008**, *16*, 4029–4047.
- [280] M. A. Albota, C. Xu, W. W. Webb, *Appl. Opt.* **1998**, *37*, 7352.
- [281] C. Xu, W. W. Webb, *J. Opt. Soc. Am. B* **1996**, *13*, 481.
- [282] M. H. V. Werts, N. Nerambourg, D. Pélégrin, Y. L. Grand, M. Blanchard-Desce, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2005**, *4*, 531–538.
- [283] D. R. Coulson, L. C. Satek, S. O. Grim, in *Inorg. Synth.* (Ed.: R.J. Angelici), John Wiley & Sons, Inc., **1990**, pp. 107–109.
- [284] O. Mongin, M. Sankar, M. Charlot, Y. Mir, M. Blanchard-Desce, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6474–6478.
- [285] R. M.-S. Wong, W. Zhang, L. Guo, *Low Bandgap Dicyanovinyl and Tricyanovinyl Oligothiophenes for Solar Cell Applications*, **2014**, US2014005411 (A1).
- [286] S. Rondeau-Gagné, C. Curutchet, F. Grenier, G. D. Scholes, J.-F. Morin, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 4230–4242.
- [287] H. Mellstedt, S. Byström, J. Vågberg, E. Olsson, *2-Phenyl-3h-Imidazo[4,5-B]Pyridine Derivates Useful as Inhibitors of Mammalian Tyrosine Kinase Ror1 Activity*, **2016**, WO/2016/124553.
- [288] A. D'Aléo, A. Picot, P. L. Baldeck, C. Andraud, O. Maury, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 10269–10279.

Annexes

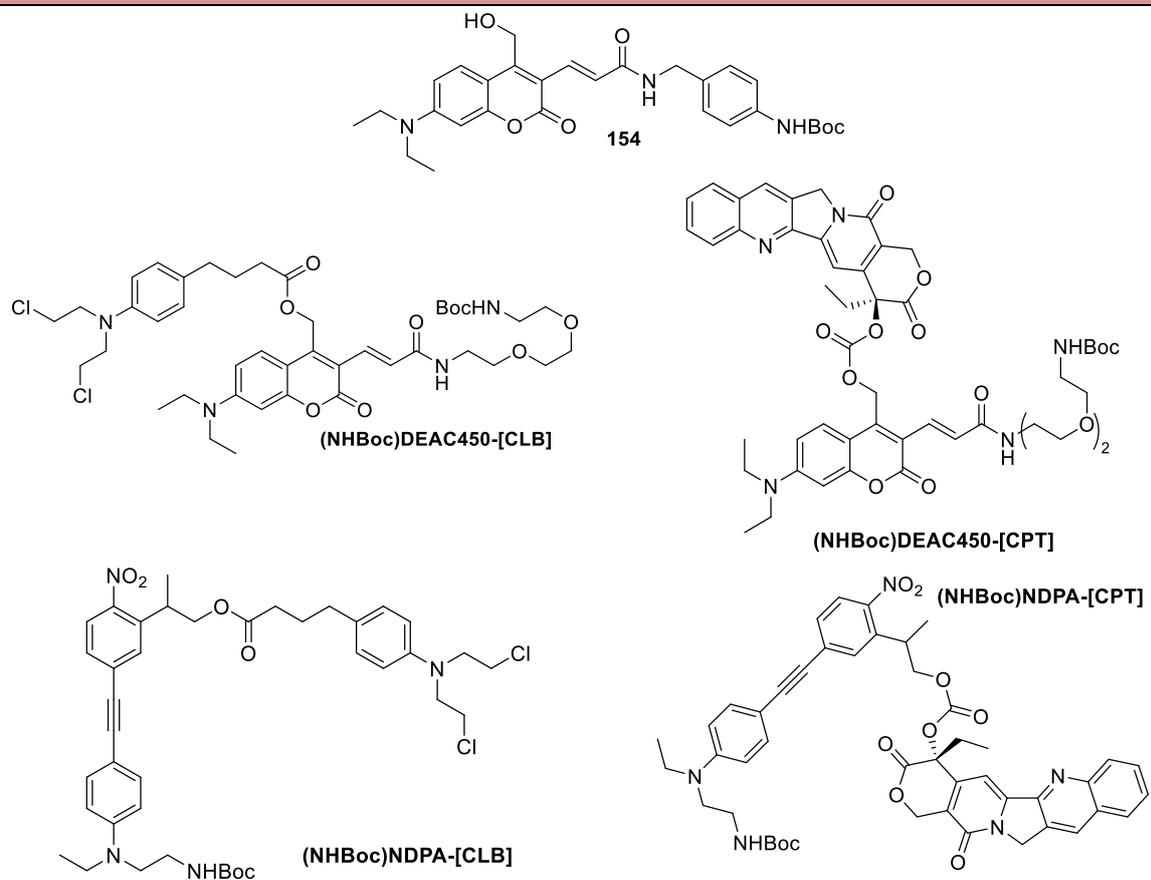
I. Table des composés

| Plateformes | | | | |
|--|--|--|---|--|
|  <p>MMH-PSCl₂</p> |  <p>P₁</p> |  <p>P₂</p> |  <p>P₃</p> |  <p>P₄</p> |
| Antennes quadrupolaires : greffage par fonction hydroquinone | | | | |
|  <p>(HQ)A₁</p> |  <p>(HQ)A₂</p> | | | |
|  <p>(HQ)A₃</p> |  <p>(HQ)A₄</p> | | | |
|  <p>(HQ)A₄''</p> | | | | |
| Antennes quadrupolaires : greffage par fonction alcool | | | | |
|  <p>(OH)A₄</p> |  <p>(OH)A₄'</p> | | | |
|  <p>(OH)A₄''</p> | | | | |
| Antennes quadrupolaires : greffage par l'iode | | | | |
|  <p>(I)A₄</p> |  <p>(I)A₄'</p> | | | |
| Antennes quadrupolaires : greffage par fonction azoture | | | | |
|  <p>(N₃)A₄</p> | | | | |

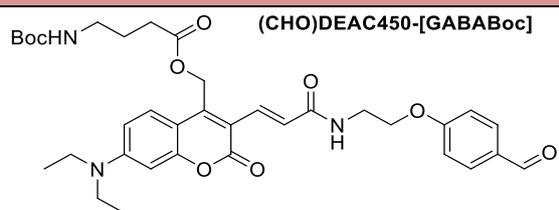
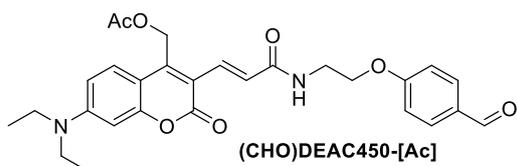
Modules décapeurs : greffage par fonction phénol



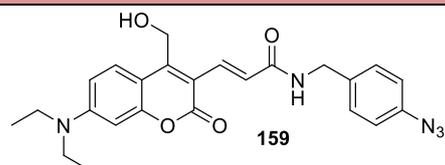
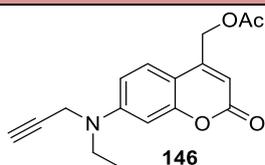
Modules décapeurs : greffage par fonction amine



Modules décageurs : greffage par fonction aldéhyde

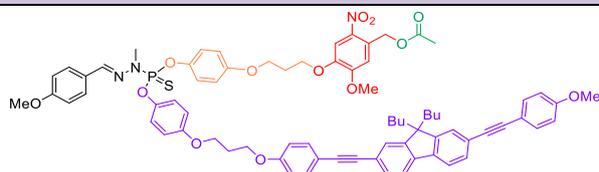


Modules décageurs : greffage par CuAAC

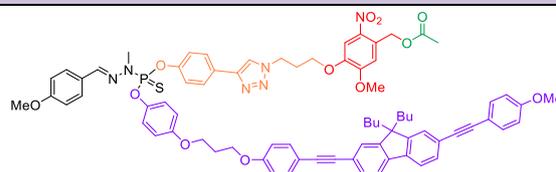


Systèmes coopératifs : dyades

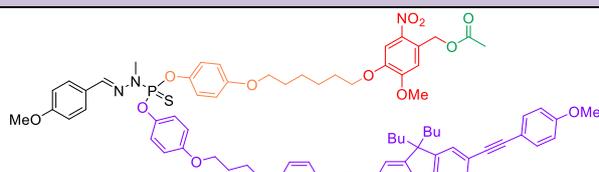
$(C_3)^{NV}D_1-[Ac]$



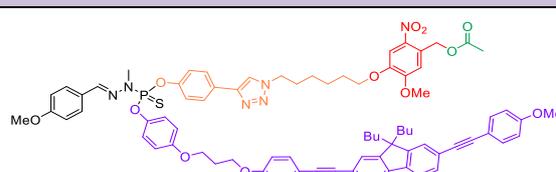
$(C_3N_3)^{NV}D_1-[Ac]$



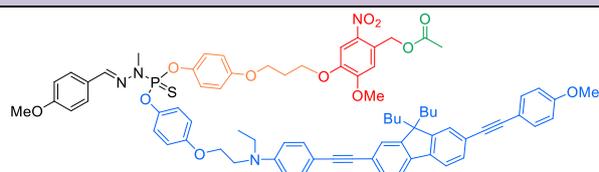
$(C_6)^{NV}D_1-[Ac]$



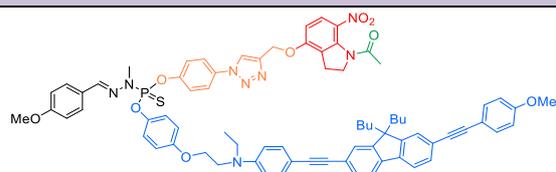
$(C_6N_3)^{NV}D_1-[Ac]$



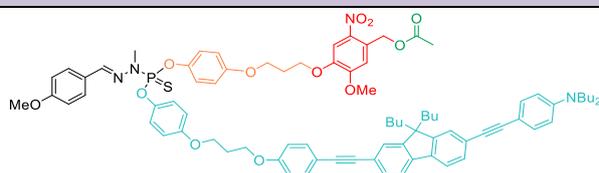
$^{NV}D_2-[Ac]$



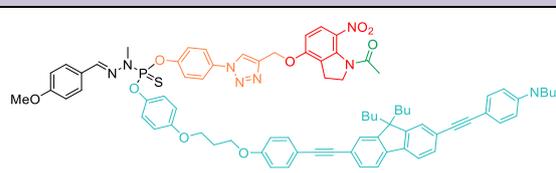
$^{NI}D_2-[Ac]$



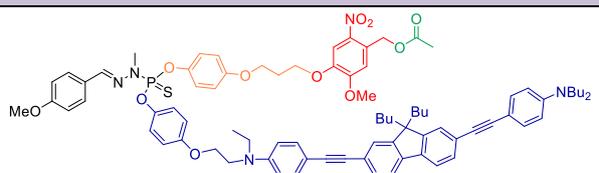
$^{NV}D_3-[Ac]$



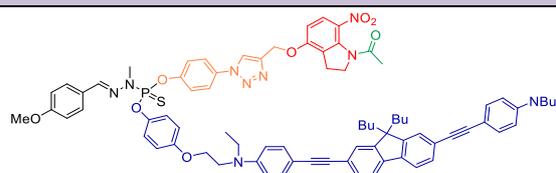
$^{NI}D_3-[Ac]$



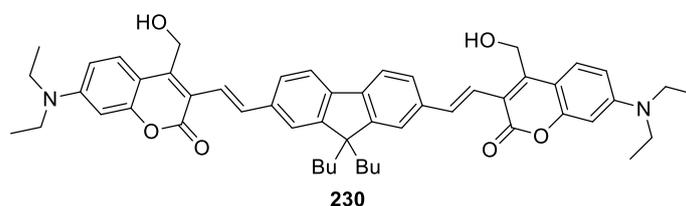
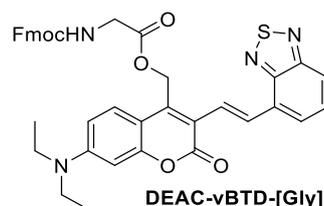
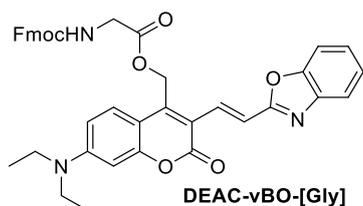
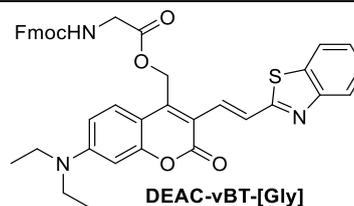
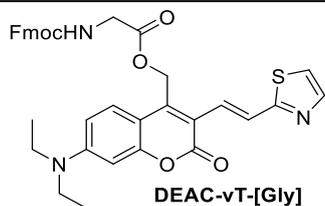
$^{NV}D_4-[Ac]$



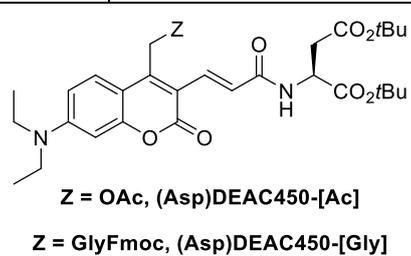
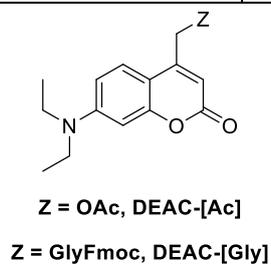
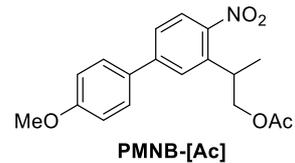
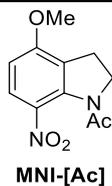
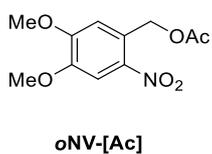
$^{NI}D_4-[Ac]$



Décageurs dipolaires et quadrupolaires de type DEAC étendue



Décageurs de référence pour photolyse



Annexes expérimentales

II. Materials and methods

II.1. Photophysical characterization

All photophysical studies have been performed with freshly-prepared air-equilibrated solutions at room temperature (298 K). UV/Vis absorption spectra of $\sim 10^{-5}$ M solutions were recorded on a Jasco V-670 spectrophotometer. Steady-state fluorescence measurements were performed on dilute solutions (ca. 10^{-6} M, optical density ≤ 0.1) contained in standard 1 cm quartz cuvettes using a Fluorolog spectro fluorometer. The emission spectra were corrected for the wavelength-sensitivity of the detection unit, obtained, for each compound, under excitation at the wavelength of the absorption maximum. Fluorescence quantum yields of these dilute chromophore solutions were measured according to literature procedures^[277,278] using Quinine bisulfate (QBS, $\Phi_f = 0.546$ in H_2SO_4 0.5M, $\lambda_{exc} = 347$ nm), Fluorescein (FLSCN, $\Phi_f = 0.9$ in NaOH 0.1 M, $\lambda_{exc} = 474$ nm), or Rhodamine-6G (R6G, $\Phi_f = 0.94$ in EtOH, $\lambda_{exc} = 488$ nm) depending on the emission range.^[52] The emission quantum yield values derived from these measurements were calculated with Eq. I.27, taking into account the refractive index n , the absorbance A , and the integral of the emission $I_f(\lambda_{exc}, \lambda_f)$. The reported fluorescence quantum yield values obtained via this method are within ± 0.005 .

Fluorescence decays were measured in a time-correlated single photon counting (TCSPC) configuration, under excitation from a NanoLED (370 nm, 455 nm or 570 nm). The instrument response was determined by measuring the light scattered by a Ludox® suspension. The lifetime values were obtained from the deconvolution fit analysis of the decays profiles; the quality of the fits was judged by the reduced χ^2 value ($0.9 < \chi^2 < 1.1$). The reported lifetimes are within ± 0.1 ns.

II.2. 2PA cross-section measurements

TPEF method is based on the measure of the fluorescence emission induced by the simultaneous absorption of two photons. The measurement is done relatively to a 2PA reference,^[279] giving as a result the so-called two-photon action cross section ($\sigma_2\Phi_f$). Measurements performed at each wavelength provides a value called F/P^2 , where F is the fluorescence signal induced by the two-photon excitation and P is the excitation power. This

indicates that fluorescence signal must have a quadratic dependence with the power, then, to produce reliable data, this dependence has to be checked for each wavelength in order to prevent excited state absorption and/or saturation of the signal, overestimating the values of the two-photon cross section. When the measurement of the sample and the reference are done as a function of the excitation power, the $\sigma_2\Phi_f$ of the sample is given by the following equation:

$$\sigma_2\Phi_f = \frac{f_{ref}}{f} \cdot \frac{n^2}{n_{ref}^2} \cdot \frac{C_{ref}}{C} \cdot \frac{F}{P^2} / \left(\frac{F}{P^2} \right)_{ref} \cdot \left[\frac{n_{ref}}{n} \right] \cdot (\sigma_2\Phi_f)_{ref}$$

where the subscript *ref* indicates the reference fluorophore, *f* is the correction factor taking into account the wavelength dispersion of the response function, *n* is the refractive index, *C* is the concentration, and the ratio in squared brackets is the refractive index correction. Determination of the emission quantum yield of the sample hence provides access to the σ_2 value.

In practice, 2PA cross sections (σ_2) were derived from the two-photon excited fluorescence (TPEF) cross sections ($\sigma_2\Phi_f$) and the fluorescence emission quantum yield (Φ_f). TPEF cross sections were measured relative to fluorescein in 0.01M aqueous NaOH in the 680-1000 nm spectral range, and relative to Nile Red in DMSO in the 1000-1160 nm spectral range,^[280] using the well-established method described by Xu and Webb^[281] and the appropriate solvent-related refractive index corrections.^[282] The quadratic dependence of the fluorescence intensity on the excitation power was checked for each sample and all wavelengths. Measurements were conducted using an excitation source delivering fs pulses which prevents excited-state absorption during the pulse duration, a phenomenon which has been shown to lead to overestimated two-photon absorption cross-section values.

To scan the 680-1080 nm range, an Nd:YVO4-pumped Ti:Sapphire oscillator was used generating 140 fs pulses at an 80 MHz rate. To scan the 1000–1200 nm range, an optical parametric oscillator (OPO, PP-BBO) was added to the setup to collect and modulate the output signal of the Ti:Sapphire oscillator. The excitation was focused into the cuvette through a microscope objective (10X, NA 0.25). A Chameleon Ultra II (COHERENT) was used generating 140 fs pulses at an 80 MHz repetition rate. The excitation was focused into the cuvette through a microscope objective (10X, NA 0.25). The fluorescence was detected in epifluorescence mode via a dichroic mirror (Chroma 675dcxru) and a barrier filter (Chroma e650sp-2p) by a compact CCD spectrometer module BWTek BTC112E. Total fluorescence intensities were obtained by integrating the corrected emission. The experimental uncertainty

of the absorption cross-section values determined from this method has been estimated to be $\pm 10\%$.

II.3. One- and two-photon photolysis experiments

The one-photon uncaging sensitivity of the new uncagers was determined by irradiating solutions of the new photosensitive compounds and appropriate references (***o*NV-[Ac]** ($\Phi_u = 0.6\%$ in phosphate buffer),^[109] **MNI-[Ac]** ($\Phi_u = 8\%$ in phosphate buffer)^[87] **PMNB-[Ac]** ($\Phi_u = 10\%$ in phosphate buffer),^[122] **DEAC-[Ac]** or **DEAC-[Gly]** ($\Phi_u = 12\%$ in phosphate buffer)^[156] for photolysis at 365 nm, and **DEAC450-[Ac]** or **DEAC450-[Gly]** ($\Phi_u = 39\%$ in phosphate buffer)^[162] for photolysis at 455 nm, selected as standards depending on the structure of the unknown compound) in the exact same experimental conditions, and monitoring the conversion rate over time by ^1H NMR. A first order kinetics was observed for all derivatives. Comparison of the conversion kinetics for the new compounds and reference PPG allowed calculation of the $\varepsilon^{ech} Q_u^{ech} / \varepsilon^{ref} \Phi_u^{ref}$ ratio values, derived from Eq. II.2. The ε values at the excitation wavelength, measured in the same non-deuterated solvent, then allowed the determination of the Q_u^{ech} / Φ_u^{ref} ratio, according to Eq. II.3.

The NMR samples were prepared in the appropriate deuterated solvent and introduced in a quartz NMR tube which was directly irradiated with two custom-made irradiation setups. In chapter II, samples of the same optical densities were irradiated with 3 UV-lamps (VilberLourmat, Model VL-6.LC) arranged in a triangular configuration.

In chapter III-V, samples of the same optical densities were irradiated at maximum power in an “optical cage cube” equipped with two mounted high-power LED (Thorlabs M365L2, 190mW at 365 nm; and Thorlabs M455L3, 900 mW at 455 nm).



Figure 1: Experimental setup for one-photon photolysis with NMR follow-up. Example of the photolysis of DEAC-vBTD in $\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$ (9/1, v/v) at 455 nm. The solution was introduced in a quartz tube which was directly irradiated in the cube.

The beam was collimated onto the sample with $\varnothing 2''$ lenses, and light was collected at the end of the optical path with two aluminum mirrors. The optical cage lid and bottom were custom-designed and 3D-printed in order to contain both a cuvette holder and an NMR tube holder, for total reproducibility of experiments. The irradiation was mounted on a printed plastic support equipped with a Variomag magnetic micro-stirrer.

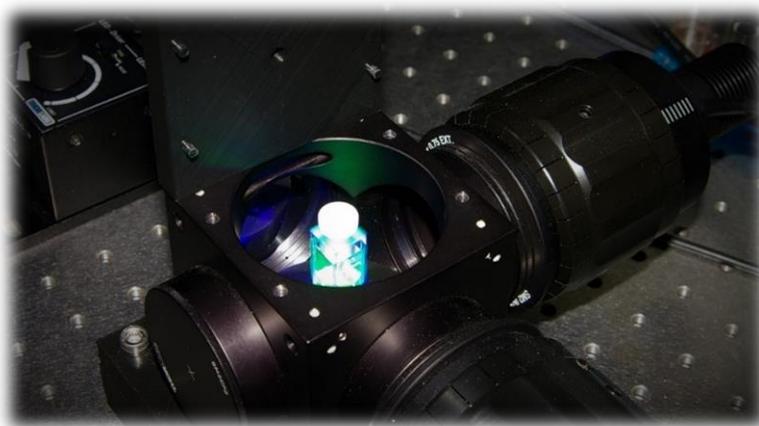


Figure 2 : Experimental setup for one-photon photolysis in cuvette. Test experiment with FLSCN in 0.1M NaOH at 455 nm.

Two-photon photolysis experiments were performed on the TPEF setup. Photolysis of the stirred samples (1.2 mL, 0.5 mM) were carried out at the desired wavelength and power in 10x4 mm cuvettes. The progression of the photorelease was monitored periodically by ^1H NMR.



Figure 3 : Experimental setup for two-photon photolysis. Example of the photolysis of DEAC-[Ac] in CD_2Cl_2 at 700 nm (1W).

II.4. Synthesis and characterization

All air and moisture sensitive manipulations were carried out using standard techniques, with flame-dried reaction vessels, anhydrous solvents, and under argon atmosphere. Toluene, CH_2Cl_2 , MeCN, Et_2O and THF were dried over two columns of alumina and degassed in an Innovative Technologies Pure Solve solvent purification system. *N,N*-dimethylformamide and Et_3N were freshly distilled over CaH_2 before use. Alternately, THF was freshly distilled over sodium/benzophenone before being used. Extraction and column chromatography solvents were purchased in anhydrous form, and used as received. Palladium (II) acetate was recrystallized from chloroform before being used. Tetrakis(triphenylphosphine)palladium (0) was prepared according to the procedure described by Coulson *et al.*^[283] All reagents were purchased from Fisher Scientific, Aldrich, TCI, Fluorochem or Strem and used without further purification unless indicated otherwise. All air and moisture sensitive manipulations were carried out using standard techniques, with oven-dried reaction vessels, anhydrous solvents, and under argon atmosphere. Thin layer chromatography (TLC) was performed on Merck silica gel 60 F254 aluminum plaques, and column chromatography was performed on Macherey-Nagel silica gel 60 (40-63 μm). Dialysis was performed in the appropriate solvent using Spectrum Laboratories pre-treated regenerated cellulose membranes of the appropriate cut-off.

^1H , ^{13}C , and ^{31}P NMR spectra were recorded on a Bruker Advance III 200 spectrometer at 200 MHz and 50 MHz, on a Bruker Advance I 300 spectrometer at 300 MHz, 75 MHz and 121 MHz, on a Bruker Advance II 400 spectrometer at 400 MHz and 100 MHz, or on a Bruker Advance III 600 spectrometer at 600 MHz, 150 MHz and 243 MHz respectively. Shifts (δ) are

given in parts per million with respect to solvent residual peak, and coupling constant (J) are given in Hertz.

Melting points were measured on a Stuart SMP 10 instrument.

HRMS-ESI spectra were recorded by the CESAMO (Bordeaux, France) on a QStar Elite mass spectrometer (Applied Biosystems). The instrument is equipped with an ESI source and spectra were recorded in the negative/positive mode. The electrospray needle was maintained at 4500 V and operated at room temperature. Samples were introduced by injection through a 20 μ L sample loop into a 400 μ L/min flow of methanol from the LC pump. HRMS-FD spectra were performed on a TOF mass spectrometer AccuTOF GCv using an FD emitter with a voltage of 10 kV. One to two microliters solution of the compound is deposited on a 13 μ m emitter wire.

MALDI-MS spectra were performed by the CESAMO (Bordeaux, France) on a Voyager mass spectrometer (Applied Biosystems). The instrument is equipped with a pulsed N₂ laser (337 nm) and a time-delayed extracted ion source. Spectra were recorded in the positive-ion mode using the reflector and with an accelerating voltage of 20 kV. Samples were dissolved in CH₂Cl₂ at 10 mg/ml. The DCTB matrix (T-2-(3-(4-*t*-butyl-phenyl)-2-methyl-2-propenylidene)malononitrile) solution was prepared by dissolving 10 mg in 1 mL of CH₂Cl₂. A MeOH solution of cationisation agent (NaI, 10 mg/mL) was also prepared. The solutions were combined in a 10:1:1 volume ratio of matrix to sample to cationisation agent. One to two microliters of the obtained solution were deposited onto the sample target and vacuum-dried.

Infrared spectra were recorded using a FT-IR Perkin Elmer Spectrum 100 Optica.

III. Experimental procedures

III.1. General procedures

General procedure for the preparation of caged acetic acid (Proc. A):

To a stirred solution of the 4-hydroxymethylcoumarin (1 eq.) in dry THF under argon atmosphere were added successively Et₃N (1.2 eq.) and acetyl chloride (1.1 eq.) dropwise over 5 minutes. The resulting mixture was stirred at r.t. for 4 h, then it was filtered over Celite® and evaporated to give the expected compound. Further purification was achieved when necessary.

General procedure for the bromination of the 3-position of the coumarin backbone (Proc. B):

The compounds were obtained following a procedure slightly modified from literature.^[162] To a stirred solution of the coumarin (1 eq.) and sodium acetate (0.1 eq.) in acetonitrile under argon atmosphere was added *N*-bromosuccinimide (1.1 eq.). The resulting mixture was stirred in the dark at r.t. for 2 h, then it was concentrated under reduced pressure. Further purification was achieved when necessary.

General procedure for the Heck coupling between 3-halogenocoumarins and the vinyl moieties (Proc. C):*Preliminary notes:*

The following Heck coupling, carried out in Jeffery conditions, must be achieved in strictly inert and anhydrous conditions. When solid, the vinyl-synthon was added into the flask along with the other powders, prior to lyophilization. If liquid, it was added as a solution in degassed DMF. Appropriate work-up and purifications are indicated below.

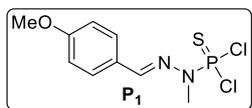
Procedure:

In a Schlenk tube were introduced under argon atmosphere lithium chloride (1.7 eq.), tetrabutylammonium chloride (1.1 eq.), NaHCO₃ (3 eq.), and the 3-halogenocoumarin (1 eq.). The powders were freeze-dried in the Schlenk for 2 h. The flask was then immediately connected to a Schlenk line, purged and refilled with argon 3 times, then the vinyl synthon was added in dry DMF (0.1 M) and argon was bubbled into the mixture for 15 minutes. Finally, Pd(OAc)₂ (5 mol%) was added, the tube was sealed with a screw cap, and the mixture heated to 130 °C until completion of the reaction. Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and appropriate work-up and purification were carried out.

General procedure for esterification with peptidic coupling agents (Proc. D):

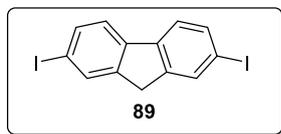
To a stirred mixture of the acid (1.1 eq.) and *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (1.1 eq.) under argon atmosphere in dry CH₂Cl₂ (0.1 M) were added successively the alcohol (1 eq.) and catalytic DMAP (one crystal). The resulting mixture was stirred at r.t. overnight in the dark, then it was directly purified by column chromatography of silicagel.

III.2. Chapter II: compounds and procedures

(E)-(2-(4-methoxybenzylidene)-1-methylhydrazinyl)phosphonothioic dichloride (P₁):

4-Methoxybenzaldehyde (1.0 g, 7.34 mmol, 1 eq.) was dissolved in dry THF (15 mL) at 0 °C under argon atmosphere, then a solution of **MMH-PSCl₂** in CHCl₃ (0.24M, 30.6 mL, 7.34 mmol, 1 eq.) was added and the mixture was allowed to warm up to r.t. overnight. Solvents were then removed under vacuum, and the residue was dissolved in warm Et₂O and poured into pentane. After 5 min, the resulting precipitate was collected by filtration. This operation was repeated twice, and the solid was finally washed with pentane to give **P₁** as pale yellow needles (1.52 g, **70%**).

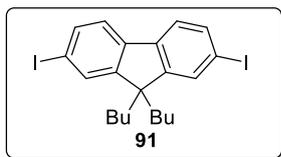
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.70-7.67 (m, 3H), 6.95 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.48 (d, ³*J*_{HP} = 14.3 Hz, 3H). **³¹P NMR (121.42 MHz, CDCl₃), δ (ppm):** 63.4. **¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃), δ (ppm):** 161.5, 142.0 (d, ³*J*_{CP} = 18.7 Hz), 129.1, 127.1, 114.4, 55.5, 31.9 (d, ³*J*_{CP} = 13.2 Hz).

2,7-diiodofluorene (89)

A stirred mixture of fluorene (10.0 g, 60.2 mmol, 1 eq.) in a mixture of AcOH (100 mL), H₂SO₄ (1.4 mL) and H₂O (4 mL) was heated to 75 °C until complete dissolution. Crushed I₂ (10.5 g, 41.5 mmol, 0.69 eq.) and H₅IO₆ (6.50 g, 28.5 mmol, 0.47 eq.) were then added, and the mixture was stirred at 75 °C for 4 hours. Upon cooling down to room temperature, the resulting brown precipitate was collected by filtration, and washed successively with a KOH solution (1 M, 40 mL), with water (40 mL), with a Na₂S₂O₃ saturated solution (2 x 40 mL), with water (2 x 40 mL), and with petroleum ether (2 x 40 mL). The resulting brown powder was recrystallized from cyclohexane (100 mL) and washed with pentane to give **89** as a pale brown powder (14.74 g, **63%**). Analytical data were in accordance with literature.^[284]

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.88 (s, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 3.84 (s, 2H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 144.8, 140.4, 136.0, 134.1, 121.6, 92.4, 36.3. **Melting point:** 216 °C.

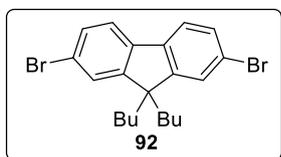
9,9-Dibutyl-2,7-diiodofluorene (91)



To a stirred solution of KOH (9.2 g, 0.16 mol, 10 eq.) in water (10 mL) was added *n*-Bu₄NBr (1.10 g, 3.2 mmol, 0.2 eq.) and was stirred 15 min at r.t. for complete dissolution. Toluene (16 mL) and 2,7-diiodofluorene (6.80 g, 16.0 mmol, 1 eq.) were then added, followed by 1-bromobutane (10.4 mL, 96.0 mmol, 6 eq.). The resulting dark green mixture was stirred at room temperature for 72 h, then it was diluted with water (100 mL), and extracted with CH₂Cl₂ (3 x 40 mL). The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduce pressure. The resulting crude was purified by column chromatography of silica gel (eluent: Petroleum Ether, 100%) to afford **91** as a white powder (6.97 g, **82%**). Analytical data were in accordance with literature.^[218]

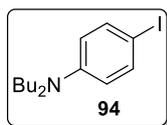
¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.70 – 7.60 (m, 4H), 7.41 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 2.02 – 1.80 (m, 4H), 1.20 – 0.97 (m, 4H), 0.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 8H), 0.61 – 0.45 (m, 4H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 152.5, 139.7, 136.0, 132.0, 121.5, 93.1, 55.4, 39.9, 25.8, 22.9, 13.7. **Melting point:** 134 °C.

9,9-Dibutyl-2,7-dibromofluorene (92)



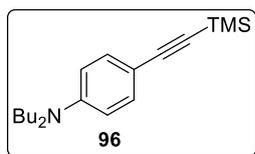
To a stirred solution of KOH (31.5 g, 562 mmol, 10 eq.) in water (40 mL) was added *n*-Bu₄NBr (3.62 g, 11.2 mmol, 0.2 eq.) and was stirred 15 min at r.t. for complete dissolution. Toluene (60 mL) and 2,7-dibromofluorene (18.2 g, 56.2 mmol, 1 eq.) were then added, followed by 1-bromobutane (36.0 mL, 337 mmol, 6 eq.). The resulting dark green mixture was stirred at room temperature for 48 h, then it was diluted with water (100 mL), and extracted with CH₂Cl₂ (4 x 60 mL). The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduce pressure. The resulting crude was purified by filtration over a short pad of silica gel (dry load, 70 g of silicagel; eluent: Petroleum Ether, 100%) to give **92** as a white powder (23.5 g, **96%**). Analytical data were in accordance with literature.^[285]

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.55 – 7.50 (m, 2H), 7.45 (dd, *J* = 7.1, 1.7 Hz, 4H), 1.97 – 1.86 (m, 4H), 1.17 – 1.00 (m, 4H), 0.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.63 – 0.49 (m, 4H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 152.5, 139.2, 130.1, 126.0, 121.5, 121.1, 55.5, 40.1, 25.8, 22.9, 13.7. **Melting point:** 118 °C.

***N,N*-dibutyl-4-iodoaniline (94):**

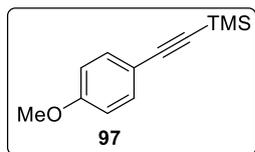
To a stirred solution of *N,N*-dibutylaniline (5.0 g, 24.3 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (20 mL) was added NaHCO₃ (3.27 g, 39.0 mmol, 1.6 eq.) in H₂O (100 mL). The mixture was cooled down to 0 °C, and a solution of I₂ (6.8 g, 26.8 mmol, 1.1 eq.) in CH₂Cl₂ (500 mL) was added dropwise over 4 h. The mixture was allowed to warm up to room temperature overnight, then the reaction was quenched with a saturated Na₂S₂O₃ solution, and extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give a crude brown oil which was pure enough to be used without further purification (7.76 g, **96%**). Analytical data were in accordance with literature.^[286]

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.21 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 1.53 (m, 4H), 1.32 (m, 4H), 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H).

***N,N*-dibutyl-4-((trimethylsilyl)ethynyl)aniline (96):**

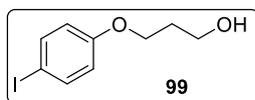
A mixture of **94** (5.0 g, 15.1 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (3.2 mL, 22.6 mmol, 1.5 eq.) in THF/Et₃N (60 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (212 mg, 0.302 mmol, 2 mol%) and CuI (57.5 mg, 0.302 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: petroleum ether:CH₂Cl₂, 10:0 to 8:2) to give **96** as an orange oil (2.91 g, **64%**). Analytical data were in accordance with literature.^[286]

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.29 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.51 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.38 – 3.13 (m, 4H), 1.69 – 1.45 (m, 4H), 1.35 (dq, *J* = 14.1, 7.3 Hz, 4H), 0.94 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H), 0.22 (s, 9H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 148.1, 133.3, 110.9, 108.5, 106.8, 90.8, 50.6, 29.3, 20.3, 14.0, 0.26.

((4-methoxyphenyl)ethynyl)trimethylsilane (97):

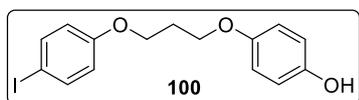
A mixture of 4-iodoaniline (2.0 g, 8.5 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (1.8 mL, 12.8 mmol, 1.5 eq.) in THF/Et₃N (30 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (59 mg, 0.090 mmol, 1 mol%) and CuI (16 mg, 0.090 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by filtration over a short pad of silicagel (eluent: petroleum ether:CH₂Cl₂, 9:1) to give **97** as a pale yellow oil (1.74 g, **99%**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.39 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.81 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 0.23 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 159.7, 133.4, 115.3, 113.8, 105.2, 92.4, 55.2, 0.04.

3-(4-iodophenoxy)propan-1-ol (99):

To a solution of ground KOH (3.5 g, 60.0 mmol, 1.5 eq.) in absolute EtOH (50 mL) was added 4-iodophenol (10.0 g, 45.5 mmol, 1.1 eq.). The resulting pale yellow mixture was stirred at r.t. under argon for 1 h, then potassium iodide (680 mg, 4.1 mmol, 0.1 eq.) and 3-bromopropan-1-ol (3.6 mL, 41 mmol, 1 eq.) were added and the mixture was heated to 50 °C for 24 h. Upon completion of the reaction, the mixture was filtered over Celite®, and evaporated. The residue was diluted with CH₂Cl₂ and washed with a 1M NaOH solution (2 x 100 mL). The organic layer was dried over Na₂SO₄ and evaporated. The crude was further purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:AcOEt, 10:0 to 9:1) to afford **99** as an off-white powder (7.2 g, **63%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.55 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.68 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 4.08 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.8 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.0 (p, *J* = 6.0 Hz, *J* = 5.9 Hz, 2H), 1.7 (s, *br*, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 158.7, 138.2, 116.9, 82.8, 65.6, 60.1, 31.9.

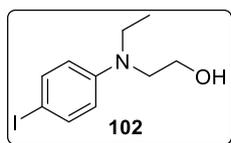
4-(3-(4-iodophenoxy)propoxy)phenol (100):

PPh₃ (1.70 g, 6.5 mmol, 1.9 eq.) was melted under vacuum, purged and refilled with argon 3 times, then cooled down to 0 °C and dissolved in 5 mL of THF. DIAD (1.0 M in THF, 1.4 mL, 1.9 eq.) was then added dropwise, and the resulting white slurry was allowed to warm up to r.t. over 30 min. A solution of 4-

hydroquinone (1.58 g, 14.4 mmol, 4.3 eq.) in THF (5 mL) was added, followed by another solution of **99** (1.0 g, 3.36 mmol, 1 eq.) in THF (12 mL) added dropwise over 20 min. The reaction was stirred at r.t. overnight, then the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was diluted in Et₂O (40 mL), and the resulting white precipitate was filtered off. The filtrate was washed with a saturated NH₄Cl solution (2 x 50 mL), then dried over Na₂SO₄ and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: Petroleum Ether:CH₂Cl₂, 4:6 to 0:10) to afford **100** as an off-white powder (670 mg, **50%**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.54 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.77 (s, 4H), 6.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.43 (s, *br*, 1H), 4.10 (q, *J* = 6.3 Hz, 4H), 2.22 (p, *J* = 6.3 Hz, 2H).

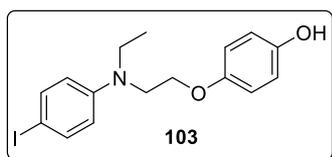
2-(ethyl(4-iodophenyl)amino)ethan-1-ol (**102**):



To a stirred solution of 2-(*N*-ethylanilino)ethanol (8.0 g, 48.4 mol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (50 mL) was added NaHCO₃ (6.51 g, 77.4 mmol, 1.6 eq.) in H₂O (200 mL). The mixture was cooled down to 0 °C, and a solution of I₂ (14.8 g, 58.1 mmol, 1.2 eq.) in CH₂Cl₂ (600 mL) was added dropwise over 4 h. The mixture was allowed to warm up to room temperature overnight, then the reaction was quenched with a saturated Na₂S₂O₃ solution, and extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give a crude brown oil which was pure enough to be used without further purification (13.9 g, **98%**).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.53 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 3.77 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.42 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.38 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.77 (s, *br*, 1H), 1.13 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). **¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz), δ (ppm):** 147.6, 137.9, 129.9, 115.1, 60.2, 52.6, 45.7, 11.9.

4-(3-(ethyl(4-iodophenyl)amino)propoxy)phenol (**103**):

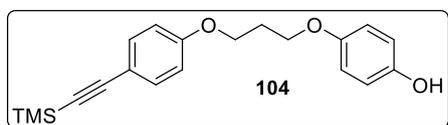


PPh₃ (4.5 g, 17.0 mmol, 2.2 eq.) was melted under vacuum, purged and refilled with argon 3 times, then cooled down to 0 °C and dissolved in 17 mL of THF. DIAD (1.0 M in THF, 3.6 mL, 2.2 eq.) was then added dropwise, and the resulting white slurry was allowed to warm up to r.t. over 30 min. A solution of 4-hydroquinone (1.9 g, 17.0 mmol, 2.2 eq.) in THF (5 mL) was added, followed by another solution of **102** (2.3 g, 7.75 mmol, 1 eq.)

in THF (25 mL) added dropwise over 20 min. The reaction was stirred at r.t. overnight, then the solvent was evaporated under reduced pressure, and the crude oil was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: Petroleum ether:CH₂Cl₂, 5:5 to 0:10) to afford **103** as a colorless powder (770 mg, **26%**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.75 (s, 4H), 6.50 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 4.47 (s, *br*, 1H), 4.03 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.65 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.43 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.17 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz), δ (ppm): 152.6, 149.6, 147.1, 137.7, 116.1, 115.5, 114.1, 65.9, 49.6, 45.5, 12.0.

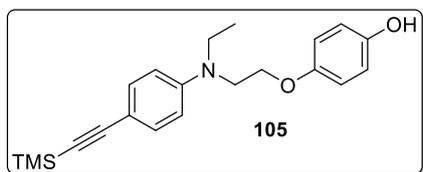
4-(3-(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenoxy)propoxy)phenol (**104**):



A mixture of **100** (670 mg, 1.8 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (0.39 mL, 2.7 mmol, 1.5 eq.) in THF/Et₃N (25 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (25 mg, 36 μmol, 2 mol%) and CuI (7.0 mg, 36 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂ 100%) to give **104** as a pale yellow oil (470 mg, **80%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.39 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.72-6.84 (m, 6H), 4.58 (s, 1H), 4.14 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 4.09 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.17-2.27 (m, 2H), 0.24 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz), δ (ppm): 159.2, 153.1, 149.7, 133.6, 116.2, 115.4, 105.3, 92.6, 65.2, 64.7, 29.4, 0.2.

4-(2-(ethyl(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)amino)ethoxy)phenol (**105**):

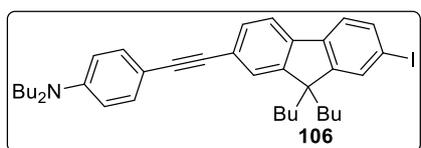


A mixture of **103** (700 mg, 1.8 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (0.39 mL, 2.7 mmol, 1.5 eq.) in toluene/Et₃N (37.5 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (25 mg, 36 μmol, 2 mol%) and CuI (7.0 mg, 36 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column

chromatography of silicagel (gradient eluent: petroleum ether:Et₂O, 8:2 to 5:5) to give **105** as a dark yellow solid (450 mg, 70%).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.33 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.75 (s, 4H), 6.60 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 4.75 (s, *br*, 1H), 4.04 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.69 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.50-3.43 (m, 2H), 1.18 (t, *J* = 8.5 Hz, 3H), 0.23 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 152.9, 149.9, 147.7, 133.5, 116.2, 115.7, 111.4, 109.8, 106.7, 91.4, 66.2, 49.8, 45.7, 12.3, 0.4.

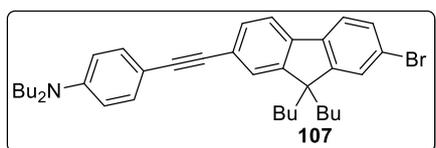
4-((7-iodo-9,9-dibutyl-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N,N*-dibutylaniline (**106**):



A mixture of **96** (600 mg, 2.0 mmol, 1 eq.), and 2,7-diiodo-9,9-dibutyl-9*H*-fluorene **91** (3.17 g, 6.0 mmol, 3 eq.) in THF/Et₃N (30 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (28 mg, 40 μmol, 2 mol%) and CuI (7.6 mg, 40 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 3.0 mL, 3.0 mmol, 1.5 eq.) was finally added and the reacting mixture was stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: Petroleum Ether:CH₂Cl₂, 98:2 to 75:25) to give **106** as a bright yellow solid (778 mg, 62%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.69 – 7.58 (m, 3H), 7.52 – 7.35 (m, 5H), 6.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 2.00 – 1.87 (m, 4H), 1.66 – 1.51 (m, 4H), 1.35 (h, *J* = 7.3 Hz, 4H), 1.09 (h, *J* = 7.5 Hz, 4H), 0.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.68 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.64 – 0.49 (m, 4H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm): 153.5, 150.2, 148.1, 140.5, 139.5, 136.0, 133.0, 132.1, 130.5, 125.6, 123.4, 121.6, 119.7, 111.3, 108.8, 92.8, 91.5, 88.1, 55.4, 50.8, 40.3, 29.5, 26.0, 23.2, 20.5, 14.2, 14.0.

4-((7-bromo-9,9-dibutyl-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N,N*-dibutylaniline (**107**):

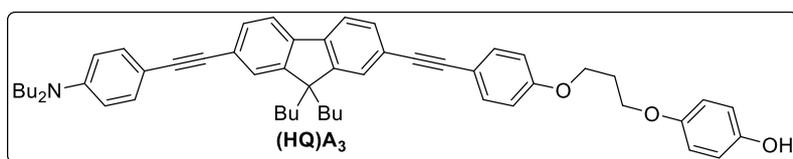


A mixture of **96** (1.71 g, 5.67 mmol, 1 eq.), and 2,7-dibromo-9,9-dibutyl-9*H*-fluorene **92** (8.66 g, 19.8 mmol, 3.5 eq.) in THF/Et₃N (50 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (79.6 mg, 0.113 mmol, 2 mol%) and CuI (21.6 mg, 0.113 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 8.5 mL, 8.5 mmol, 1.5 eq.) was finally added and the reacting mixture was stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified

by column chromatography of silicagel (gradient eluent: petroleum ether:toluene, 10:0 to 9:1) to give **107** as an orange powder (2.34 g, **71%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.61 (dd, *J* = 7.8, 0.7 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H), 7.48 – 7.42 (m, 4H), 7.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.59 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 7.5 Hz, 6H), 2.02 – 1.89 (m, 4H), 1.67 – 1.51 (m, 6H), 1.46 – 1.23 (m, 10H), 1.10 (h, *J* = 7.5 Hz, 5H), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 7H), 0.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.65 – 0.48 (m, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 153.3, 150.4, 147.9, 139.8, 139.6, 133.0, 130.6, 130.1, 126.3, 125.7, 123.1, 121.4, 121.3, 119.7, 111.3, 108.8, 91.5, 88.1, 55.4, 50.8, 40.3, 29.5, 26.0, 23.2, 20.5, 14.2, 14.0.

4-(3-(4-((9,9-dibutyl-7-((4-(dibutylamino)phenyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenoxy)propoxy)phenol ((HQ)A₃):

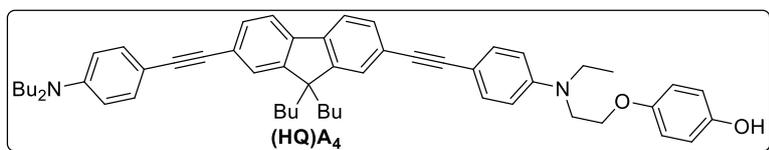


A mixture of **106** (300 mg, 0.475 mmol, 1 eq.), and **104** (162 mg, 0.475 mmol, 1 eq.) in THF/Et₃N (5 mL, 4:1 v:v)

was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (6.7 mg, 9.0 μmol, 2 mol%) and CuI (1.8 mg, 9.0 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 0.71 mL, 0.71 mmol, 1.5 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: Petroleum ether:CH₂Cl₂, 5:5 to 0:10) to give (HQ)A₃ as a bright yellow solid (312 mg, **85%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.73 – 7.56 (m, 2H), 7.56 – 7.44 (m, 6H), 7.40 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.78 (d, *J* = 3.3 Hz, 4H), 6.59 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.42 (s, 1H), 4.18 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 4.11 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H), 2.25 (p, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.12 – 1.79 (m, 4H), 1.66 – 1.50 (m, 4H), 1.50 – 1.17 (m, 4H), 1.18 – 1.02 (m, 4H), 0.97 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H), 0.68 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H), 0.61 – 0.48 (m, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 159.0, 153.2, 151.1, 151.1, 149.7, 148.1, 140.8, 140.0, 133.2, 133.0, 130.7, 130.5, 125.9, 125.7, 123.1, 122.0, 119.9, 119.9, 116.2, 115.8, 115.7, 114.7, 111.4, 108.9, 91.4, 89.7, 89.4, 88.3, 65.2, 64.7, 55.2, 50.8, 40.4, 29.5, 29.5, 26.0, 23.2, 20.5, 14.1, 14.0. **MS (ESI):** *m/z* = 772.6, calcd for C₅₄H₆₁NO₃ (M+H)⁺: 772.5.

4-(2-((4-((9,9-dibutyl-7-((4-(dibutylamino)phenyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethoxy)phenol ((HQ)A₄):



A mixture of **106** (265 mg, 0.42 mmol, 1 eq.), and **105** (148 mg, 0.42 mmol, 1 eq.) in THF/Et₃N

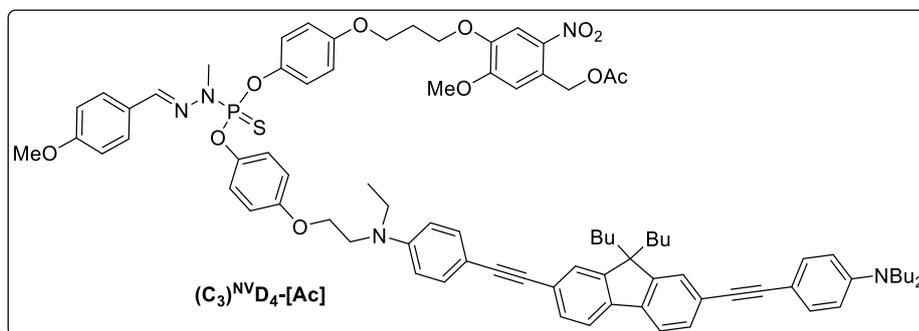
(6 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (5.9 mg, 8.4 μmol, 2 mol%) and CuI (1.6 mg, 8.4 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 0.63 mL, 0.63 mmol, 1.5 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂ 100%) to give **(HQ)A₄** as a bright yellow solid (246 mg, **75%**).

The reaction was also performed with **107** (same proportions), yielding **(HQ)A₄** as a bright yellow solid (1.45 g, **96%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.62 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.50 – 7.36 (m, 8H), 6.76 – 6.77 (m, 4H), 6.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.52 (s, 1H), 4.08 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.74 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.50 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.29 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 2.04 – 1.90 (m, 4H), 1.63 – 1.52 (m, 4H), 1.36 (h, *J* = 7.4 Hz, 4H), 1.22 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.09 (h, *J* = 7.4 Hz, 4H), 0.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.67 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.63 – 0.53 (m, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 153.0, 151.1, 149.9, 148.1, 147.6, 140.3, 140.1, 133.1, 133.0, 130.5, 125.8, 125.7, 122.9, 122.7, 119.8, 116.2, 115.7, 112.2, 111.6, 111.4, 110.0, 108.9, 91.3, 90.9, 88.6, 88.3, 66.2, 55.2, 50.8, 49.8, 45.8, 40.4, 29.5, 26.0, 23.2, 20.5, 14.1, 14.0, 12.4. **MS (ESI):** *m/z* = 807.4863, calcd for C₅₅H₆₄N₂O₂Na (M+Na)⁺: 807.4860.

Typical procedure for the preparation of dyads ${}^{\text{NV}}\text{D}_{1-4}$ and ${}^{\text{NI}}\text{D}_{2-4}$:^[233]

Example of $(\text{C}_3)^{\text{NV}}\text{D}_4\text{-[Ac]}$:



P₁ (20 mg, 67 μmol , 1 eq.), and Cs_2CO_3 (88 mg, 0.27 mmol, 4 eq.) were suspended in anhydrous THF (1 mL) under argon atmosphere. A solution of the uncaging module $(\text{C}_3)^{\text{NV}}\text{D}_4\text{-[Ac]}$ (26.3 mg, 67 μmol , 1 eq.) in THF (3 mL) was then added dropwise over 10 min. The resulting mixture was stirred at room temperature in the dark for 16 h. The suspension was then filtered over Celite®, and the solvent evaporated to give the crude monosubstituted intermediate.

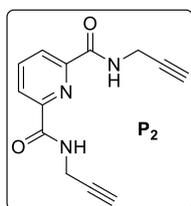
This crude and Cs_2CO_3 (88 mg, 0.27 mmol, 4 eq.) were re-suspended in anhydrous THF (2 mL), and the 2PA module **(HQ)A**₄ (48 mg, 61 μmol , 0.9 eq.) was added. The resulting mixture was stirred in the dark for 16 h. Upon completion of the reaction, the suspension was filtered over Celite®, and the solvent was removed under reduced pressure. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH_2Cl_2 100%) to give the expected dyad as a yellow powder (50,2 mg, **59%**).

${}^1\text{H}$ NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 7.78 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.61 – 7.63 (m, 3H), 7.40 – 7.49 (m, 8H), 7.13 – 7.15 (m, 4H), 6.98 (s, 1H), 6.94 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.79 – 6.84 (m, 4H), 6.67 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.60 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 5.49 (s, 1H), 4.26 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 4.12 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.07 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.73 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.49 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.28 – 3.31 (m, 7H), 2.29 – 2.33 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.05 – 1.91 (m, 4H), 1.66 – 1.52 (m, 4H), 1.37 (h, $J = 7.3$ Hz, 4H), 1.21 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 1.09 (h, $J = 7.3$ Hz, 4H), 0.97 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 0.68 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 0.64 – 0.52 (m, 4H).

${}^{13}\text{C}$ NMR (CDCl_3 , 151 MHz), δ (ppm): 170.4, 160.8, 156.2, 156.1, 153.9, 151.0, 148.1, 147.7, 147.5, 144.4 (d, ${}^3J_{\text{CP}} = 7.0$ Hz), 140.3, 140.1, 139.5, 139.4, 133.1, 133.0, 130.5, 128.6, 127.9, 127.1, 125.7, 125.6, 122.9, 122.6 (m), 119.8, 115.1, 114.3, 111.5, 111.3, 110.9, 110.0, 109.8, 108.8, 91.3, 90.9, 88.6, 88.3, 66.1, 65.8, 64.4, 63.4, 56.4, 55.5, 55.2, 50.8, 49.7, 45.8, 40.4, 33.1

(d, $^3J_{CP} = 12.8$ Hz), 29.5, 29.0, 26.0, 23.2, 21.0, 20.5, 14.1, 14.0, 12.4. ^{31}P NMR (CDCl_3 , 121 MHz), δ (ppm): 64.7 (s). MALDI-TOF: $m/z = 1438.4$ ($\text{M}+\text{K}$) $^+$, calcd for $\text{C}_{83}\text{H}_{94}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{PS}$ (M) $^+$: 1399.6.

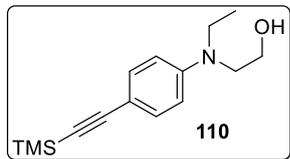
***N*²,*N*⁶-di(prop-2-yn-1-yl)pyridine-2,6-dicarboxamide (**P**₂):**



To a stirred solution of pyridine-2,6-dicarbonyl dichloride (2.0 g, 9.80 mmol, 1 eq.) in dry THF (20 mL) under argon atmosphere at 0 °C were added successively Et_3N (3.4 mL, 24.5 mmol, 2.5 eq.) and propargylamine (1.32 mL, 20.6 mmol, 2.1 eq.) dropwise over 5 minutes. The resulting mixture was stirred at r.t. for 2 h, then it was filtered over Celite® and evaporated. The resulting crude was digested and washed with warm Et_2O to give **P**₂ as a beige powder (2.3 g, **quant.**).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 9.18 (s, 1H), 8.35 – 8.31 (m, 2H), 8.25 – 8.18 (m, 1H), 4.27 – 4.17 (m, 4H), 2.69 (t, $J = 2.6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 163.8, 149.8, 140.2, 125.6, 119.01, 72.0, 46.3.

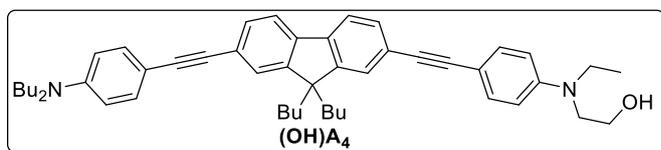
2-(ethyl(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)amino)ethan-1-ol (110**)**



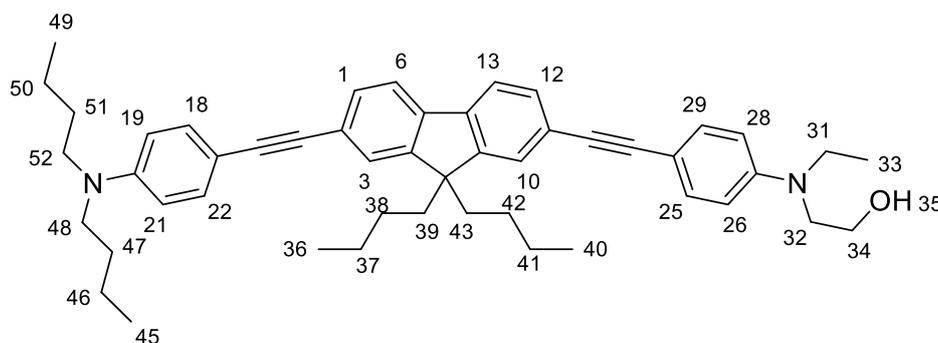
A mixture of **102** (5.0 g, 17.2 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (6.0 mL, 42.9 mmol, 2.5 eq.) in THF/ Et_3N (100 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (241 mg, 0.343 mmol, 2 mol%) and CuI (66 mg, 0.343 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: petroleum ether:acetone, 9:1 to 7:3) to give **110** as a brown oil (3.13 g, **70%**).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 7.31 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.62 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 3.76 (q, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.45 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.81 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 1.14 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.23 (s, 9H).

2-((4-((9,9-dibutyl-7-((4-(dibutylamino)phenyl)ethynyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethan-1-ol ((OH)A₄):

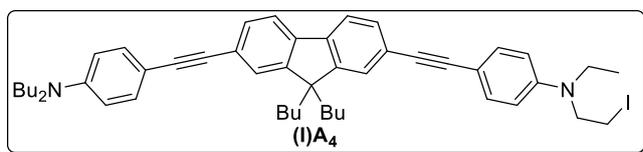


A mixture of **106** (2.25 g, 3.85 mmol, 1 eq.), and **110** (1.0 g, 3.85 mmol, 1 eq.) in THF/Et₃N (38.5 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (54 mg, 77 μmol, 2 mol%) and CuI (14.7 mg, 77 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 5.8 mL, 5.8 mmol, 1.5 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂ 100%) to give **(OH)A₄** as a dark yellow solid (1.44 g, **54%**).



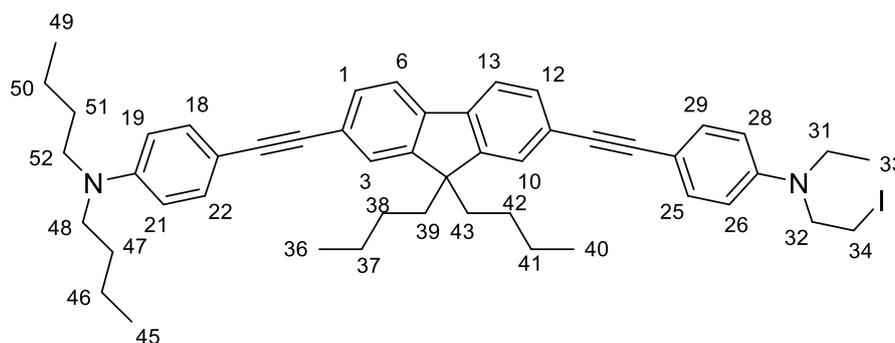
¹H NMR (CD₂Cl₂, 400 MHz) δ (ppm): 7.66 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, *H*_{6,13}), 7.51 – 7.44 (m, 4H, *H*_{1,3,10,12}), 7.39 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, *H*_{25,29}), 7.36 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, *H*_{18,22}), 6.73 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, *H*_{26,28}), 6.62 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, *H*_{19,21}), 3.79 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H, *H*₃₄), 3.50 (t, *J* = 5.9 Hz, 3H, *H*₃₂), 3.45 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, *H*₃₁), 3.35 – 3.26 (m, 4H, *H*_{48,52}), 2.06 – 1.96 (m, 4H, *H*_{39,43}), 1.67 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, *H*₃₅), 1.65 – 1.51 (m, 4H, *H*_{47,51}), 1.37 (h, *J* = 7.3 Hz, 4H, *H*_{37,41}), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, *H*₃₃), 1.11 (h, *J* = 7.5 Hz, 4H, *H*_{46,50}), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H, *H*_{45,49}), 0.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H, *H*_{36,40}), 0.66 – 0.54 (m, 4H, *H*_{38,42}). **¹³C NMR (CD₂Cl₂, 101 MHz) δ (ppm):** 151.6, 148.8, 148.7, 140.8, 140.6, 133.3, 133.3, 130.7, 130.7, 126.2, 126.1, 123.5, 123.2, 120.3, 112.5, 111.8, 110.3, 109.0, 91.8, 91.4, 88.8, 88.5, 60.7, 55.6, 52.9, 51.2, 46.0, 40.8, 29.9, 26.6, 23.7, 20.9, 14.3, 14.2, 12.3. **HRMS (FD):** *m/z* = 692.47213, calcd for C₄₉H₆₀N₂O (*M*⁺): 692.47056.

***N,N*-dibutyl-4-((9,9-dibutyl-7-((4-(ethyl(2-iodoethyl)amino)phenyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)aniline ((I)A₄):**



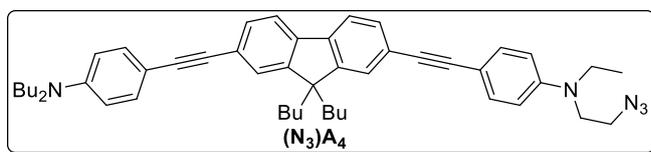
Imidazole (98.2 mg, 1.44 mmol, 2 eq.) and iodine (366 mg, 1.44 mmol, 2 eq.) were dissolved in dry CH₂Cl₂ (20 mL) and PPh₃

(378.5 mg, 1.44 mmol, 2 eq.) was added. The reaction mixture was stirred for 15 min under argon atmosphere, then (OH)A₄ (500 mg, 0.721 mmol, 1 eq.) in dry CH₂Cl₂ (20 mL) was added to the mixture and the solution was stirred for 3 h at room temperature. The solution was filtered over Celite® and evaporated. The resulting crude was purified by a short column chromatography of silicagel (gradient eluent: Petroleum Ether:CH₂Cl₂, 10:0 to 7:3) to give (I)A₄ as a bright yellow solid (566 mg, 97%).



¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H, *H*_{6,13}), 7.53 – 7.42 (m, 4H, *H*_{1,3,10,12}), 7.44 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, *H*_{25,29}), 7.40 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, *H*_{18,22}), 6.62 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, *H*_{26,28}), 6.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, *H*_{19,21}), 3.77 – 3.65 (m, 2H, *H*₃₂), 3.45 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, *H*₃₁), 3.35 – 3.23 (m, 4H, *H*_{48,52}), 3.29 – 3.16 (m, 2H, *H*₃₄), 2.04 – 1.91 (m, 4H, *H*_{39,43}), 1.66 – 1.52 (m, 4H, *H*_{47,51}), 1.37 (h, *J* = 7.3 Hz, 4H, *H*_{37,41}), 1.21 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, *H*₃₃), 1.09 (h, *J* = 7.8 Hz, 4H, *H*_{46,50}), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H, *H*_{45,49}), 0.68 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H, *H*_{36,40}), 0.64 – 0.52 (m, 4H, *H*_{38,42}). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 151.1, 148.1, 146.5, 140.4, 140.1, 133.3, 133.0, 130.5, 130.5, 125.7, 125.7, 123.0, 122.5, 119.8, 111.5, 111.4, 110.8, 108.9, 91.3, 90.6, 88.8, 88.3, 55.2, 53.6, 50.8, 45.2, 40.5, 29.5, 26.0, 23.3, 20.5, 14.2, 14.0, 12.9, 2.07. **HRMS (FD):** *m/z* = 802.37504, calcd for C₄₉H₅₉IN₂ (M⁺): 802.37229.

***N*-(2-azidoethyl)-4-((9,9-dibutyl-7-((4-(dibutylamino)phenyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N*-ethylaniline ((N₃)A₄):**

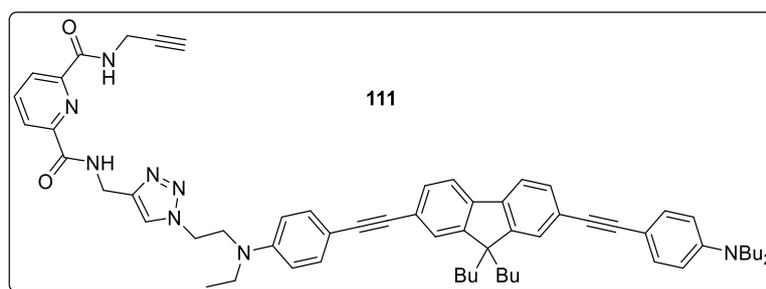


NaN₃ (84.3 mg, 1.30 mmol, 3 eq.) was added to a solution of (I)A₄ (347 mg, 0.432 mmol, 1 eq.) in dry DMF (2.5 mL)

under argon atmosphere. The resulting mixture was stirred for 15 min at room temperature, then it was filtered over Celite®, washed with Et₂O and concentrated under vacuum. The resulting crude was further purified by filtration over a short pad of silicagel (eluent: Et₂O 100%) to give (N₃)A₄ as a bright yellow solid (188 mg, 61%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.51 – 7.42 (m, 6H), 7.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.67 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.59 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.57 – 3.42 (m, 6H), 3.35 – 3.24 (m, 4H), 2.03 – 1.93 (m, 4H), 1.66 – 1.51 (m, 4H), 1.36 (h, *J* = 7.3 Hz, 4H), 1.21 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.09 (h, *J* = 7.4 Hz, 4H), 0.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.68 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.65 – 0.53 (m, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 151.1, 148.1, 147.1, 140.4, 140.1, 133.2, 133.0, 130.5, 130.5, 125.7, 125.7, 123.0, 122.6, 119.8, 111.8, 111.4, 110.7, 108.9, 91.3, 90.7, 88.8, 88.3, 55.2, 50.8, 49.6, 49.1, 45.7, 40.5, 29.6, 26.0, 23.3, 20.5, 14.2, 14.0, 12.4. **HRMS (FD):** *m/z* = 717.47655, calcd for C₄₉H₅₅N₅ (M⁺): 717.47705.

***N*²-((1-(2-((4-((9,9-dibutyl-7-((4-(dibutylamino)phenyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-*N*⁶-(prop-2-yn-1-yl)pyridine-2,6-dicarboxamide (111):**

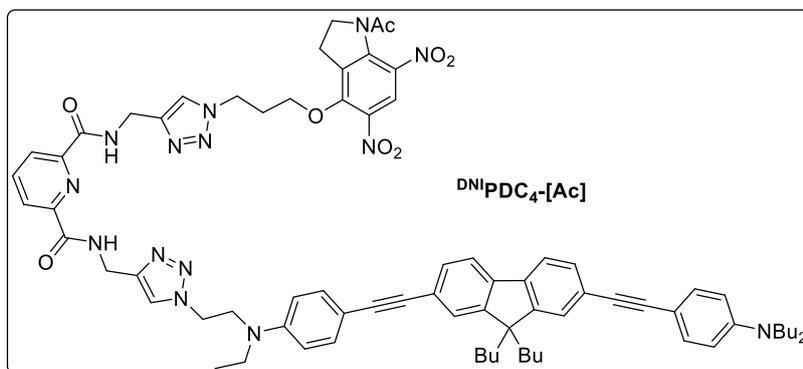


To a stirred solution of P₂ (253 mg, 1.05 mmol, 4 eq.), sodium ascorbate (10.4 mg, 52 μmol, 20 mol%) and copper sulfate pentahydrate (13.1 mg, 52 μmol, 20 mol%) in degassed DMSO (1 mL) was added a solution of (N₃)A₄ (188 mg, 1.15 mmol, 1 eq.) in THF:DMSO (5 mL, 4:1 v:v) dropwise over 4 h. The resulting mixture was stirred at r.t. under argon atmosphere for 16 h, then solvents were removed under high-vacuum. The residue was directly purified by

column chromatography of silicagel (dry load, gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 95:5 to 75:25) to give **111** as a bright yellow powder (171 mg, **68%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 9.03 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.32 (ddd, *J* = 7.9, 4.5, 1.2 Hz, 2H), 7.99 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.65 – 7.59 (m, 2H), 7.50 – 7.44 (m, 4H), 7.40 (dd, *J* = 8.8, 2.0 Hz, 4H), 6.63 – 6.55 (m, 4H), 4.69 (s, 2H), 4.52 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.22 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 3.80 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.31 – 3.26 (m, 4H), 3.23 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.23 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 2.03 – 1.92 (m, 4H), 1.62 – 1.53 (m, 4H), 1.36 (h, *J* = 7.4 Hz, 4H), 1.09 (h, *J* = 7.4 Hz, 1H), 1.05 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H), 0.67 (t, *J* = 7.4 Hz, 6H), 0.64 – 0.56 (m, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 163.9, 163.4, 151.1, 151.0, 148.6, 148.6, 148.0, 146.6, 140.5, 140.0, 139.1, 133.2, 132.9, 130.5, 130.4, 125.7, 125.6, 125.4, 125.1, 123.0, 122.3, 119.8, 111.9, 111.3, 111.3, 108.8, 91.4, 90.3, 89.0, 88.3, 79.8, 71.5, 55.2, 50.8, 50.4, 48.0, 45.7, 40.4, 34.8, 29.5, 29.2, 26.0, 23.2, 20.4, 14.1, 14.0, 12.2. **MS (FD):** *m/z* = 958, calcd for C₆₂H₇₀N₈O₂ (M)⁺: 959.

***N*²-((1-(3-((1-acetyl-5,7-dinitroindolin-4-yl)oxy)propyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-*N*⁶-((1-(2-((4-((9,9-dibutyl-7-((4-(dibutylamino)phenyl)ethynyl)-9*H*-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)pyridine-2,6-dicarboxamide (**^{DNI}PDC₄-[Ac]**):**

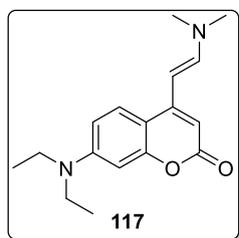


To a stirred solution of **111** (80 mg, 83.4 μmol, 1 eq.) and **113** (43.8 mg, 125.1 μmol, 1.5 eq.) in degassed DMSO (1 mL) was added sodium ascorbate (1.7 mg, 8.3 μmol, 10 mol%) and copper sulfate pentahydrate (2.1 mg, 8.3 μmol, 10 mol%). The resulting mixture was stirred at r.t. under argon atmosphere in the dark for 16 h, then solvents were removed under high-vacuum. The residue was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:AcOEt, 8:2 to 2:8), then further purified by recrystallization from AcOEt. **^{DNI}PDC₄-[Ac]** was obtained as yellow powder but was too unstable for proper characterization (89 mg).

MS (FD): $m/z = 1309$, calcd for $C_{75}H_{84}N_{14}O_8$ (M)⁺: 1310.

III.3. Chapter III: compounds and procedures

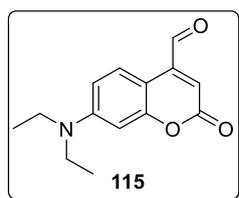
7-(diethylamino)-4-(2-dimethylamino)vinylcoumarin (**117**):



To a stirred solution of 7-(diethylamino)-4-methylcoumarine **114** (20 g, 86.5 mmol, 1 eq.) in dry DMF (10 mL) under argon atmosphere was added DMFDMA (11.7 mL, 86.7 mmol, 1 eq.). The mixture was heated to 140 °C and heavily stirred for 8 h, then more DMFDMA (0.46 mL, 34.6 mmol, 0.4 eq.). Heating was maintained for 8 h, then the solvent was removed under vacuum. The residue was then suspended in cyclohexane (40 mL), filtered, washed with Et₂O (40 mL) and dried under vacuum to afford **117** as a bright yellow powder. (24.6 g, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.52 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 6.54 (dd, $J = 9.0, 2.7$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 2.7$ Hz, 2H), 5.84 (s, 1H), 5.21 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 3.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.99 (s, 6H), 1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 163.6, 156.5, 152.5, 150.2, 146.7, 124.9, 108.2, 108.0, 98.2, 93.5, 87.5, 53.6, 44.8, 12.6. **HRMS (ESI):** $m/z = 287.1760$, calcd for $C_{17}H_{23}N_2O_2$ ($M+H$)⁺: 287.1754. **FTIR ν (cm⁻¹):** 2970.3, 2929.0, 2867.0, 1671.9, 1599.6, 1565.1, 1375.7, 1358.5, 1231.1, 1110.5, 814.3, 766.1. **Melting point:** 145-153 °C.

7-diethylamino-4-formylcoumarin (**115**):

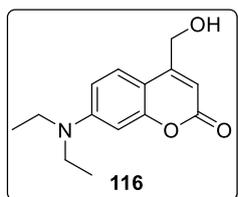


The enamine **117** (24.6 g, 85.9 mmol, 1 eq.) was dissolved in a mixture of THF and CH₂Cl₂ (300 mL, 5/1, v/v). A solution of NaIO₄ (55.1 g, 258 mmol, 3 eq.) in H₂O (250 mL) was then added, and the resulting mixture was stirred at room temperature for 2 h. Upon completion of the reaction, the mixture was filtered on Celite®, and the filtrate was partially concentrated under vacuum. The aqueous layer was then extracted with CH₂Cl₂ (5 x 100 mL), and the combined organic layers were washed with brine (200 mL), dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. Compound **115** was obtained as a dark red solid, and pure enough to be used without further purification. (21.0 g, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 10.03 (s, 1H), 8.30 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.63 (dd, $J = 9.2, 2.7$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 3.43 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.22 (t, $J = 7.1$

Hz, 6H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 192.7, 162.0, 157.5, 151.1, 144.0, 127.2, 117.5, 109.6, 103.8, 97.7, 44.9, 12.6. MS (ESI): $m/z = 278$, calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ ($\text{M}+\text{H}+\text{MeOH}$) $^+$: 278. FTIR ν (cm^{-1}): 3056.4, 2966.9, 2935.9, 2863.6, 1720.1, 1699.5, 1616.8, 1578.9, 1520.4, 1344.7, 1072.6, 797.1. Melting point: 70 °C.

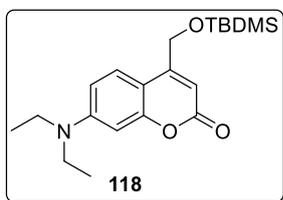
7-diethylamino-4-hydroxymethylcoumarin (116):



Sodium borohydride (3.90 g, 103 mmol, 1.2 eq.) was added portionwise to a stirred solution of the aldehyde **115** (21.0 g, 85.6 mmol, 1 eq.) in dry methanol (400 mL) at 0 °C and under argon atmosphere. The resulting mixture was allowed to warm up to room temperature and stirred for 16 h. The reaction was carefully quenched with an HCl solution (1M), and MeOH was partially evaporated. The pH was adjusted to 6 by addition of an aqueous saturated NaHCO_3 solution, then the aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (4 x 100 mL). The combined organic layers were dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by filtration over a pad of silica gel (eluent: CH_2Cl_2 , then CH_2Cl_2 :acetone, 90:10), to give **116** as a pale greenish solid (15.0 g, 71%).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 7.30 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.54 (dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz, 1H), 6.45 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.27 (t, $J = 1.1$ Hz, 1H), 4.82 (dd, $J = 5.7, 1.1$ Hz, 2H), 3.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.96 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 1.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz), δ (ppm): 163.1, 156.2, 155.3, 150.6, 124.5, 108.7, 106.4, 105.3, 97.8, 61.0, 44.8, 12.5. HRMS (ESI): $m/z = 270.1109$, calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 270.1100. FTIR ν (cm^{-1}): 3435.3, 2970.3, 2929.0, 1678.8, 1599.6, 1523.8, 1324.1, 1086.4, 831.6. Melting point: 149 °C.

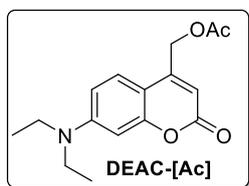
4-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-diethylaminocoumarin (118):



Following a procedure modified from literature.^[162] To a stirred solution of **116** (1.60 g, 6.47 mmol, 1 eq.) and DMAP (39 mg, 0.32 mmol, 0.05 eq.) in CH_2Cl_2 (75 mL) under argon atmosphere were added successively *tert*-Butyldimethylsilyl chloride (1.17 g, 7.76 mmol, 1.2 eq.) and Et_3N (1.35 mL, 9.71 mmol, 1.5 eq.). The resulting mixture was stirred at r.t. for 16 h, then it was quenched with a saturated NH_4Cl solution, and extracted with CH_2Cl_2 . The combined organic layers were washed with water, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by flash column chromatography of silica gel (eluent: CH_2Cl_2 100%), to give **118** as a pale yellow solid (2.08 g, 89%).

^1H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.25 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.60 – 6.47 (m, 2H), 6.28 (t, $J = 1.5$ Hz, 1H), 4.81 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H), 3.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H), 0.95 (s, 9H), 0.14 (s, 6H).

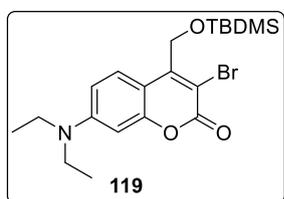
(7-(diethylamino)-4-acetoxymethylcoumarin (DEAC-[Ac]):



Following the general procedure for acetylation (Proc. A) with **AC08** (450 mg, 1.81 mmol, 1 eq.), the product was further purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: Toluene:AcOEt, 100:0 to 80:20) to give **DEAC-[Ac]** as a bright yellow powder (520 mg, **quant.**).

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.27 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.57 (dd, $J = 9.0, 2.6$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.13 (t, $J = 1.2$ Hz, 1H), 5.21 (d, $J = 1.2$ Hz, 2H), 3.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.19 (s, 3H), 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 170.4, 162.0, 156.3, 150.7, 149.5, 124.5, 108.7, 106.4, 106.0, 97.9, 61.4, 44.9, 20.9, 12.5. **FTIR ν (cm⁻¹):** 2966.9, 2925.6, 1744.2, 1699.5, 1603.0, 1523.8, 1406.7, 1227.6, 1069.2, 821.2. **Melting point:** 108 °C.

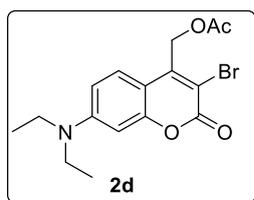
7-diethylamino-4-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)- 3-bromocoumarin (119):



Following the general procedure for bromination (Proc. B) with **118** (1.0 g, 2.77 mmol, 1 eq.), the crude was then purified by column chromatography of silica gel (eluent: Petroleum Ether:CH₂Cl₂ 1:9), to give **119** as a pale yellow solid (1.15 g, **94%**).

^1H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.76 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.62 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 3H), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 5H), 0.90 (s, 7H), 0.14 (s, 5H).

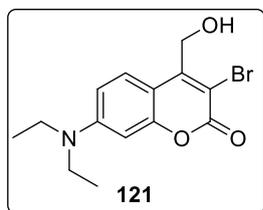
7-diethylamino-4-acetoxymethyl-3-bromocoumarin (120):



Following the general procedure for bromination (Proc. B) with **DEAC-[Ac]** (62.2 mg, 0.215 mmol, 1 eq.), the crude was purified by flash column chromatography of silica gel (eluent: CH₂Cl₂ 100%), to give **120** as a bright yellow solid (68 mg, **86%**).

^1H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.44 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 3.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.12 (s, 3H), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H).

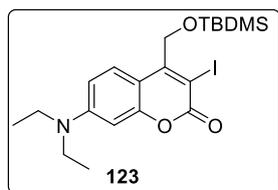
7-diethylamino-4-hydroxymethyl-3-bromocoumarin (**121**):



Following the general procedure for bromination (Proc. B) with **116** (100 mg, 0.404 mmol, 1 eq.), the crude was purified by a short column chromatography of silica gel (eluent: CH₂Cl₂:AcOEt, 95:5), to give **121** as a yellow solid (79 mg, 57%).

^1H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.66 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 6.63 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H).

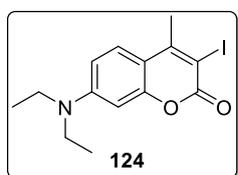
7-diethylamino-4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)- 3-iodocoumarin (**123**):



To a stirred solution of **118** (200 mg, 0.55 mmol, 1 eq.) in CHCl₃ (20 mL) under argon atmosphere at 0 °C were added successively *N*-iodosuccinimide (137.3 mg, 0.61 mmol, 1.1 eq.) and BF₃·Et₂O (48%, 0.08 mL, 0.275 mmol, 0.5 eq.). The resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred in the dark for 2 h. The pink mixture was quenched with an aqueous Na₂S₂O₃ saturated solution, then extracted with AcOEt (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by a short column chromatography of silica gel (eluent: toluene:AcOEt, 90:10), to give **123** as an orange solid (137 mg, 51%).

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.77 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.60 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.22 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H), 0.91 (s, 9H), 0.16 (s, 6H).

7-diethylamino-4-methyl-3-iodocoumarin (**124**):

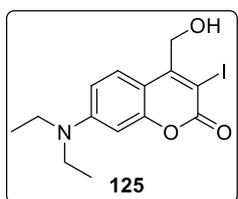


To a stirred solution of 7-diethylamino-4-methylcoumarin (3.0 g, 13.0 mmol, 1 eq.) in dioxane (150 mL) under argon atmosphere was added a solution of iodine (16.5 g, 65.0 mmol, 5 eq.) in dioxane (60 mL) and pyridine (12 mL). Upon completion of the addition, the resulting mixture

was stirred in the dark for 3 h, then it was quenched with an aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturated solution, and extracted with AcOEt (3 x 75 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by recrystallization from hexane:acetone (99:1) to give **124** as a dark orange solid (4.46 g, **96%**).

^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz), δ (ppm): 7.45 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 6.57 (dd, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 3.41 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.59 (s, 3H), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H).

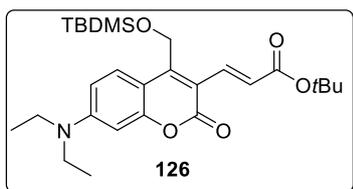
7-diethylamino-4-hydroxymethyl-3-iodocoumarin (**125**):



To a stirred solution of **116** (17.2 g, 69.6 mmol, 1 eq.) in CHCl_3 (350 mL) under argon atmosphere at 0°C were added successively *N*-iodosuccinimide (17.2 g, 76.5 mmol, 1.1 eq.) and $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (48%, 9.2 mL, 34.8 mmol, 0.5 eq.). The resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred in the dark for 2 h. The pink mixture was quenched with an aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturated solution, then extracted with AcOEt (3 x 75 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by a short column chromatography of silica gel (eluent: toluene:AcOEt, 80:20), to give **125** as a bright yellow solid (18.1 g, **70%**).

^1H NMR (acetone- d_6 , 300 MHz), δ (ppm): 7.85 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.74 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 4.97 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 4.67 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 3.52 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.22 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{13}C NMR (acetone- d_6 , 75 MHz), δ (ppm):** 159.0, 157.7, 156.6, 151.7, 128.3, 109.7, 108.6, 97.2, 83.4, 67.6, 45.3, 12.8. **HRMS (ESI):** $m/z = 396.0069$, calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{INO}_3\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 396.0067. **FTIR ν (cm^{-1}):** 3379.5, 2969.9, 2928.0, 1677.6, 1611.7, 1561.3, 1503.7, 1414.5, 1356.2, 1140.9, 830.7, 801.5, 761.2. **Melting point:** 146°C .

tert-butyl (*E*)-3-(4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-(diethylamino)-coumarin-3-yl)acrylate (**126**):

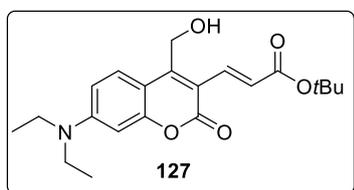


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **119** (131 mg, 0.297 mmol, 1 eq.) and *tert*-butyl acrylate (0.13 mL, 0.892 mmol, 3 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the mixture was extracted with AcOEt

(3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: Petroleum Ether:AcOEt, 9:1) to give **126** as an orange solid (116 mg, **80%**). Analytical data was in accordance with literature.^[162]

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.75 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 9.2, 2.6 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 3.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 9H), 0.90 (s, 9H), 0.15 (s, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 167.0, 160.7, 155.8, 151.3, 151.0, 134.8, 127.5, 124.8, 113.7, 109.1, 108.3, 97.1, 80.1, 57.7, 44.9, 28.2, 25.8, 18.3, 12.5, -5.1.

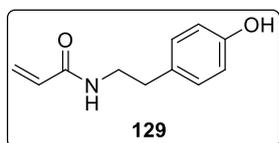
***tert*-butyl (*E*)-3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)acrylate (**127**):**



Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **121** (106 mg, 0.325 mmol, 1 eq.) and *tert*-butyl acrylate (0.15 mL, 0.975 mmol, 3 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the mixture was extracted with AcOEt (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: Toluene:AcOEt, 85:15) to give **127** as an orange solid (90 mg, **75%**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.09 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 6.65 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 3.44 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

***N*-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide (**129**):**

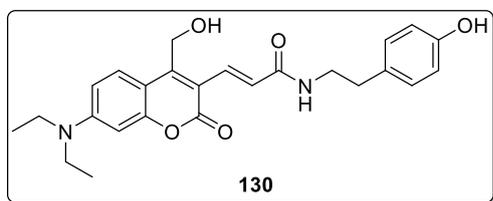


A stirred solution of tyramine (1.45 g, 10.6 mmol, 1 eq.) in methanol (20 mL) was placed under argon at 0 °C. Triethylamine (2.5 mL, 18.0 mmol, 1.7 eq.) and a solution of acryloyl chloride (1.05 mL, 12.7 mmol, 1.2 eq.) in anhydrous THF (1 mL) were then simultaneously added dropwise over 15 minutes. Upon completion of the addition, the resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred for 1 h. The solvents were then removed under vacuum, and the residue was dissolved in AcOEt and washed with brine, then dried over Na₂SO₄, filtered and

concentrated under reduced pressure. The resulting white solid was pure enough to be used without further purification (1.61 g, 80%).

¹H NMR (acetone-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 8.27 (s, 1H), 7.37 (*br s*, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.22 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 6.19 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 5.54 (dd, *J* = 9.3, 3.1 Hz, 1H), 3.49 – 3.36 (m, 2H), 2.75 – 2.67 (m, 2H). **¹³C NMR (acetone-*d*₆, 75 MHz), δ (ppm):** 165.6, 156.7, 132.7, 131.0, 130.4, 125.2, 116.0, 41.8, 35.5. **HRMS (ESI):** *m/z* = 214.0832, calcd for C₁₁H₁₃NO₂Na (M+Na)⁺: 214.0838.

(*E*)-3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)-*N*-(4-hydroxyphenethyl)acrylamide (130):

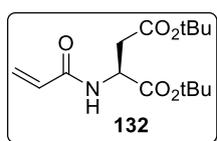


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (150 mg, 0.402 mmol, 1 eq.) and **129** (76.8 mg, 0.402 mmol, 1 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with

water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the resulting precipitate was collected by filtration, washed with a large amount of water (250 mL), dried under vacuum, and then finally extracted using a Soxhlet apparatus under argon atmosphere with distilled THF for 24 h. The solvent was evaporated to give **130** as a brown solid (136 mg, 77%).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 9.18 (s, 1H), 8.25 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.76 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.52 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 5.57 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.52 – 3.39 (m, 6H), 2.64 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.13 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz), δ (ppm):** 165.7, 159.9, 155.6, 155.2, 152.4, 150.8, 130.9, 129.6, 129.5, 128.0, 125.2, 115.1, 109.4, 107.6, 96.3, 55.2, 44.1, 34.4, 12.4. **HRMS (ESI):** *m/z* = 459.1871, calcd for C₂₅H₂₈N₂O₅Na (M+Na)⁺: 459.1890.

di-*tert*-butyl acryloyl-*L*-aspartate (132):

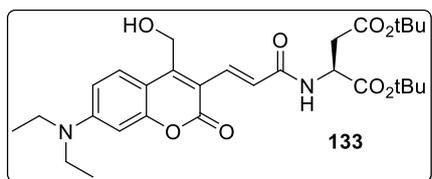


A stirred solution of di-*tert*-butyl *L*-aspartate (1.0 g, 3.55 mmol, 1 eq.) in dry CH₂Cl₂ (36 mL) was placed under argon at 0 °C. Triethylamine (1.05 mL, 7.45 mmol, 2.1 eq.) was added and the mixture was stirred for 10 min, then acryloyl chloride (0.29 mL, 3.55 mmol, 1 eq.) was added dropwise over 5 minutes. Upon completion of the addition, the resulting mixture was allowed to warm up to room temperature,

and stirred for 4 h. The solvents were then removed under vacuum, and the residue was suspended in THF. The white precipitate was filtered off over a pad of Celite®, and the filtrate was evaporated. The resulting white solid was pure enough to be used without further purification (1.1 g, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 6.60 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.29 (dd, *J* = 17.0, 1.6 Hz, 1H), 6.13 (dd, *J* = 17.0, 10.1 Hz, 1H), 5.67 (dd, *J* = 10.1, 1.6 Hz, 1H), 4.81 – 4.69 (m, 1H), 2.84 (ddd, *J* = 42.6, 17.2, 4.3 Hz, 2H), 1.46 (s, 8H), 1.43 (s, 9H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 170.5, 169.9, 165.1, 130.7, 127.0, 82.6, 81.7, 49.2, 37.5, 28.2, 28.0. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3426.9, 2982.8, 1732.3, 1665.9, 1525.2, 1369.9, 1155.2, 845.8.

di-tert-butyl (E)-(3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)acryloyl)-L-aspartate (133):

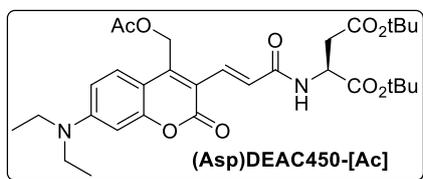


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (500 mg, 1.34 mmol, 1 eq.) and **132** (441 mg, 1.47 mmol, 1.1 eq.). The reaction was quenched with H₂O, and solvents were removed under vacuum. The residue was

extracted with AcOEt, dried and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 98:2 to 70:30). Brown solid (257 mg, **57%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.85 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 9.2, 2.6 Hz, 1H), 6.45 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.95 (s, 4H), 4.82 – 4.76 (m, 1H), 3.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 2.90 (dd, *J* = 17.1, 4.4 Hz, 1H), 2.74 (dd, *J* = 17.1, 4.4 Hz, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.43 (s, 9H), 1.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 170.4, 169.9, 166.9, 160.8, 156.0, 152.0, 151.3, 133.0, 127.6, 124.0, 113.3, 109.6, 108.4, 97.2, 82.4, 81.6, 56.5, 49.5, 45.0, 37.7, 28.2, 28.0, 12.6. **HRMS (FD):** *m/z* = 544.27724, calcd for C₂₉H₄₀N₂O₈ (M)⁺: 544.27846. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3428.1, 2976.2, 2922.6, 1726.6, 1607.5, 1510.7, 1354.3, 1148.7, 845.1.

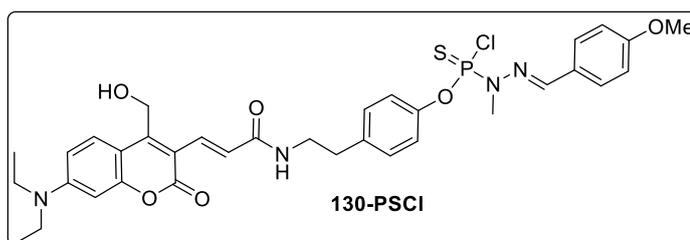
di-tert-butyl (E)-3-(4-(acetoxymethyl)-7-(diethylamino)-coumarin-3-yl)acryloyl)-L-aspartate ((Asp)DEAC450-[Ac]):



Following the general procedure for acetylation (Proc. A) with **133** (50 mg, 91.8 μmol , 1 eq.), the product was further purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH_2Cl_2 :acetone, 100:0 to 75:25) to give **(Asp)DEAC450-[Ac]** as an orange powder (47 mg, **87%**).

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 7.80 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.63 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 2H), 6.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.82 (dt, $J = 8.4, 4.4$ Hz, 1H), 3.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.93 (dd, $J = 17.1, 4.3$ Hz, 1H), 2.75 (dd, $J = 17.1, 4.4$ Hz, 1H), 2.08 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.44 (s, 9H), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{13}C NMR (CDCl_3 , 151 MHz), δ (ppm):** 170.5, 170.4, 169.9, 166.1, 160.3, 155.7, 151.2, 146.8, 132.3, 126.8, 125.2, 115.2, 109.8, 108.2, 97.5, 82.4, 81.6, 57.5, 49.4, 45.1, 37.7, 28.2, 28.0, 20.9, 12.6. **HRMS (FD):** $m/z = 609.2787$, calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_9\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 609.2782.

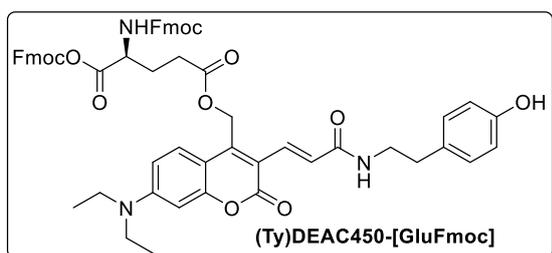
O-(4-(2-((E)-3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)acrylamido)ethyl)phenyl) (2-((E)-4-methoxybenzylidene)-1-methylhydrazinyl)phosphonochloridothioate (130-PSCI):



P1 (23.8 mg, 80.2 μmol , 1 eq.), and Cs_2CO_3 (104.5 mg, 0.321 mmol, 4 eq.) were suspended in anhydrous THF (1 mL) under argon atmosphere, then **130** (35 mg, 80.2 μmol , 1 eq.) was added in three portions over 45 min. The resulting mixture was stirred at room temperature for 16 h. The suspension was then filtered over Celite®, and the solvent evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel pre-neutralized with 3% of Et_3N (eluent: Petroleum Ether:AcOEt, 2:8) to give **130-PSCI** as a bright yellow powder (27 mg, **48%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.88 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 7.78 – 7.68 (m, 4H), 7.28 – 7.18 (m, 4H), 7.06 – 6.94 (m, 3H), 6.68 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.11 (t, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.62 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.53 – 3.41 (m, 6H), 2.93 – 2.83 (m, 2H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **³¹P NMR (CDCl₃, 121 MHz), δ (ppm):** 69.1 (s). **HRMS (ESI):** *m/z* = 719.1823, calcd for C₃₄H₃₈N₄O₆NaPSCI (M+Na)⁺: 719.1830.

(*E*)-1-((9*H*-fluoren-9-yl)methyl) 5-((7-(diethylamino)-3-(3-((4-hydroxyphenethyl)amino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-coumarin-4-yl)methyl) (((9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)-*L*-glutamate ((Ty)DEAC450-[GluFmoc]):

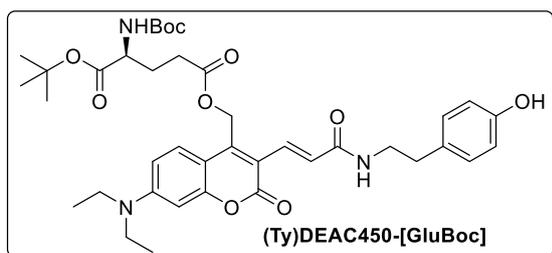


Following the general procedure for esterification (Proc. D), with Fmoc-Glu-OFm (130 mg, 0.237 mmol, 1.1 eq.) and **130** (100 mg, 0.215 mmol, 1 eq.). The product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent:

CH₂Cl₂:acetone, 1:0 to 85:15), to give **(Ty)DEAC450-[GluFmoc]** as a bright yellow powder (146 mg, **68%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.80 – 7.64 (m, 4H), 7.71 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 7.62 – 7.44 (m, 4H), 7.48 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.43 – 7.26 (m, 8H), 7.15 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.75 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.59 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.25 – 6.14 (m, 1H), 5.96 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.71 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.35 (s, 2H), 4.55 (ddd, *J* = 32.9, 10.8, 6.2 Hz, 1H), 4.25 – 4.10 (m, 2H), 3.34 (q, *J* = 14.1, 7.0 Hz, 4H), 2.72 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.41 – 2.27 (m, 2H), 2.26 – 2.10 (m, 2H), 2.01 – 1.84 (m, 2H), 1.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **HRMS (ESI):** *m/z* = 988.3781, calcd for C₅₉H₅₅N₃O₁₀Na (M+Na)⁺: 988.3779.

(*E*)-1-(*tert*-butyl) 5-((7-(diethylamino)-3-(3-((4-hydroxyphenethyl)amino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-coumarin-4-yl)methyl) (*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-glutamate ((Ty)DEAC450-[GluBoc]):

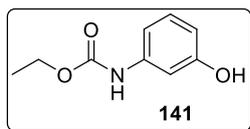


Following the general procedure for esterification (Proc. D), with Boc-Glu-*O**t*Bu (30.6 mg, 0.100 mmol, 1.1 eq.) and **130** (40 mg, 91.6 mmol, 1 eq.). The product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient

eluent: CH₂Cl₂:acetone, 1:0 to 75:25), to give **(Ty)DEAC450-[GluBoc]** as a bright yellow powder (40 mg, **60%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.80 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.16 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.44 – 5.36 (m, 2H), 5.15 (s, 2H), 4.29 – 4.17 (m, 1H), 3.62 (q, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.42 (q, *J* = 6.8 Hz, 4H), 2.87 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.63 (tdd, *J* = 16.5, 12.4, 6.6 Hz, 2H), 2.31 – 2.23 (m, 1H), 2.05 – 1.96 (m, 1H), 1.89 – 1.84 (m, 1H), 1.48 (s, 9H), 1.44 (s, 9H), 1.21 (t, *J* = 6.8 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 172.3, 171.6, 171.4, 166.6, 160.5, 155.6, 151.1, 149.4, 146.5, 136.7, 131.9, 129.9, 126.9, 125.7, 121.8, 115.7, 115.4, 109.9, 108.3, 97.5, 82.5, 80.0, 58.0, 53.5, 45.2, 41.2, 35.4, 29.8, 28.5, 28.1, 12.6. **HRMS (ESI):** *m/z* = 744.3475, calcd for C₃₉H₅₁N₃O₁₀Na (M+Na)⁺: 744.3466.

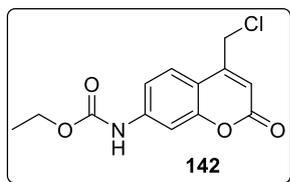
Ethyl (3-hydroxyphenyl)carbamate (**141**):



Compound **141** was synthesized according to a procedure described in literature,^[154] and obtained as a white solid (8.3 g, **quant.**). Analytical data were in accordance with literature.

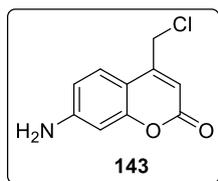
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz), δ (ppm): 9.45 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 7.07 – 6.96 (m, 2H), 6.84 (ddd, *J* = 8.1, 2.0, 1.0 Hz, 1H), 6.37 (ddd, *J* = 8.1, 2.0, 1.0 Hz, 1H), 4.10 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

Ethyl (4-(chloromethyl)-coumarin-7-yl)carbamate (**142**):



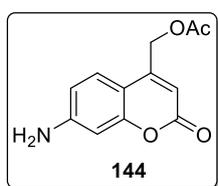
Compound **142** was synthesized according to a procedure described in literature,^[154] and obtained as a grey solid (5.77 g, **84%**). Analytical data were in accordance with literature.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz), δ (ppm): 10.19 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.8, 2.1 Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.18 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

7-amino-4-chloromethylcoumarin (143):

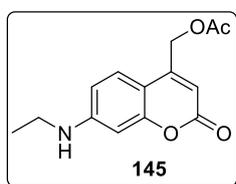
Compound **143** was synthesized according to a procedure described in literature,^[154] and obtained as a pale yellow solid (2.1 g, **94%**). Analytical data were in accordance with literature.

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz), δ (ppm): 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.59 (dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 6.44 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.23 (s, *br*, 2H), 6.18 (s, 1H), 4.87 (s, 2H).

7-amino-4-acetoxymethylcoumarin (144):

Compound **144** was synthesized according to a procedure described in literature,^[154] and obtained as a yellow solid (1.07 g, **96%**). Analytical data were in accordance with literature.

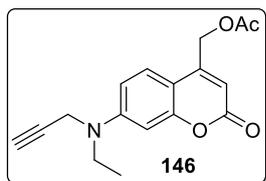
¹H NMR (DMSO-*d*₆, 200 MHz), δ (ppm): 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.56 (dd, *J* = 8.6, 2.2 Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.21 (s, *br*, 2H), 5.96 (s, 1H), 5.24 (s, 2H), 2.16 (s, 3H).

7-ethylamino-4-acetoxymethylcoumarin (145):

To a stirred mixture of **144** (150 mg, 0.643 mmol, 1 eq.) and sodium acetate (79.1 mg, 0.965 mmol, 1.5 eq.) in methanol (4 mL) under argon atmosphere were added successively acetaldehyde (0.22 mL, 3.86 mmol, 6 eq.) and 2 drops of concentrated HCl. The resulting mixture was stirred at r.t. in the dark for 30 min, then NaBH₃CN (80.8 mg, 1.29 mmol, 2 eq.) was added portionwise, and the reaction was stirred in the dark overnight. The reaction was then quenched with a saturated NH₄Cl solution, and partially concentrated until precipitation occurred. The resulting solid was filtered off, washed with warm water, then with Et₂O, and dried under vacuum to give **145** as a bright yellow powder (288 mg, **86%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.24 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.49 (dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, 1H), 6.45 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 6.15 (t, *J* = 1.3 Hz, 1H), 5.20 (d, *J* = 1.3 Hz, 2H), 3.21 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.28 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 170.4, 161.9, 156.3, 151.8, 149.8, 124.4, 110.7, 107.4, 107.0, 98.2, 61.4, 44.0, 20.9, 14.5.

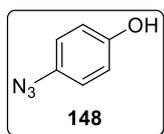
7-ethyl(prop-2-yn-1-yl)amino-4-acetoxymethylcoumarin (**146**):



A stirred suspension of **145** (220 mg, 0.842 mmol, 1 eq.), propargyl bromide (0.28 mL, 80% in toluene, 2.53 mmol, 3 eq.), potassium carbonate (233 mg, 1.68 mmol, 2 eq.), sodium iodide (12.6 mg, 0.084 mmol, 0.1 eq.) and tetra-*n*-butylammonium bromide (27.1 mg, 0.084 mmol, 0.1 eq.) in acetone (10 mL) under argon atmosphere was refluxed in the dark overnight. Upon cooling down to room temperature, the mixture was filtered over Celite® and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: petroleum ether:AcOEt, 75:25) to give **146** as an off-white powder (169 mg, 67%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.39 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.77 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 6.74 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.25 (t, *J* = 1.3 Hz, 1H), 5.28 (d, *J* = 1.3 Hz, 2H), 4.13 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 3.58 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.31 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H).

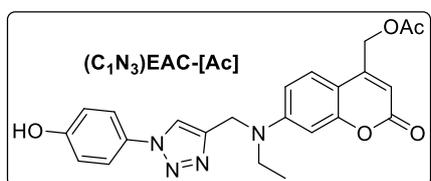
4-azidophenol (**148**):



To a stirred solution of 4-aminophenol (2.0 g, 18.3 mmol, 1 eq.), in water (25 mL) and hydrochloric acid (37%, 3.3 mL, 38.5 mmol, 2.1 eq.), vigorously stirred and cooled down to 0 °C, was added dropwise a solution of NaNO₂ (1.27 g, 28.3 mmol, 1 eq.) in water (8 mL), while keeping internal temperature below 5 °C. The mixture was stirred for 30 min, then a solution of sodium azide (1.19 g, 18.3 mmol, 1 eq.) in water (10 mL) was added dropwise. The mixture was allowed to warm up to r.t. for 3 h, then it was extracted with AcOEt (3 x 50 mL). The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. The crude was purified by filtration over a short pad of silicagel (eluent: petroleum ether:AcOEt, 8:2) to give **148** as a red oil (2.25 g, 91%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 6.94 – 6.87 (m, 2H), 6.86 – 6.79 (m, 2H), 5.25 (s, *br*, 1H).

7-ethyl((1-(4-hydroxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino-4-acetoxymethylcoumarin ((C₁N₃)EAC-[Ac]):

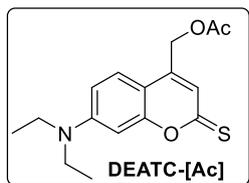


To a stirred solution of **146** (230 mg, 0.768 mmol, 1 eq.) and 4-azidophenol (156 mg, 1.15 mmol, 1.5 eq.) in degassed DMSO (4 mL) were added sodium ascorbate (30.4 mg, 20 mol%) and copper sulfate pentahydrate (19.2

mg, 20 mol%). The resulting mixture was stirred in the dark for 12 h, then the solvent was removed under high-vacuum. The residue was suspended in water, and extracted with CH_2Cl_2 (5 x 15 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH_2Cl_2 :acetone, 98:2 to 90:10) to give $(\text{C}_1\text{N}_3)\text{EAC-}[\text{Ac}]$ as a bright yellow powder (219 mg, 66%).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ (ppm): 9.90 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.86 (dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.02 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 5.26 (d, $J = 1.3$ Hz, 2H), 4.71 (s, 2H), 3.61 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.15 (s, 3H), 1.19 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). **^1H NMR (DMSO- d_6 , 151 MHz), δ (ppm):** 170.0, 160.5, 157.7, 155.5, 150.7, 150.6, 144.7, 128.7, 125.4, 121.8, 121.1, 116.0, 109.4, 105.9, 105.7, 97.8, 61.1, 44.9, 44.8, 29.0, 20.5, 12.0. **HRMS (ESI):** $m/z = 457.1464$, calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_5\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 457.1482.

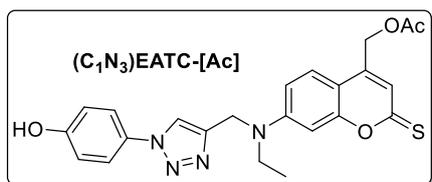
7-amino-4-acetoxymethylcoumarin (DEATC-[Ac]):



Compound **DEATC-[Ac]** was synthesized according to a procedure described in literature,^[168] and obtained as an orange solid (352 mg, 84%).

^1H NMR (CDCl $_3$, 300 MHz), δ (ppm): 7.33 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.04 (t, $J = 1.0$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.64 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 1H), 5.17 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 3.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 2.18 (s, 3H), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{13}C NMR (CDCl $_3$, 75 MHz), δ (ppm):** 197.7, 170.8, 159.5, 151.5, 142.5, 125.0, 120.9, 110.8, 108.6, 97.9, 61.5, 45.5, 21.3, 12.9. **FTIR ν (cm $^{-1}$):** 3070.2, 2966.9, 2922.1, 2887.7, 1730.5, 1623.7, 1568.6, 1513.5, 1430.8, 1289.6, 1217.3, 1072.6, 848.8, 786.8. **Melting point:** 118-124 °C.

7-ethyl((1-(4-hydroxyphenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino-4-acetoxymethylthiocoumarin ((C $_1\text{N}_3$)EATC-[Ac]):

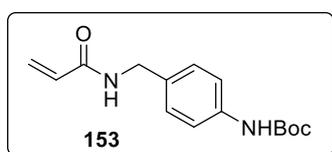


To a stirred solution of $(\text{C}_1\text{N}_3)\text{EAC-}[\text{Ac}]$ (80 mg, 0.184 mmol, 1 eq.) in dry toluene (2 mL) under argon atmosphere was added Lawesson's reagent (44.7 mg, 0.110 mmol, 0.6 eq.). The resulting mixture was heated to 110 °C overnight, then the solvent was removed under vacuum. The residue was purified by column

chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 98:2 to 85:15), then washed with Et₂O to give (C₁N₃)EATC-[Ac] as an orange powder (41 mg, 50%).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.72 (s, 1H), 7.52 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.36 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.06 (t, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.81 – 6.77 (m, 2H), 5.17 (d, *J* = 1.2 Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 3.62 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). **¹H NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 197.3, 170.4, 158.9, 156.7, 151.2, 144.9, 141.8, 130.3, 124.9, 122.7, 121.4, 120.2, 116.6, 111.0, 109.2, 98.4, 61.1, 46.1, 12.5.

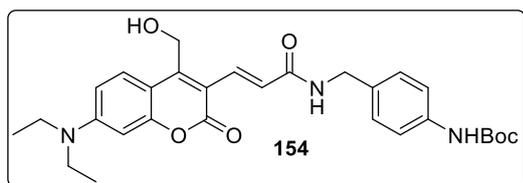
4-(acrylamidomethyl)-1-*N*-Boc-aniline (**153**):



A stirred solution of 4-(aminomethyl)-1-*N*-Boc-aniline (500 mg, 2.25 mmol, 1 eq.) in THF (22 mL) was placed under argon at 0 °C. Triethylamine (0.375 mL, 2.70 mmol, 1.5 eq.) and acryloyl chloride (0.20 mL, 2.47 mmol, 1.1 eq.) were then successively added dropwise over 5 minutes. Upon completion of the addition, the resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred for 2 h. Triethylamine hydrochloride precipitate was then removed by filtration over Celite®, and solvents were removed under vacuum. The resulting solid was precipitated and washed with Et₂O to give **153** as a white powder (553 mg, 89%).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 9.28 (s, 1H), 8.50 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.26 (dd, *J* = 17.1, 10.0 Hz, 1H), 6.11 (dd, *J* = 17.1, 2.4 Hz, 1H), 5.60 (dd, *J* = 10.0, 2.4 Hz, 1H), 4.26 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 1.46 (s, 9H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz), δ (ppm):** 164.4, 152.7, 138.3, 132.7, 131.7, 127.8, 125.2, 118.1, 78.9, 41.7, 28.1.

tert-butyl (*E*)-(4-((3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)acrylamido)methyl)phenyl)carbamate (**154**):

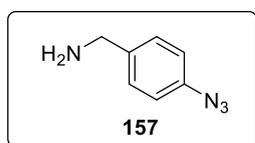


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (300 mg, 0.804 mmol, 1 eq.) and **153** (233 mg, 0.844 mmol, 1.05 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the resulting precipitate was collected by filtration, and washed with a large amount of

water. The resulting powder was dried under vacuum to give **154** as a brown-greenish solid (358 mg, **85%**).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 9.29 (s, 1H), 8.66 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.19 (d, *J* = 10.6 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.78 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 6.54 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.73 (s, 2H), 4.31 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.46 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H), 1.47 (s, 9H), 1.14 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H). **HRMS (ESI):** *m/z* = 544.2431, calcd for C₂₉H₃₅N₃O₆Na (M+Na)⁺: 544.2418.

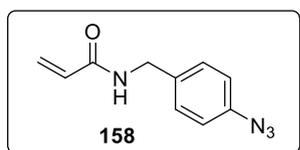
(4-azidophenyl)methanamine (157):



4-(aminomethyl)aniline (1.0 g, 8.19 mmol, 1 eq.) was suspended in water (12 mL) and concentrated hydrochloric acid (37%, 2.1 mL, 25.4 mmol, 3.1 eq.) was slowly added at 0 °C. To this yellow solution was added dropwise a solution of NaNO₂ (565 mg, 8.19 mmol, 1 eq.) in water (4 mL), while maintaining internal temperature below 5 °C. The resulting mixture was stirred for 30 min at 0 °C, then a solution of NaN₃ (533 mg, 8.19 mmol, 1 eq.) in water (5 mL) was carefully added dropwise over 15 min. This solution was then allowed to warm up to room temperature and stirred for 2 h. The pH was then carefully adjusted by addition of 2M NaOH, then the mixture was extracted with AcOEt (4 x 40 mL). The combined organic layers were washed with brine (20 mL), then dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give **157** as a pale yellow oil (1.05 g, **87%**).

¹H NMR (acetone-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 7.40 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.40 (s, 1H). **¹³C NMR (acetone-*d*₆, 75 MHz), δ (ppm):** 139.2, 138.6, 130.1, 119.5, 54.8.

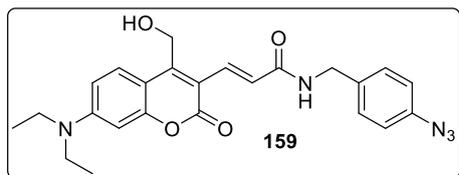
***N*-(4-azidobenzyl)acrylamide (mk447):**



A stirred solution of **157** (400 mg, 2.70 mmol, 1 eq.) in THF (27 mL) was placed under argon at 0 °C. Triethylamine (0.45 mL, 3.24 mmol, 1.5 eq.) and acryloyl chloride (0.24 mL, 2.97 mmol, 1.1 eq.) were then successively added dropwise over 5 minutes. Upon completion of the addition, the resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred for 2 h. Triethylamine hydrochloride precipitate was then removed by filtration over Celite®, and solvents were removed under vacuum. The resulting solid was washed with Et₂O to give **158** as a white powder (540 mg, **99%**).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ (ppm): 8.62 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.27 (dd, $J = 17.1, 10.0$ Hz, 1H), 6.12 (dd, $J = 17.1, 2.4$ Hz, 1H), 5.62 (dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H). **^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz), δ (ppm):** 164.6, 137.9, 136.4, 131.6, 129.1, 125.5, 119.0, 41.6.

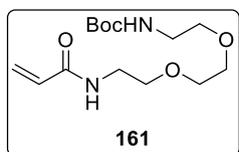
(*E*)-*N*-(4-azidobenzyl)-3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)acrylamide (159**):**



Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (100 mg, 0.268 mmol, 1 eq.) and **158** (108.4 mg, 0.534 mmol, 2.0 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the resulting precipitate was collected by filtration, and washed with a large amount of water. The resulting powder was dried under vacuum, then purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH_2Cl_2 :acetone 10:0 to 5:5). Compound **159** was not isolated pure (44 mg).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz), δ (ppm): 8.73 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.77 (dd, $J = 9.3, 2.4$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 5.56 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.72 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H), 4.36 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.46 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 1.13 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H). **MS (ESI):** $m/z = 470$, calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 470. **FTIR ν (cm^{-1}):** 3437.3, 3060.4, 2957.9, 2873.0, 2112.6, 1703.2, 1618.8, 1511.1, 1472.9, 1352.6, 1288.7, 1109.6.

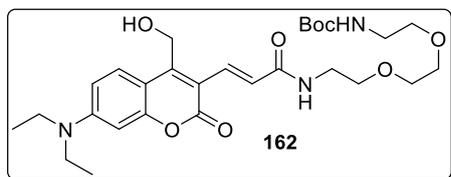
***tert*-butyl (2-(2-(2-acrylamidoethoxy)ethoxy)ethyl)carbamate (**161**):**



A stirred solution of *tert*-butyl (2-(2-(2-aminoethoxy)ethoxy)ethyl)carbamate^[244] (2.77 g, 11.1 mmol, 1 eq.) in methanol (20 mL) was placed under argon at 0 °C. Triethylamine (2.75 mL, 19.8 mmol, 1.8 eq.) and a solution of acryloyl chloride (1.0 mL, 12.4 mmol, 1.1 eq.) in anhydrous THF (1 mL) were then simultaneously added dropwise over 15 minutes. Upon completion of the addition, the resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred for 1 h. The solvents were then removed under vacuum, and the residue was digested in AcOEt and filtered. The filtrate was evaporated to give a crude clear oil. This crude was then purified by flash column chromatography of silicagel (eluent: CH_2Cl_2 :acetone, 7:3) to give **161** as a colorless oil (2.04 g, **61%**).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 8.15 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 6.74 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 6.24 (dd, *J* = 17.1, 10.0 Hz, 1H), 6.07 (dd, *J* = 17.1, 2.4 Hz, 1H), 5.56 (dd, *J* = 10.0, 2.4 Hz, 1H), 3.50 (s, 4H), 3.44 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.41 – 3.33 (m, 2H), 3.28 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.06 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 1.37 (s, 9H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz), δ (ppm):** 164.7, 155.6, 131.7, 125.0, 77.6, 69.6, 69.5, 69.2, 69.1, 28.2. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3322.2, 3079.5, 2954.2, 2928.6, 2873.6, 1667.2, 1536.2, 1119.5.

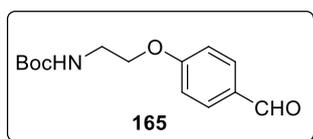
***tert*-butyl (*E*)-(2-(2-(2-(3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)acrylamido)ethoxy)ethoxy)ethyl)carbamate (**162**):**



Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (1.0 g, 2.68 mmol, 1 eq.) and **161** (810.2 mg, 2.68 mmol, 1 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the resulting precipitate was collected by filtration, and washed with a large amount of water. The resulting powder was dried under vacuum, then further purified by flash column chromatography over a short pad of silicagel (eluent: Et₂O 100%, then THF 100%) to give **162** as a dark orange solid (1.12 g, 77%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.82 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 9.2, 2.6 Hz, 1H), 6.45 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.15 (s, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.62 (s, 4H), 3.59 – 3.50 (m, 4H), 3.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.32 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.19 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 167.3, 161.0, 156.3, 156.0, 151.9, 151.2, 132.3, 127.6, 109.6, 108.5, 97.2, 70.5, 70.4, 56.6, 45.0, 39.7, 28.6, 12.7. **HRMS (FD):** *m/z* = 547.28931, calcd for C₂₅H₂₈N₂O₅ (M)⁺: 547.28936.

***N*-(2-(4-formylphenoxy)ethyl)acrylamide (**165**):**

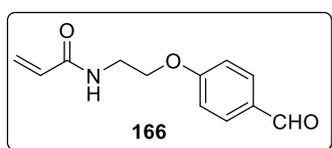


To a stirred suspension of 4-hydroxybenzaldehyde (600 mg, 4.91 mmol, 1 eq.) and potassium carbonate (1.02 g, 7.37 mmol, 1.5 eq.) in acetonitrile (49 mL) under argon atmosphere was added 2-(Boc-amino)ethyl bromide (1.11 g, 5.40 mmol, 1.1 eq.). The resulting mixture was refluxed under argon for 6 h, then a second portion of 2-(Boc-amino)ethyl bromide (0.50 g, 2.23 mmol, 0.45 eq.) was added and the reflux was maintained overnight. The resulting mixture was cooled down to room temperature, and concentrated under reduced pressure. Water (25 mL) was then added and the mixture was extracted with AcOEt (3 x 20 mL). The combined organic layers

were washed with saturated aqueous Na_2CO_3 (2 x 20 mL) and brine (20 mL), then dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure to give **165** as a white solid (1.15 g, **88%**).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 9.88 (s, 1H), 7.83 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.99 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.10 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.56 (dd, $J = 10.9, 5.2$ Hz, 2H), 1.45 (s, 9H). **^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm):** 190.8, 163.7, 155.9, 132.0, 130.2, 114.8, 79.7, 67.5, 28.4. **MS (ESI):** $m/z = 288$, calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 288. **Melting point:** 88 °C.

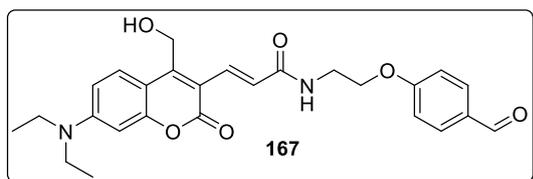
***N*-(2-(4-formylphenoxy)ethyl)acrylamide^[287] (**166**):**



To a stirred suspension of **166** (500 mg, 1.88 mmol, 1 eq.) and sodium iodide (565 mg, 3.77 mmol, 2 eq.) in acetonitrile (19 mL) and methanol (153 μL , 3.77 mmol, 2 eq.), under argon and at 0 °C, was added dropwise acryloyl chloride (0.17 mL, 2.08 mmol, 1.1 eq.). The resulting yellow mixture was stirred for 10 minutes, then triethylamine (2.1 mL, 15.1 mmol, 8 eq.) and more acryloyl chloride (0.14 mL, 1.70 mmol, 0.9 eq.) were successively added dropwise over 10 minutes. Upon completion of the addition, the resulting mixture was allowed to warm up to room temperature, and stirred for 4 h. The reaction was then quenched with 1N HCl (20 mL), then extracted with AcOEt. The combined organic layers were washed with saturated aqueous NaHCO_3 (20 mL) and brine (20 mL), then dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure. The resulting white solid was precipitated and triturated in EtOH/Et₂O and dried under vacuum to give **166** as a white solid (347 mg, **84%**).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 9.88 (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.33 (dd, $J = 17.0, 1.5$ Hz, 1H), 6.13 (dd, $J = 17.0, 10.2$ Hz, 1H), 5.68 (dd, $J = 10.2, 1.5$ Hz, 1H), 4.17 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.79 (dd, $J = 10.7, 5.3$ Hz, 2H). **^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm):** 191.0, 166.1, 163.6, 132.2, 130.5, 130.4, 127.3, 114.9, 67.1, 39.0. **HRMS (ESI):** $m/z = 242.0788$, calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 242.0787.

(E)-3-(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin-3-yl)-N-(2-(4-formylphenoxy)ethyl)acrylamide (167**):**

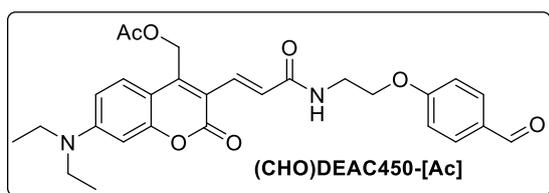


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (250 mg, 0.670 mmol, 1 eq.) and **166** (154.2 mg, 0.703 mmol, 1.05 eq.). Upon cooling down to room temperature, the

reaction was quenched with water, and concentrated to near-dryness. Water was then added, and the resulting precipitate was collected by filtration, and washed with a large amount of water. The resulting powder was dried under vacuum to give **167** as a brown-greenish solid (293 mg, **94%**).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ (ppm): 9.87 (s, 1H), 8.49 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.17 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.77 (dd, *J* = 9.3, 2.6 Hz, 1H), 6.52 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.18 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.58 (dt, *J* = 5.6, 5.5 Hz, 2H), 3.45 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.13 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 151 MHz), δ (ppm):** 191.3, 166.2, 163.4, 159.9, 155.3, 152.6, 150.8, 131.8, 131.4, 129.7, 128.0, 124.8, 115.0, 112.3, 109.4, 107.6, 96.2, 66.8, 55.2, 44.1, 12.4. **HRMS (ESI):** *m/z* = 487.1859, calcd for C₂₆H₂₈N₂O₆Na (M+Na)⁺: 487.1839.

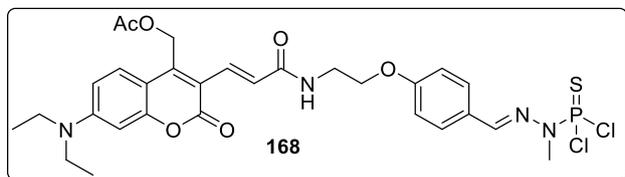
(E)-(7-(diethylamino)-3-(3-((2-(4-formylphenoxy)ethyl)amino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-coumarin-4-yl)methyl acetate ((CHO)DEAC450-[Ac]):



Following the general procedure for acetylation (Proc. A) with **167** (80 mg, 0.172 mmol, 1 eq.), the product was purified by filtration over a short pad of silicagel (eluent: CH₂Cl₂:acetone, 100:0 then 80:20) to give **(CHO)DEAC450-[Ac]** as an orange powder (70 mg, **80%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): δ 9.86 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 15.2, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.63 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H), 6.45 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.19 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 3.84 (dt, *J* = 5.0 Hz, 5.1 Hz, 2H), 3.41 (q, *J* = 6.9 Hz, 4H), 2.08 (s, 3H), 1.20 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 190.9, 170.5, 167.0, 163.6, 160.5, 155.8, 151.4, 147.1, 136.4, 132.2, 130.38, 126.9, 125.0, 114.9, 109.8, 108.1, 97.3, 67.3, 57.5, 45.1, 20.9, 12.6. **MS (ESI):** *m/z* = 551, calcd for C₂₉H₃₁N₂O₉ (M+HCOO)⁻: 551.

(3-((*E*)-3-((2-(4-((*E*)-(2-(dichlorophosphorothioyl)-2-methylhydrazono)methyl)phenoxy)ethyl)amino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-7-(diethylamino)-coumarin-4-yl)methyl acetate (168):

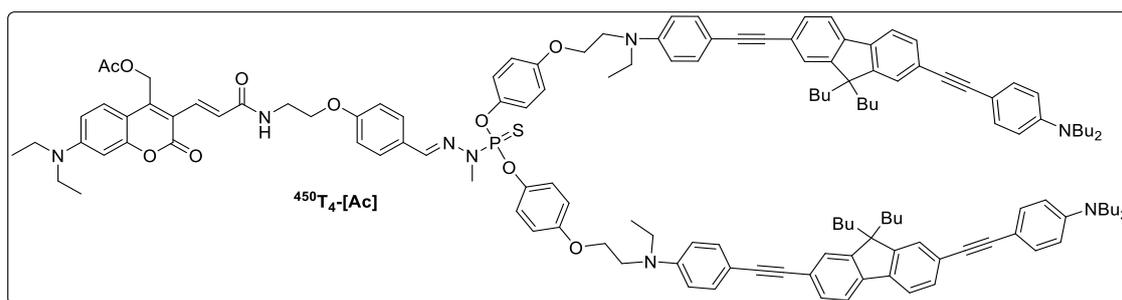


To a stirred solution of **(CHO)DEAC450-[Ac]** (35.0 mg, 69.0 μmol , 1 eq.) in dry THF (1.5 mL) under argon atmosphere was added dropwise a solution of **MMH- PSCl_2**

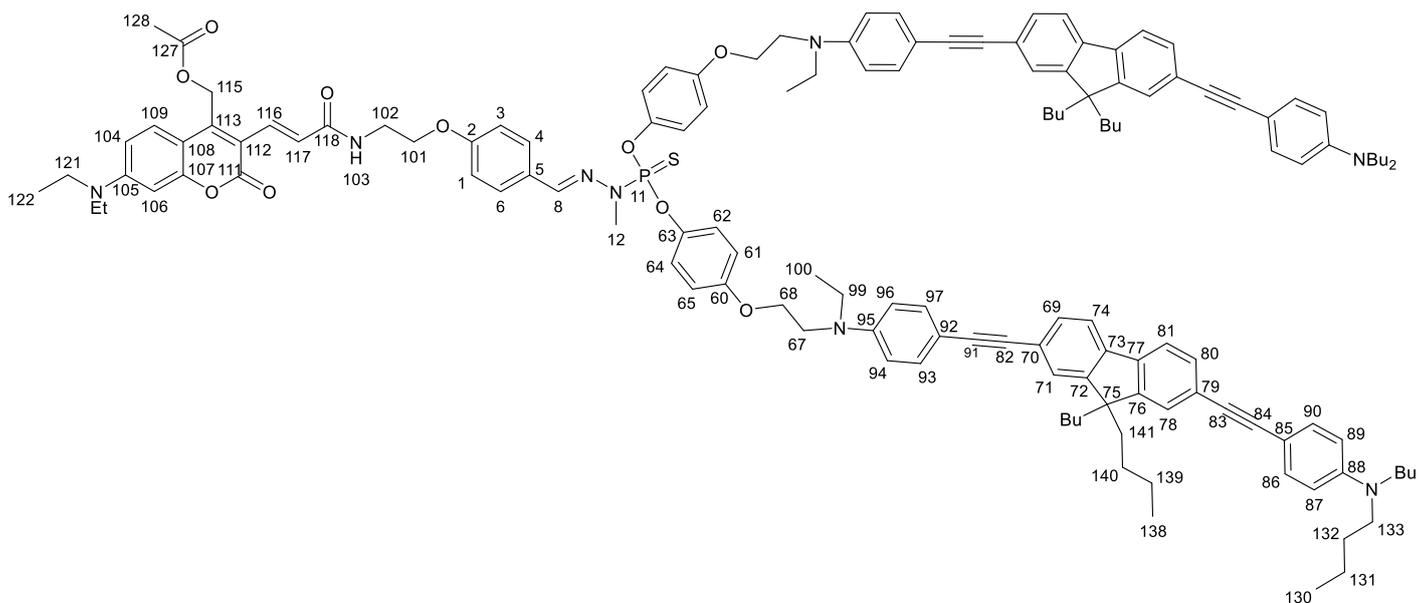
in CHCl_3 (0.24M, 0.29 mL, 69 μmol , 1 eq.). The resulting mixture was stirred at r.t. overnight, then it was concentrated to near-dryness and Et_2O was added to induce precipitation. The resulting precipitate was decanted, washed with Et_2O and pentane, and dried under high vacuum. The resulting powder was used without further purification in next step (46 mg, **quant.**).

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 7.88 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 7.74 – 7.67 (m, 3H), 7.36 (d, $J = 15.1$, 1H), 7.03 (m, 1H), 6.98 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.85 (m, 1H), 6.23 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 5.46 (s, 2H), 4.17 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.86 (dt, $J = 5.8, 5.2$ Hz, 2H), 3.51 (d, $J_{P-H} = 14.4$ Hz, 3H), 3.49 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 2.13 (s, 3H), 1.29 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H). **^{31}P NMR (CDCl_3 , 243 MHz), δ (ppm):** 63.4. **HRMS (ESI):** $m/z = 689.1131$, calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_6\text{NaPSCl}_2$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 689.1127.

Triad $^{450}\text{T}_4$ -[Ac]:

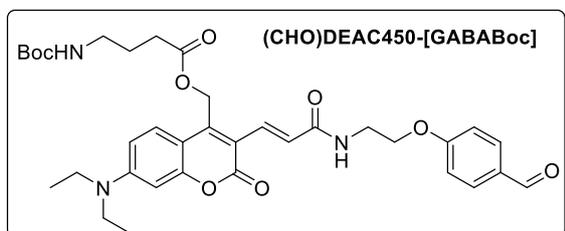


To a stirred solution of **168** (45.0 mg, 67.4 μmol , 1 eq.) in dry THF (3.0 mL) under argon atmosphere were added **(HQ)A₄** (105.9 mg, 134.8 μmol , 2 eq.) and ground Cs_2CO_3 (131.7 mg, 404.5 μmol , 10 eq.). The resulting mixture was heated to 35 $^\circ\text{C}$ overnight. Upon completion of the reaction, the mixture was filtered over Celite® and the filtrate was evaporated. The resulting crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:AcOEt, 9:1 to 6:4) to give the final triad as a dark yellow powder (72 mg, **49%**).



¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.85 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H, *H*₁₁₆), 7.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, *H*_{4,6}), 7.64 – 7.58 (m, 4H, *H*_{74,81}), 7.55 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, *H*₁₀₉), 7.50 – 7.44 (m, 9H, *H*_{8,69,71,78,80}), 7.42 (d, *J* = 8.9 Hz, 8H, *H*_{86,90,93,97}), 7.33 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H, *H*₁₁₇), 7.14 (d, *J* = 9.1 Hz, 4H, *H*_{62,64}), 6.95 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, *H*_{1,3}), 6.80 (d, *J* = 9.1 Hz, 4H, *H*_{61,65}), 6.67 (d, *J* = 8.7 Hz, 4H, *H*_{94,96}), 6.63 (dd, *J* = 9.3, 2.6 Hz, 1H, *H*₁₀₄), 6.59 (d, *J* = 6.8 Hz, 4H, *H*_{89,87}), 6.49 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, *H*₁₀₆), 6.18 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, *H*₁₀₃), 5.42 (s, 2H, *H*₁₁₅), 4.14 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, *H*₁₀₁), 4.08 (t, *J* = 6.0 Hz, 4H, *H*₆₈), 3.83 (q, *J* = 5.5 Hz, 2H, *H*₁₀₂), 3.72 (t, *J* = 6.0 Hz, 4H, *H*₆₇), 3.48 (q, *J* = 7.0, 4H, *H*₉₉), 3.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H, *H*₁₂₁), 3.34 – 3.23 (m, 11H, *H*_{12,133}), 2.09 (s, 3H, *H*₁₂₈), 2.00 – 1.94 (m, 8H, *H*₁₄₁), 1.63 – 1.54 (m, 8H, *H*₁₃₂), 1.40 – 1.17 (m, 12H, *H*_{100,122,139}), 1.08 (h, *J* = 7.3 Hz, 8H, *H*₁₃₁), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 12H, *H*₁₃₀), 0.67 (t, *J* = 7.3 Hz, 12H, *H*₁₃₈), 0.63 – 0.56 (m, 8H, *H*₁₄₀). **³¹P NMR (CDCl₃, 243 MHz), δ (ppm):** 64.7 (s, *P*₁₁). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 170.6, 166.9, 160.5, 159.8, 156.1, 155.8, 151.5, 151.1, 148.1, 147.5, 147.0, 144.4, 140.3, 140.2, 139.5, 133.1 (m) 132.2, 130.5, 128.7, 128.4, 126.9, 125.7, 125.2, 122.9, 122.7, 119.8, 115.1, 114.9, 111.6, 111.4, 111.0, 110.1, 109.8, 108.9, 108.1, 97.3, 91.3, 90.9, 88.6, 88.3, 67.0, 65.9, 57.5, 55.2, 50.8, 49.7, 45.8, 45.1, 40.5, 39.3, 34.3, 31.6, 30.4 (m), 29.9, 29.5, 27.2, 26.9, 26.0, 23.2, 22.5, 20.5, 15.4, 14.2, 12.6, 12.4. **MALDI-TOF:** *m/z* = 2163.153 (*M*)⁺, calcd for C₁₃₉H₁₅₉N₈O₁₀PS (*M*)⁺: 2163.163.

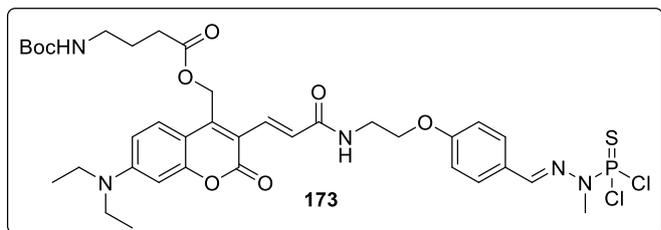
III.4. Chapter IV: compounds and procedures

(E)-(7-(diethylamino)-3-(3-((2-(4-formylphenoxy)ethyl)amino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-coumarin-4-yl)methyl 4-((tert-butoxycarbonyl)amino)butanoate ((CHO)DEAC450-[GABABoc]):

Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **167** (100 mg, 0.215 mmol, 1 eq.) and Boc-GABA (48.1 mg, 0.237 mmol, 1.1 eq.). The product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient

eluent: CH₂Cl₂:acetone, 94:6 to 75:25), to give **(CHO)DEAC450-[GABABoc]** as a bright yellow powder (84 mg, 60%).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 9.83 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 15.2, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.50 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.77 (s, 1H), 6.61 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 6.42 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.36 (s, 2H), 5.01 (s, 1H), 4.18 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.84 (dt, *J* = 5.0 Hz, 5.1 Hz, 2H), 3.39 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H), 3.12 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.39 – 2.33 (m, 2H), 1.79 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 190.9, 176.3, 172.7, 167.1, 163.6, 160.5, 155.7, 151.4, 147.0, 132.4, 132.1, 130.2, 126.8, 125.0, 114.9, 109.8, 108.0, 97.2, 67.1, 59.4, 57.8, 45.0, 39.9, 31.3, 28.5, 25.4, 22.4, 12.5. **HRMS (ESI):** *m/z* = 672.2994, calcd for C₃₆H₄₅N₂O₉Na (M+Na)⁺: 672.3017.

(3-((E)-3-((2-(4-((E)-2-(dichlorophosphorothioyl)-2-methylhydrazono)methyl)phenoxy)ethyl)amino)-3-oxoprop-1-en-1-yl)-7-(diethylamino)-coumarin-4-yl)methyl 4-((tert-butoxycarbonyl)amino)butanoate (173):

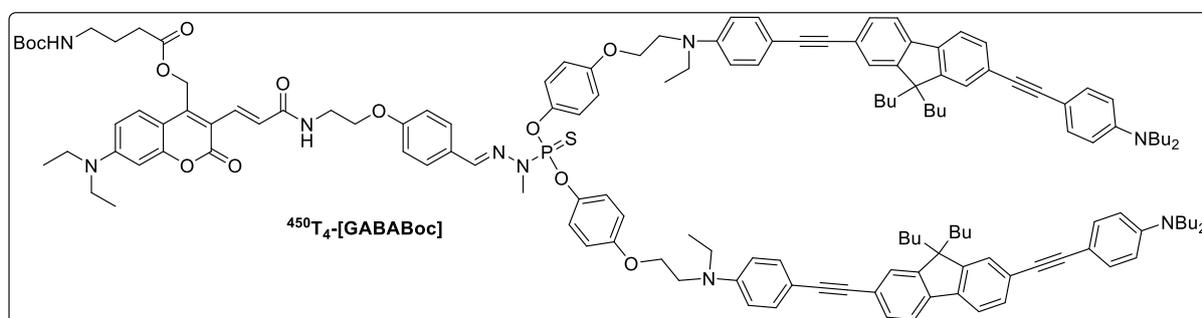
To a stirred solution of **(CHO)DEAC450-[GABABoc]** (83 mg, 128 μmol, 1 eq.) in dry THF (1.5 mL) under argon atmosphere was added dropwise a solution of **MMH-PSCl₂** in

CHCl₃ (0.24M, 0.60 mL, 141 μmol, 1.1 eq.). The resulting mixture was stirred at r.t. overnight, then it was concentrated to near-dryness and Et₂O was added to induce precipitation. The resulting precipitate was decanted, washed with Et₂O and pentane, and dried under high

vacuum. The resulting powder was used without further purification in next step (103 mg, **quant.**).

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.76 (d, $J = 15.1$ Hz, 1H), 7.74 – 7.67 (m, 3H), 7.27 (d, $J = 15.1$, 1H), 6.98 – 6.83 (m, 3H), 6.76 (m, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.46 (s, 2H), 4.17 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.86 (dt, $J = 5.8, 5.2$ Hz, 2H), 3.51 (d, $J_{P-H} = 14.4$ Hz, 3H), 3.49 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 3.12 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.39 – 2.33 (m, 2H), 1.79 (p, $J = 6.9$ Hz, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{31}P NMR (CDCl₃, 121 MHz), δ (ppm):** 63.4. **HRMS (ESI):** $m/z = 832.2072$, calcd for C₃₆H₄₆N₅O₈NaPSCl₂ (M+Na)⁺: 832.2074.

Triad $^{450}\text{T}_4$ -[GABABoc]:

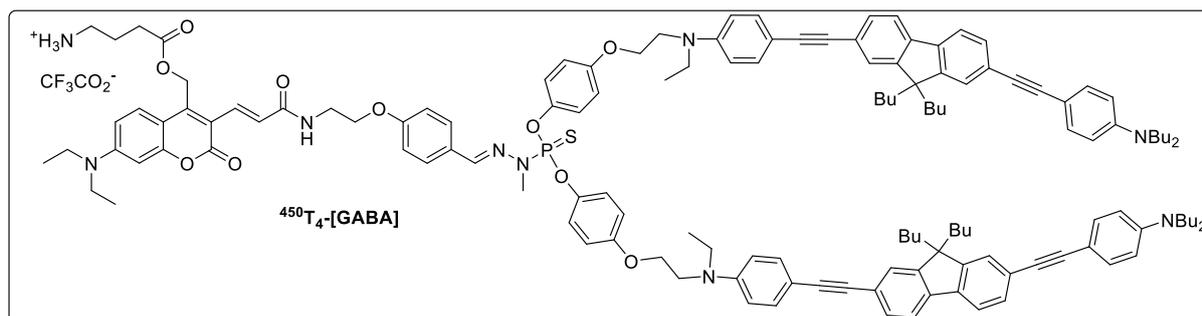


To a stirred solution of **173** (43.0 mg, 53.0 μmol , 1 eq.) in dry THF (3.0 mL) under argon atmosphere were added **(HQ)A₄** (83.3 mg, 106.0 μmol , 2 eq.) and ground Cs₂CO₃ (138.2 mg, 424.3 μmol , 8 eq.). The resulting mixture was heated to 35 °C overnight. Upon completion of the reaction, the mixture was filtered over Celite® and the filtrate was evaporated. The resulting crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:AcOEt, 9:1 to 6:4) to give $^{450}\text{T}_4$ -[GABABoc] as a dark yellow powder (51 mg, **42%**).

^1H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.80 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.62 – 7.58 (m, 4H), 7.54 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.48 – 7.44 (m, 9H), 7.42 – 7.38 (m, 9H), 7.14 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H), 6.95 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.80 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H), 6.67 (d, $J = 8.7$ Hz, 4H), 6.63 (dd, $J = 9.3, 2.6$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H), 6.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.30 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.16 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.11 – 4.04 (m, 4H), 3.83 (q, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.77 – 3.69 (m, 4H), 3.48 (q, $J = 7.0$, 4H), 3.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 3.33 – 3.25 (m, 11H), 3.18 – 3.12 (m, 2H), 2.39 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.81 (p, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.00 – 1.94 (m, 8H), 1.63 – 1.54 (m, 8H), 1.40 – 1.17 (m, 21H), 1.08 (h, $J = 7.3$ Hz, 8H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 12H), 0.67 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H), 0.63 – 0.56 (m, 8H). **^{31}P NMR (CDCl₃, 243 MHz), δ (ppm):** 64.7 (s). **^{13}C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 172.6, 169.5, 169.0, 167.7, 166.8, 160.4, 159.6, 156.1,

156.0, 155.7, 151.3, 150.9, 148.0, 147.4, 146.8, 144.5, 144.4, 140.2, 140.0, 139.3, 133.0, 132.4, 130.9, 130.4, 130.3, 128.8, 128.5, 126.7, 125.6, 125.5, 122.8, 122.5, 119.7, 115.0, 114.7, 111.4, 111.2, 110.9, 109.9, 109.7, 108.8, 108.0, 97.3, 91.2, 90.8, 88.5, 88.2, 66.2, 65.7, 64.7, 55.1, 50.7, 49.6, 46.5, 45.7, 44.9, 40.3, 38.7, 33.0, 31.9, 30.6, 29.7, 29.4, 28.4, 25.9, 23.1, 20.3, 19.1, 14.0, 13.9, 12.5, 12.3. **MALDI-TOF:** *in progress*.

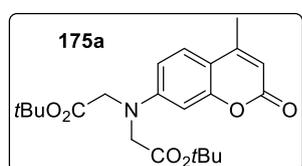
Triad $^{450}\text{T}_4$ -[GABA]:



To stirred solution of $^{450}\text{T}_4$ -[GABABoc] (30.0 mg, 13.0 μmol , 1 eq.) in dry CH_2Cl_2 (1.5 mL) under argon atmosphere was added trifluoroacetic acid (0.5 mL). The resulting mixture was stirred at r.t. for 1 h, then it was evaporated, then dissolved and co-evaporated in toluene. The resulting crude was precipitated with Et_2O , and the mixture was centrifuged. The powder was washed with ether and centrifuged three times, to give the final triad $^{450}\text{T}_4$ -[GABA] as a brown powder (25 mg, 90%).

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 7.70 – 7.64 (m, 3H), 7.62 – 7.58 (m, 4H), 7.52 – 7.43 (m, 19H), 7.15 – 6.98 (m, 6H), 6.80 – 6.70 (m, 8H), 6.63 (dd, $J = 9.3, 2.6$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 6.8$ Hz, 4H), 6.49 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.30 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 5.45 (s, 2H), 4.16 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.11 – 4.04 (m, 4H), 3.83 (q, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.77 – 3.69 (m, 4H), 3.48 (q, $J = 7.0$, 4H), 3.42 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 3.33 – 3.25 (m, 11H), 3.18 – 3.12 (m, 2H), 2.39 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.81 (p, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.00 – 1.94 (m, 8H), 1.63 – 1.54 (m, 8H), 1.40 – 1.17 (m, 12H), 1.08 (h, $J = 7.3$ Hz, 8H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 12H), 0.67 (t, $J = 7.3$ Hz, 12H), 0.63 – 0.56 (m, 8H). ^{31}P NMR (CDCl_3 , 243 MHz), δ (ppm): 64.8 (s, P_{11}). **MALDI-TOF:** *in progress*.

di-tert-butyl 2,2'-((4-methyl-coumarin-7-yl)azanediyl)diacetate (175a):

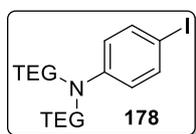


A mixture of 7-amino-4-methylcoumarin (500 mg, 2.85 mmol, 1 eq.), tert-butyl bromoacetate (4.2 mL, 28.5 mmol, 10 eq.), *N,N*-Diisopropylethylamine (2.0 mL, 11.4 mmol, 4 eq.), and sodium iodide (856 mg, 5.71 mmol, 2 eq.) in acetonitrile (28 mL) was

refluxed under argon atmosphere for 3 days. Upon cooling down to room temperature, the mixture was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in AcOEt (30 mL) and washed with brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and filtered and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: Petroleum Ether:AcOEt:CH₂Cl₂, 85:10:5 to 65:25:10) to give **175a** as an off-white powder (323 mg, **28%**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.42 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.52 (dd, *J* = 8.8, 2.7 Hz, 1H), 6.44 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 6.02 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 4.05 (s, 4H), 2.34 (d, *J* = 1.1 Hz, 3H), 1.47 (s, 18H).

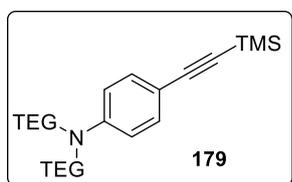
4-iodo-*N,N*-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)aniline (**178**):



In a 250 mL round bottom flask, 4-iodoaniline (9.0 g, 41.1 mmol, 1 eq.), 1-Bromo-2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethane (18.7 mL, 107 mmol, 2.6 eq.) and K₂CO₃ (14.8 g, 107 mmol, 2.6 eq.) were suspended in DMF (50 mL). The reaction mixture was stirred at 100 °C for 2 days. Upon cooling down to room temperature, the solution was filtered over Celite® and the solvent was removed under high vacuum. The residue was then dissolved in DCM and washed 3 times with brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silica (gradient eluent: AcOEt:petroleum ether, 1:9 to 10:0) to give **178** as an orange oil (14.9 g, **71%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.31 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.64 – 3.45 (m, 18H), 3.43 – 3.41 (m, 6H), 3.25 (s, 6H).

N,N-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-4-((trimethylsilyl)ethynyl)aniline (**179**):

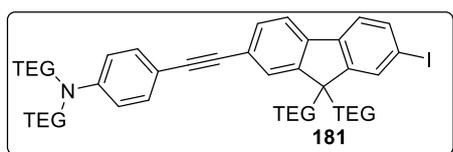


A mixture of **178** (8.14 g, 15.9 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (2.7 mL, 19.2 mmol, 1.2 eq.) in THF/Et₃N (100 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (134 mg, 0.191 mmol, 1.2 mol%) and CuI (39 mg, 0.191 mmol, 1.2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂:AcOEt,

8:2) to give **179** as an orange oil (4.33 g, **57%**). Analytical data were in accordance with literature.^[288]

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.39 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 3.70 – 3.62 (m, 18H), 3.57 – 3.52 (m, 6H), 3.37 (s, 6H), 0.21 (s, 9H).

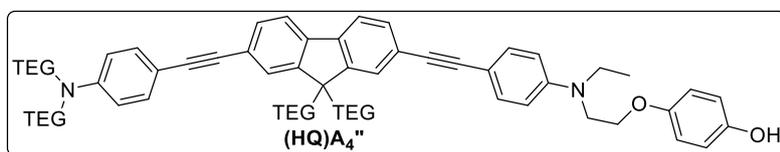
4-((7-iodo-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)-*N,N*-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)aniline (181):



A mixture of **179** (543 mg, 1.13 mmol, 1 eq.), and 2,7-diiodo-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluorene **180** (2.40 g, 3.39 mmol, 3 eq.) in THF/Et₃N (10 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (15.8 mg, 22.5 μmol, 2 mol%) and CuI (4.3 mg, 22.5 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 1.70 mL, 1.70 mmol, 1.5 eq.) was finally added and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:MeCN, 8:2 to 5:5) to give **181** as a dark orange solid (551 mg, **49%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.74 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.47 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.43 – 7.35 (m, 3H), 6.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.67 – 3.60 (m, 22H), 3.58 – 3.45 (m, 12H), 3.43 – 3.36 (m, 12H), 3.34 (s, 6H), 3.25 – 3.17 (m, 4H), 2.82 – 2.71 (m, 4H).

4-(2-((4-((7-((4-(bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)amino)phenyl)ethynyl)-9,9-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethoxy)phenol ((HQ)A₄'')):



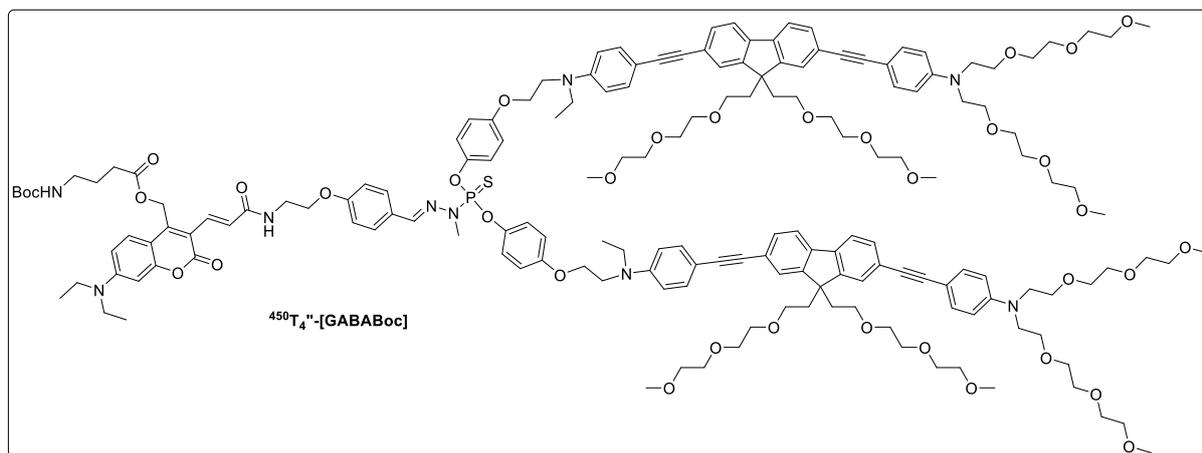
A mixture of **181** (356 mg, 0.359 mmol, 1 eq.), and **105** (140 mg, 0.395 mmol, 1 eq.) in

THF/Et₃N (4 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (5.0 mg, 7.2 μmol, 2 mol%) and CuI (1.4 mg, 7.2 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 0.43 mL, 0.43 mmol, 1.2 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room

temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: toluene:acetone, 75:25) to give **(HQ)A4''** as a brown oil (354 mg, **86%**).

¹H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz) δ (ppm): 7.65 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 1.8 Hz, 2H), 7.48 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 2H), 7.40 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.38 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.78 – 6.75 (m, 4H), 6.71 (d, *J* = 9.1 Hz, 4H), 4.08 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.72 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.68 – 3.55 (m, 24H), 3.53 – 3.38 (m, 12H), 3.36 – 3.31 (m, 12H), 3.28 (s, 6H), 3.20 – 3.15 (m, 4H), 2.84 – 2.73 (m, 4H), 1.21 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H). **¹³C NMR (CD₂Cl₂, 75 MHz) δ (ppm):** 153.3, 150.6, 150.0, 148.5, 148.3, 140.0, 133.4, 133.3, 132.6, 131.0, 126.5, 123.6, 120.4, 116.5, 116.1, 112.1, 112.0, 110.1, 110.0, 91.8, 88.5, 72.5, 72.4, 71.3, 71.1, 71.0, 70.9, 70.8, 70.5, 68.9, 67.4, 66.7, 59.2, 59.1, 51.8, 51.4, 50.2, 46.1, 40.2, 12.5.

Triad ⁴⁵⁰T₄''-[GABABoc]:

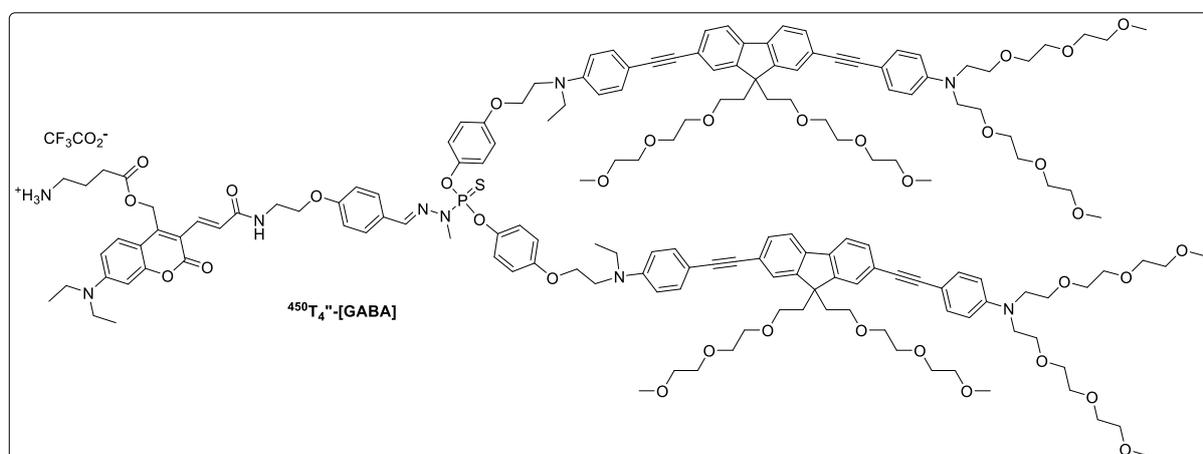


To a stirred solution of **173** (41.0 mg, 50.6 μmol, 1 eq.) in dry THF (5.0 mL) under argon atmosphere were added **(HQ)A4''** (116 mg, 101.1 μmol, 2 eq.) and ground Cs₂CO₃ (131.8 mg, 404.6 μmol, 8 eq.). The resulting mixture was heated to 35 °C overnight. The mixture was then filtered over Celite® and the filtrate was evaporated. The resulting crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:MeCN, 5:5 to 0:1, then acetone 100%) to give the final ⁴⁵⁰T₄''-[GABABoc] as a dark yellow powder (44 mg, **29%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.80 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.61 – 7.57 (m, 5H), 7.55 – 7.51 (m, 4H), 7.47 (d, *J* = 7.8 Hz, 8H), 7.42 – 7.36 (m, 9H), 7.13 (d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 6.95 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.80 (d, *J* = 9.1 Hz, 4H), 6.70 – 6.64 (m, 8H), 6.63 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 6.35 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.11 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.13 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 4.07 (t, *J* = 6.0 Hz, 4H), 3.81 (q, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.78 – 3.70 (m, 4H), 3.67 – 3.58 (m, 48H), 3.56 – 3.52 (m, 8H), 3.52 – 3.49 (m, 8H), 3.46 (dd,

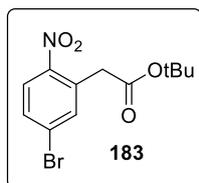
$J = 5.7, 3.2$ Hz, 4H), 3.41 – 3.36 (m, 24H), 3.31 – 3.28 (m, 15H), 3.22 – 3.18 (m, 8H), 3.16 – 3.11 (m, 2H), 2.77 (t, $J = 7.5$ Hz, 8H), 2.39 (t, $J = 6.7$ Hz, 8H), 2.03 (q, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.82 – 1.79 (m, 2H), 1.24 (s, 9H), 1.23 – 1.17 (m, 12H). ^{31}P NMR (CDCl_3 , 243 MHz), δ (ppm): 64.7. ^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 151 MHz), δ (ppm): 173.1, 167.0, 160.7, 160.4, 156.7, 156.3, 151.9, 150.1, 148.5, 148.2, 144.9, 140.3, 140.0, 135.7, 133.4, 133.3, 132.8, 131.1, 129.0, 128.7, 127.3, 126.5, 125.6, 123.6, 123.0, 120.5, 115.6, 115.3, 112.1, 112.0, 110.1, 97.6, 91.8, 88.5, 72.5, 72.4, 71.3, 71.1, 71.0, 70.9, 70.8, 70.5, 68.9, 67.4, 66.5, 59.2, 59.1, 51.8, 51.4, 50.1, 46.2, 45.4, 40.2, 30.3, 28.7, 12.8, 12.5. MALDI-TOF: *in progress*.

Triad $^{450}\text{T}_4^{\text{Boc}}$ -[GABA]:

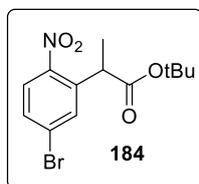


To stirred solution of $^{450}\text{T}_4^{\text{Boc}}$ -[GABABoc] (19.2 mg, 6.33 μmol , 1 eq.) in dry CH_2Cl_2 (1.0 mL) under argon atmosphere was added trifluoroacetic acid (0.25 mL). The resulting mixture was stirred at r.t. for 1 h, then it was evaporated, then dissolved and co-evaporated in toluene. The resulting crude was precipitated with Et_2O , and the mixture was centrifuged. The powder was washed with ether and centrifuged three times, to give the final triad $^{450}\text{T}_4^{\text{Boc}}$ -[GABA] as a brown powder (17 mg, 91%).

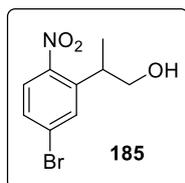
^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz), δ (ppm): 7.94 – 7.85 (m, 3H), 7.61 – 7.57 (m, 5H), 7.55 – 7.36 (m, 21H), 7.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 4H), 6.95 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.80 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H), 6.76 – 6.60 (m, 9H), 6.48 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.13 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 4.07 (t, $J = 6.0$ Hz, 4H), 3.81 (q, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.78 – 3.70 (m, 4H), 3.67 – 3.45 (m, 64H), 3.46 (dd, $J = 5.7, 3.2$ Hz, 4H), 3.41 – 3.36 (m, 24H), 3.31 – 3.04 (m, 25H), 2.77 (t, $J = 7.5$ Hz, 8H), 2.39 (t, $J = 6.7$ Hz, 8H), 2.03 (q, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.82 – 1.79 (m, 2H), 1.23 – 1.17 (m, 12H). ^{31}P NMR (CDCl_3 , 243 MHz), δ (ppm): 64.3. MALDI-TOF: *in progress*.

***tert*-butyl 2-(5-bromo-2-nitrophenyl)acetate (183)**

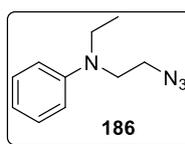
To a mixture of *t*BuOK (20.98 g, 0.187 mol, 6.3 eq.) in dry DMF (50 mL) under argon atmosphere was added slowly a mixture of 1-bromo-4-nitrobenzene (6.0 g, 29.7 mmol, 1 eq.) and *tert*-butylchloroacetate (7.15 mL, 47.5 mmol, 1.6 eq.) in dry DMF (50 mL). The resulting deep blue mixture was stirred at room temperature and under argon for 2 h, then it was cooled down to 0 °C and 1M HCl (50mL) was added dropwise. The mixture was extracted with AcOEt and the combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (eluent: petroleum ether:AcOEt, 9:1) to give **183** as a pale yellow oil which crystallized upon standing (8.86 g, **94%**). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.97 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.57 (dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 3.90 (s, 2H), 1.43 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 168.6, 147.8, 136.3, 132.5, 131.6, 128.3, 126.8, 82.3, 40.9, 28.0. FTIR ν (cm⁻¹): 3063.3, 2980.7, 2929.0, 1709.8, 1596.1, 1523.8, 1344.7, 1227.6, 1148.4, 845.3. **Melting point:** 85 °C.

***tert*-butyl 2-(5-bromo-2-nitrophenyl)propanoate (184)**

In an oven dried Schlenk tube under argon atmosphere, NaH (481 mg, 60% weight in mineral oil, 12.0 mmol, 1 eq.) was suspended in dry THF (40 mL) and **183** (3.80 g, 12.0 mmol, 1 eq.) was added. The mixture was then cooled down to 0 °C and MeI (1.45 mL, 23.4 mmol, 1.95 eq.) was added dropwise under vigorous stirring. After 30 min, the cooling bath was removed and the mixture was stirred overnight under argon at room temperature. The reaction was then quenched by addition of water and the mixture was extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent, petroleum ether:CH₂Cl₂, 9:1 to 7:3) to give **184** as a pale yellow solid (2.45 g, **62%**). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.54 (dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz, 1H), 4.21 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H), 1.57 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.40 (s, 9H). ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz), δ (ppm): 171.8, 148.0, 137.8, 132.9, 131.1, 128.1, 126.4, 82.0, 42.4, 27.9, 17.5. FTIR ν (cm⁻¹): 3056.0, 2977.2, 1716.7, 1561.7, 1513.5, 1337.8, 1241.4, 1155.3, 828.1. **Melting point:** 89 °C.

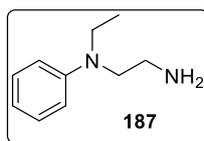
2-(5-bromo-2-nitrophenyl)propan-1-ol (185)

In an oven dried Schlenk tube under argon atmosphere, DIBAL-H (6.58 mL, 7.90 mmol, 3 eq.) was added slowly to a stirred solution of **184** (870 mg, 2.63 mmol, 1 eq.) in dry THF (50 mL) at 0 °C. The mixture was stirred for 1 h at 0 °C, then 1M HCl (20 mL) was added slowly and the mixture was extracted with AcOEt. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: petroleum ether:AcOEt, 8:2) to give **185** as a red oil (524 mg, 77%). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.66 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz, 1H), 3.91 – 3.70 (m, 2H), 3.64 – 3.45 (m, 1H), 1.63 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 1.32 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz), δ (ppm): 149.5, 140.7, 131.7, 130.5, 127.6, 125.9, 67.6, 36.5, 17.5. FTIR ν (cm⁻¹): 3345.7, 2973.8, 2867.0, 1561.7, 1520.4, 1348.2, 1021.0, 852.2.

***N*-(2-azidoethyl)-*N*-ethylaniline (186):**

Compound mk61 was synthesized according to a procedure described in literature,^[271] and obtained as a colorless oil (11.4 g, **quant.**). Analytical data were in accordance with literature.

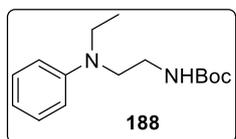
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.24 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.77 – 6.67 (m, 2H), 3.56 – 3.36 (m, 4H), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H).

***N*¹-ethyl-*N*¹-phenylethane-1,2-diamine (187):**

To a stirred solution of the azide **186** (9.0 g, 47.3 mmol, 1 eq.) in dry THF (120 mL) under argon atmosphere was added triphenylphosphine (13.0 g, 49.7 mmol, 1.05 eq.). The mixture was stirred at r.t. with an exit needle until all bubbling has stopped, then H₂O (27 mL) was added, and stirring was maintained overnight. The pH was then adjusted to 14 by addition of KOH pellets, and, after 2 h of additional stirring, the mixture was concentrated under vacuum. The residue was dissolved in water and acidified with conc. HCl, then extracted with CH₂Cl₂ to remove any neutral species. The remaining aqueous layer was then re-basified with KOH and extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give **187** as a pale yellow oil (7.1 g, **91%**).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm): 7.18 – 7.05 (m, 2H), 6.65 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.52 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 3.34 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.22 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.66 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.41 (s, *br*, 2H), 1.05 (t, J = 7.0 Hz, 3H).

***tert*-butyl (2-(ethyl(phenyl)amino)ethyl)carbamate (188):**

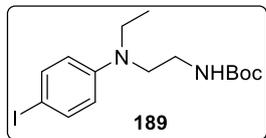


Neat **187** (2.13 g, 13.0 mmol, 1 eq.) was placed into an open flask in an ultrasonic bath. Di-*tert*-butyl dicarbonate (2.83 g, 13.0 mmol, 1 eq.) was added portionwise to the flask, and sonication was maintained for 4 min.

The mixture was dried under vacuum to eliminate residual *t*-BuOH, and afford **188** as a pale yellow oil (3.4 g, **quant.**).

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.22 (dd, J = 8.9, 7.2 Hz, 2H), 6.73 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.68 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 4.73 (s, *br*, 1H), 3.47 – 3.26 (m, 6H), 1.46 (s, 9H), 1.15 (t, J = 7.0 Hz, 3H). **^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 156.2, 148.0, 129.5, 116.3, 112.4, 79.5, 49.9, 45.4, 38.6, 28.5, 12.2.

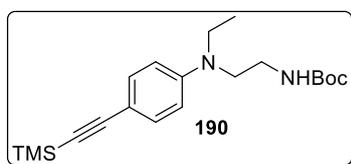
***tert*-butyl (2-(ethyl(4-iodophenyl)amino)ethyl)carbamate (189):**



To a stirred solution of **188** (3.4 g, 13.0 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ (13 mL) was added NaHCO₃ (1.74 g, 20.8 mmol, 1.6 eq.) in H₂O (50 mL). The mixture was cooled down to 0 °C, and a solution of I₂ (3.62 g, 14.3 mmol, 1.1 eq.) in CH₂Cl₂ (300 mL) was added dropwise over 2 h. The mixture was allowed to warm up to room temperature overnight, then the reaction was quenched with a saturated Na₂S₂O₃ solution, and extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give a crude brown oil which was pure enough to be used without further purification (4.87 g, **96%**).

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.43 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 6.50 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.68 (s, *br*, 1H), 3.42 – 3.17 (m, 6H), 1.45 (s, 9H), 1.13 (t, J = 7.0 Hz, 3H).

***tert*-butyl (2-(ethyl(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)amino)ethyl)carbamate (190)**

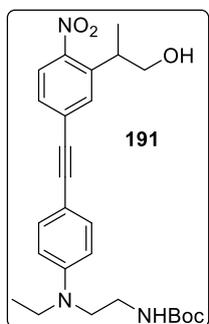


A mixture of **189** (2.0 g, 5.12 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (1.1 mL, 7.69 mmol, 1.5 eq.) in THF/Et₃N (50 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (72 mg, 0.102 mmol, 2 mol%) and CuI (19.5 mg, 0.102 mmol, 2

mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (eluent: pentane:CH₂Cl₂, 2:8) to give **190** as an orange oil (1.63 g, **88%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.31 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.59 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 4.68 (s, 1H), 3.47 – 3.23 (m, 8H), 1.45 (s, 11H), 1.14 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 0.22 (s, 11H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 156.1, 147.9, 133.5, 111.5, 109.9, 106.6, 91.3, 79.6, 49.8, 45.3, 38.5, 28.5, 12.2, 0.4. **HRMS (FD):** *m/z* = 360.22291, calcd for C₂₀H₃₂N₂O₂Si (M)⁺: 360.22330.

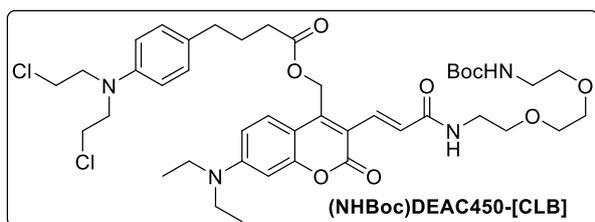
***tert*-butyl(2-(ethyl(4-((3-(1-hydroxypropan-2-yl)-4-nitrophenyl)ethynyl)phenyl)amino)ethyl)carbamate (**191**)**



A mixture of **189** (415 mg, 1.15 mmol, 1 eq.), and **185** (300 mg, 1.15 mmol, 1 eq.) in THF/Et₃N (10 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (17 mg, 23.0 μmol, 2 mol%) and CuI (5 mg, 23.0 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 1.6 mL, 1.6 mmol, 1.5 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column

chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂:acetone, 9:1) to give **191** as a red powder (340 mg, **64%**). **¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm):** 7.76 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.57 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.69 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.81 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.60 (dd, *J* = 13.5, 6.7 Hz, 1H), 3.44 – 3.39 (m, 4H), 3.35 – 3.28 (m, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.36 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.19 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H).

(*E*)-(7-(diethylamino)-3-(2,2-dimethyl-4,15-dioxo-3,8,11-trioxa-5,14-diazaheptadec-16-en-17-yl)-coumarin-4-yl)methyl 4-(4-(bis(2-chloroethyl)amino)phenyl)butanoate ((NHBoc)DEAC450-[CLB]):

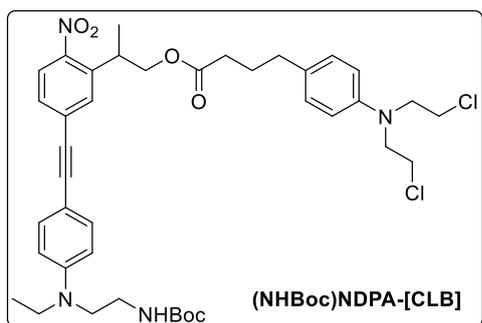


Following the general procedure for esterification (Proc. D) with **162** (81.0 mg, 0.148 mmol, 1 eq.) and chlorambucil (47.2 mg, 0.155 mmol, 1.05 eq.). The mixture was directly loaded onto a column

chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 1:0 to 7:3), to give (NHBoc)DEAC450-[CLB] as an orange powder (146 mg, 68%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 15.1 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.59 (dd, *J* = 9.1, 2.5 Hz, 2H), 6.56 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.44 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 5.38 (s, 2H), 5.12 (s, *br*, 1H), 3.71 – 3.51 (m, 20H), 3.40 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.35 – 3.26 (m, 2H), 2.49 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.32 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.86 (p, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 172.9, 166.6, 160.3, 156.1, 155.6, 151.2, 146.7, 144.3, 131.5, 130.3, 129.7, 126.7, 125.6, 114.9, 112.1, 109.6, 108.0, 97.1, 79.2, 70.3, 70.2, 70.2, 69.9, 57.3, 53.6, 44.9, 40.6, 40.3, 39.5, 33.8, 33.3, 28.4, 26.5, 12.5. HRMS (FD): *m/z* = 832.35714, calcd for C₄₂H₅₈Cl₂N₄O₉ (M)⁺: 832.35808.

2-(5-(((4-((2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)(ethyl)amino)phenyl)ethynyl)-2-nitrophenyl)propyl 4-(4-(bis(2-chloroethyl)amino)phenyl)butanoate ((NHBoc)NDPA-[CLB])

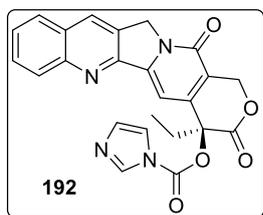


Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **191** (100 mg, 0.214 mmol, 1 eq.) and chlorambucil (85 mg, 0.28 mmol, 1.3 eq.). The mixture was directly loaded onto a short column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 100:0 to 95:5) to give (NHBoc)NDPA-[CLB] as an orange powder (101 mg,

63%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.46 – 7.39 (m, 3H), 7.03 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.71 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.61 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 4.25 (ddd, *J* = 18.4, 10.9, 6.9 Hz, 2H), 3.81 (dd, *J* = 13.8, 6.9 Hz, 1H), 3.70 – 3.60 (m, 8H), 3.47 – 3.40 (m, 3H), 3.36 – 3.28 (m, 2H), 2.50 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.28 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.85 (p, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.39 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.20 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H).

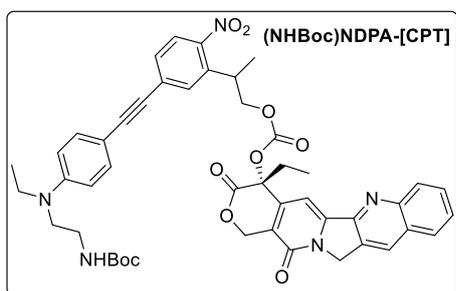
(S)-4-ethyl-3,14-dioxo-3,4,12,14-tetrahydro-1H-pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl 1H-imidazole-1-carboxylate (192):



Di(1H-imidazol-1-yl)methanone (466 mg, 2.87 mmol, 5 eq.) and DMAP (22 mg, 0.172 mmol, 0.3 eq.) were added to a solution of camptothecin (200 mg, 0.574 mmol, 1 eq.) in dry CH₂Cl₂ under an atmosphere of argon. The reaction mixture was stirred for 4 h at room temperature. CH₂Cl₂ was added to the mixture and the organic layer was washed with a 0.1 M solution of HCl in water. The organic layer was dried with Na₂SO₄, filtered over Celite® and the solvent was removed under reduced pressure to give a pale yellowish powder. The crude was pure enough to be used without further purification (252 mg, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.38 (s, 1H), 8.21 – 8.18 (m, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.80 (ddd, *J* = 8.5, 6.9, 1.4 Hz, 1H), 7.64 (ddd, *J* = 8.1, 5.7, 1.1 Hz, 1H), 7.45 – 7.42 (m, 1H), 7.24 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.03 (s, 1H), 5.74 (d, *J* = 17.4 Hz, 2H), 5.43 (d, *J* = 17.4 Hz, 2H), 2.41 (dq, *J* = 14.9, 7.5 Hz, 2H), 2.27 (dq, *J* = 14.9, 7.5 Hz, 2H), 1.07 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 166.3, 157.2, 154.3, 152.0, 150.1, 149.5, 148.8, 147.2, 146.9, 144.5, 138.7, 137.2, 135.2, 131.3, 131.2, 130.8, 129.9, 129.5, 128.8, 128.7, 128.4, 128.2, 120.2, 117.3, 106.6, 95.3, 79.0, 67.3, 53.5, 50.1, 39.0, 31.9, 11.3, 7.7.

tert-butyl (2-(ethyl(4-((3-(1-(((S)-4-ethyl-3,14-dioxo-3,4,12,14-tetrahydro-1H-pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)oxy)carbonyl)oxy)propan-2-yl)-4-nitrophenyl)ethynyl)phenyl)amino)ethyl)carbamate ((NHBoc)NDPA-[CPT]):

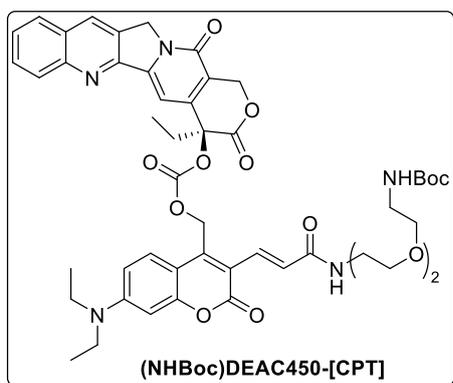


To a stirred solution of **191** (106 mg, 0.226 mmol, 1 eq.) in CH₂Cl₂ under argon atmosphere were added **192** (100 mg, 0.226 mmol, 1 eq.) and DMAP (cat.). The mixture was stirred in the dark for 24 h at room temperature. CH₂Cl₂ was added to the reaction mixture and the organic layer was washed with a 0.1 M solution of HCl in water. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered over Celite® and evaporated under reduced pressure to give (NHBoc)NDPA-[CPT] as an orange/red powder (136 mg, **71%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.37 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 11.2, 4.1 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.65 – 7.60 (m, 1H), 7.38 – 7.28 (m, 2H), 7.25 (d, *J* = 4.4 Hz, 2H), 6.65 (dd, *J* = 8.6, 3.2 Hz, 2H), 5.72 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H),

5.41 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 5.27 (s, 2H), 5.25 (s, 2H), 3.80 – 3.75 (m, 2H), 3.56 (dd, $J = 13.1$, 6.4 Hz, 1H), 3.38 (dd, $J = 13.3$, 6.2 Hz, 4H), 3.28 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 2.41 (dt, $J = 14.8$, 6.9 Hz, 2H), 2.26 (dt, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.32 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.15 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.08 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm): 166.3, 157.2, 156.1, 151.9, 148.7, 148.7, 148.2, 146.9, 144.6, 138.9, 138.9, 133.9, 133.4, 133.3, 132.1, 132.0, 131.4, 130.8, 129.5, 129.4, 129.3, 129.3, 128.6, 128.4, 128.2, 128.2, 124.5, 120.1, 111.5, 108.3, 95.4, 95.3, 86.3, 86.3, 79.5, 79.1, 67.5, 67.2, 53.5, 50.1, 49.6, 45.2, 38.3, 36.4, 31.9, 29.7, 28.4, 17.5, 12.1, 7.8.

tert-butyl (S,E)-2-(2-(2-(3-(7-(diethylamino)-4-((((4-ethyl-3,14-dioxo-3,4, 12,14-tetrahydro-1H-pyrano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolin-4-yl)oxy)carbonyl)oxy) methyl)-coumarin-3-yl)acrylamido)ethoxy)ethoxy)ethyl)carbamate ((NHBoc)DEAC450-[CPT]):



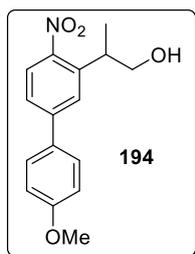
To a stirred solution of **162** (124 mg, 0.226 mmol, 1 eq.) in CH_2Cl_2 under argon atmosphere were added **192** (100 mg, 0.226 mmol, 1 eq.) and DMAP (cat.). The mixture was stirred 24 h in the dark at room temperature. CH_2Cl_2 was added to the mixture and the organic layer was washed with a 0.1 M solution of HCl and water. The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered over Celite® and evaporated under reduced pressure to give

(NHBoc)DEAC450-[CPT] as an orange powder (208 mg, **quant.**).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.35 (s, 1H), 8.11 (s, $J = 21.9$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.80 – 7.70 (m, 2H), 7.59 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 18.7$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 6.43 (s, 1H), 5.70 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 5.39 (d, $J = 17.3$ Hz, 1H), 5.24 (s, 2H), 4.85 (s, 2H), 3.58 – 3.54 (m, 6H), 3.50 (q, $J = 9.7$, 4.6 Hz, 4H), 3.30 (dd, $J = 15.0$, 7.5 Hz, 6H), 2.47 – 2.16 (m, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.13 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H), 1.05 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H).

2-(4'-methoxy-4-nitro-[1,1'-biphenyl]-3-yl)propan-1-ol (194):

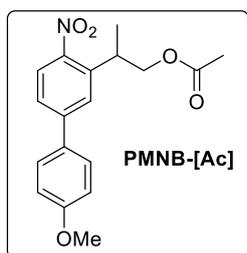
In a Schlenk tube were introduced under argon atmosphere **185** (366 mg, 1.4 mmol, 1 eq.) and $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (164 mg, 0.14 mmol, 10 mol%). After purging and refilling with argon 3 times, toluene (6 mL) and a saturated aqueous solution of Na_2CO_3 (6 mL) were then added and the mixture was heated to 110 °C. A degassed solution of 2-(4-methoxyphenyl)-4,4,5,5-



tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (244 mg, 1.6 mmol, 1.1 eq.) was then added dropwise, and the resulting bright yellow mixture was heated to 110 °C for 6 h. Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with brine (10 mL), and extracted with AcOEt (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with water, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: Petroleum ether:CH₂Cl₂, 1:9 to 0:10) to give **194** as a yellow powder (281 mg, 70%).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.57 – 7.51 (m, 2H), 7.49 (dd, *J* = 8.5, 1.9 Hz, 1H), 7.04 – 6.97 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.83 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.71 – 3.58 (m, 1H), 1.89 (s, 1H), 1.37 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 160.3, 148.9, 145.6, 139.1, 131.5, 128.6, 126.3, 125.3, 125.2, 114.6, 68.0, 55.5, 36.5, 17.7. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3497.3, 2925.6, 2877.4, 1596.1, 1575.5, 1499.7, 1327.5, 1241.4, 1021.0, 824.7. **Melting point:** 101 °C.

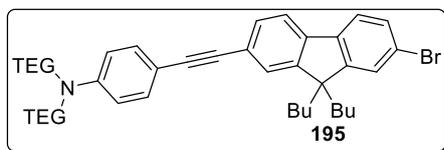
2-(4'-methoxy-4-nitro-[1,1'-biphenyl]-3-yl)propyl acetate (PMNB-[Ac]):



To a stirred solution of **194** (281.4 mg, 0.696 mmol, 1 eq.) in pyridine (1.2 mL) was added dropwise acetic anhydride (1.2 mL). The resulting mixture was stirred in the dark at r.t. for 4 h, then it was concentrated under reduced pressure. The residue was co-evaporated with toluene (2 x 10 mL) and methanol (2 x 10 mL), then it was dissolved in CHCl₃ and washed with a saturated NaHCO₃ solution (2 x 15 mL). The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: Petroleum ether:AcOEt, 9:1) to give **PMNB-[Ac]** as a yellow oil (100 mg, 31%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.57 – 7.51 (m, 2H), 7.51 (dd, *J* = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 7.05 – 6.96 (m, 2H), 4.33 – 4.19 (m, 2H), 3.92 – 3.78 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.40 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 171.0, 160.3, 145.5, 138.2, 131.4, 128.5, 126.1, 125.5, 125.2, 114.6, 77.4, 68.4, 55.5, 33.2, 29.8, 20.9, 17.9. **FTIR ν (cm⁻¹):** 2956.6, 2929.0, 2839.5, 1730.5, 1599.6, 1510.0, 1351.6, 1248.3, 1224.2, 1031.3, 828.1.

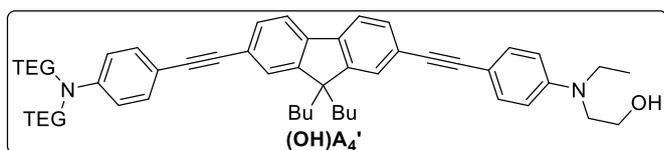
4-((7-bromo-9,9-dibutyl-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)-N,N-bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)aniline (195):



A mixture of **179** (4.0 g, 8.3 mmol, 1 eq.), and 2,7-dibromo-9,9-dibutyl-9H-fluorene **92** (15.2 g, 34.8 mmol, 4.2 eq.) in THF/Et₃N (100 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (117 mg, 0.166 mmol, 2 mol%) and CuI (32 mg, 0.166 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 12.5 mL, 12.5 mmol, 1.5 eq.) was finally added and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 90:1 to 70:30) to give **195** as a dark yellow oil (4.73 g, **75%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 7.63 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 4H), 7.41 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.69 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 3.66 – 3.60 (m, 18H), 3.58 – 3.54 (m, 6H), 3.40 (s, 6H), 1.98 – 1.90 (m, 4H), 1.15 – 1.03 (m, 4H), 0.70 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.62 – 0.54 (m, 4H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm):** 153.3, 150.4, 147.9, 139.8, 139.6, 133.0, 130.6, 130.1, 126.3, 125.7, 123.1, 121.4, 121.3, 119.8, 111.6, 109.9, 91.0, 88.4, 72.1, 70.9, 70.8, 70.8, 68.5, 59.2, 55.5, 51.0, 40.3, 26.0, 23.2, 14.0. **HRMS (FD):** *m/z* = 763.34415, calcd for C₄₃H₅₈BrNO₆ (M⁺): 763.34475.

2-(((4-((7-((4-(bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)amino)phenyl)ethynyl)-9,9-dibutyl-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethan-1-ol ((OH)A₄')):

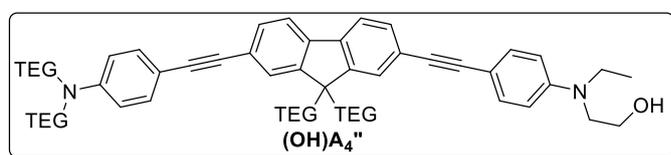


A mixture of **195** (3.0 g, 3.93 mmol, 1 eq.), and **110** (1.03 g, 3.93 mmol, 1 eq.) in THF/Et₃N (50 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (55 mg, 78.6 μmol, 2 mol%) and CuI (15 mg, 78.6 μmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 5.9 mL, 5.9 mmol, 1.5 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: petroleum ether:acetone, 70:30) to give **(OH)A₄'** as a dark yellow oil (2.15 g, **63%**).

¹H NMR (MeOD, 300 MHz) δ (ppm): 7.69 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.45 – 7.41 (m, 4H), 7.36 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 6.77 – 6.71 (m, 4H), 3.61 (d, *J* = 1.9 Hz, 12H), 3.54

– 3.45 (m, 12H), 3.35 (s, 6H), 2.08 – 1.99 (m, 4H), 1.17 (td, $J = 7.0, 5.2$ Hz, 5H), 1.10 (dd, $J = 14.5, 7.0$ Hz, 4H), 1.03 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 0.90 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 0.68 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H), 0.56 (dd, $J = 7.5, 3.3$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm): 150.7, 148.3, 147.9, 147.8, 139.6, 139.6, 133.5, 132.6, 132.5, 130.1, 125.1, 122.2, 122.1, 120.3, 111.4, 111.2, 111.2, 108.2, 107.6, 105.6, 91.6, 91.4, 88.2, 88.1, 82.9, 72.5, 71.3, 70.0, 69.8, 69.6, 67.8, 58.3, 58.0, 51.9, 50.1, 44.6, 25.8, 22.4, 13.8, 11.9. HRMS (FD): $m/z = 872.53436$, calcd for $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_7$ (M^+): 872.53395.

2-((4-((7-((4-(bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)amino)phenyl)ethynyl)-9,9-bis(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethan-1-ol ((OH)A₄''):

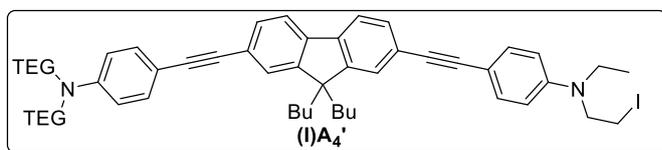


A mixture of **181** (200 mg, 0.202 mmol, 1 eq.), and **110** (105.4 mg, 0.404 mmol, 2 eq.) in THF/Et₃N (2.5 mL, 4:1 v:v)

was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (2.8 mg, 4.0 μmol , 2 mol%) and CuI (0.8 mg, 4.0 μmol , 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. TBAF (1M solution in THF, 0.40 mL, 0.40 mmol, 2 eq.) was finally added, and the reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:MeCN, 60:40 to 10:90) to give (OH)A₄'' as a brown oil (201 mg, 95%).

^1H NMR (CD₂Cl₂, 300 MHz) δ (ppm): 7.64 (d, $J = 7.9$, 2H), 7.56 (d, $J = 1.5$, 2H), 7.47 (dd, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 9.0$, 2H), 7.37 (d, $J = 9.0$, 2H), 6.71 (d, $J = 9.0$ Hz, 4H), 3.74 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.68 – 3.54 (m, 24H), 3.53 – 3.37 (m, 12H), 3.36 – 3.30 (m, 12H), 3.30 – 3.20 (m, 8H), 3.19 – 3.14 (m, 4H), 2.84 – 2.72 (m, 4H), 2.37 (t, $J = 7.4$ Hz, 4H), 1.16 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CD₂Cl₂, 75 MHz) δ (ppm): 149.9, 148.6, 148.4, 139.8, 139.8, 133.2, 133.2, 130.9, 126.3, 126.3, 123.6, 123.5, 120.4, 112.1, 112.0, 110.0, 109.5, 91.9, 91.7, 88.4, 88.3, 72.3, 72.2, 71.1, 70.9, 70.8, 70.7, 70.7, 70.4, 68.8, 67.3, 59.9, 59.5, 59.1, 59.0, 52.7, 51.7, 51.3, 45.8, 40.0, 30.1, 24.6, 20.2, 13.9, 12.2. HRMS (FD): $m/z = 1052.59758$, calcd for $\text{C}_{61}\text{H}_{84}\text{N}_2\text{O}_{13}$ (M^+): 1052.59734.

4-((7-((4-(bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)amino)phenyl)ethynyl)-9,9-dibutyl-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethoxy)benzoate ((I)A₄'):

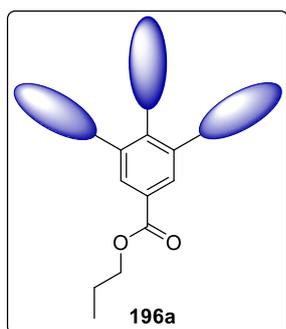


Imidazole (78 mg, 1.15 mmol, 2 eq.) and iodine (290 mg, 1.15 mmol, 2 eq.) were dissolved in dry CH₂Cl₂ and PPh₃

(loaded on resin, 1.6 mmol/g, 720 mg, 1.15 mmol, 2 eq.) was added. The reaction mixture was stirred for 15 min under argon atmosphere, then (OH)A₄' (500 mg, 0.573 mmol, 1 eq.) in dry CH₂Cl₂ was added to the mixture and the solution was stirred for 3 h at room temperature. The solution was filtered over Celite® and evaporated to give (I)A₄' as a dark yellow oil which was used without further purification (563 mg, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm): 7.64 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.52 – 7.37 (m, 8H), 6.69 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 6.64 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H), 3.65 (d, *J* = 3.4 Hz, 16H), 3.58 – 3.55 (m, 4H), 3.49 – 3.42 (m, 4H), 3.40 (s, 6H), 1.99 (dd, *J* = 10.3, 6.0 Hz, 4H), 1.21 (q, *J* = 7.0 Hz, 6H), 1.15 – 1.02 (m, 6H), 0.70 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 0.62 (dd, *J* = 7.6, 3.3 Hz, 4H). **HRMS (FD):** *m/z* = 982.43776, calcd for C₅₅H₇₁IN₂O₆ (M⁺): 982.43568.

propyl 3,4,5-tris(2-((7-((4-(bis(2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)ethyl)amino)phenyl)ethynyl)-9,9-dibutyl-9H-fluoren-2-yl)ethynyl)phenyl)(ethyl)amino)ethoxy)benzoate (196a):



To a stirred solution of (I)A₄' (373 mg, 0.379 mmol, 3.5 eq.) in dry DMF (4 mL) under argon atmosphere were added propyl gallate (23 mg, 0.108 mmol, 1 eq.) and K₂CO₃ (60 mg, 0.434 mmol, 4 eq.). The mixture was stirred for 3 days at 65 °C. The reaction was then quenched with water and extracted 3 times with AcOEt. The organic layer was dried with Na₂SO₄, filtered over Celite® and evaporated.

The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: toluene:AcOEt, 8:2 to 0:1) to give **196a** as a yellow solid (198 mg, **66%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm): 7.67 (d, *J* = 7.8 Hz, 6H), 7.45 – 7.41 (m, 12H), 7.38 – 7.28 (m, 12H), 7.27 (s, 2H), 6.71 (d, *J* = 8.0 Hz, 12H), 4.30 – 4.24 (m, 6H), 4.23 – 4.16 (m, 2H), 3.72 – 3.61 (m, 36H), 3.60 – 3.53 (m, 36H), 3.35 (s, 18H), 2.06 – 1.94 (m, 12H), 1.82 – 1.76 (h, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.51 (h, *J* = 7.3 Hz, 12H), 0.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.68 (t, *J* = 7.3 Hz, 18H), 0.64 – 0.52 (m, 12H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz) δ (ppm):** 152.4, 151.0, 147.9,

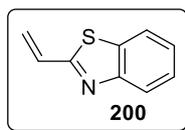
Et₃N (10 μ L, 31.8 μ mol, 3 eq.) was then added and the resulting mixture was stirred in the dark at room temperature and under argon overnight. The solvent was evaporated and the residue was purified by dialysis (1 kDa membrane) in an acetone/EtOH mixture (7:3, v:v) to give **NDPA-Tet4'-[CLB]** as an orange gummy solid (34 mg, **94%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm): 7.73 – 7.71 (m, 4H), 7.66 – 7.57 (m, 8H), 7.55 – 7.52 (m, 7H), 7.48 – 7.42 (m, 13H), 7.38 – 7.28 (m, 8H), 7.27 (s, 2H), 7.09 – 6.94 (m, 2H), 6.74 – 6.62 (m, 12H), 6.57 (d, $J = 9.1$, 2H), 4.35 – 4.25 (m, 6H), 4.25 – 4.05 (m, 2H), 3.90 – 3.87 (m, 1H), 3.72 – 3.61 (m, 36H), 3.60 – 3.35 (m, 66H), 3.19 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.44 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.17 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.06 – 1.94 (m, 12H), 1.86 – 1.82 (m, 2H), 1.79 – 1.63 (m, 12H), 1.28 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 1.09 – 1.07 (m, 3H), 0.69 – 0.66 (m, 18H), 0.64 – 0.52 (m, 12H).

MALDI-TOF: $m/z = 3395.3$, calcd for C₂₀₇H₂₅₆Cl₂N₁₀NaO₂₆ (M+Na)⁺: 3394.3.

III.5. Chapter V: compounds and procedures

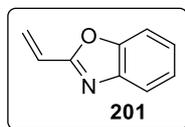
2-vinylbenzo[*d*]thiazole (200):



Compound **200** was synthesized according to a procedure described in literature.^[274] Pale yellow oil which crystallized upon standing. (977 mg, **66%**). Analytical data were in accordance with literature.

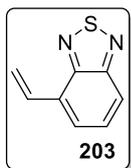
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.00 (dd, $J = 7.9, 0.7$ Hz, 1H), 7.84 (dd, $J = 7.9, 0.7$ Hz, 1H), 7.46 (td, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H), 7.37 (td, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 17.5, 10.9$ Hz, 1H), 6.18 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 5.75 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H).

2-vinylbenzo[*d*]oxazole (201):



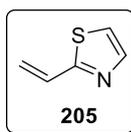
Compound **201** was synthesized according to a procedure described in literature.^[274] Pale yellow oil. (913 mg, **66%**). Analytical data were in accordance with literature.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.70 (ddd, $J = 4.9, 2.4, 0.6$ Hz, 1H), 7.49 (ddd, $J = 4.9, 2.4, 0.6$ Hz, 1H), 7.35 – 7.27 (m, 2H), 6.74 (dd, $J = 17.6, 11.1$ Hz, 1H), 6.46 (dd, $J = 17.6, 11.1$ Hz, 1H), 5.83 (dd, $J = 11.1, 1.1$ Hz, 1H).

4-vinylbenzo[*c*][1,2,5]thiadiazole (203):

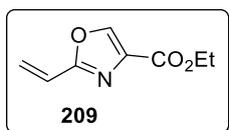
A stirred suspension of 4-bromobenzo[*c*][1,2,5]thiadiazole (400 mg, 1.86 mmol, 1 eq.) and potassium vinyltrifluoroborate (299 mg, 2.23 mmol, 1.2 eq.) in *i*PrOH (19 mL) and Et₃N (0.26 mL, 1.86 mmol, 1 eq.) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(dppf) (30.4 mg, 37 μmol, 2 mol%) was added. The resulting mixture refluxed overnight under argon atmosphere. Upon cooling down to room temperature, the mixture was filtered over Celite®, and solvents were removed under vacuum. The resulting yellow oil was used crude in next step (300 mg, **quant.**)

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.94 – 7.87 (m, 1H), 7.63 – 7.52 (m, 2H), 7.24 (dd, *J* = 17.7, 11.3 Hz, 1H), 6.54 (dd, *J* = 17.7, 1.3 Hz, 1H), 5.64 (dd, *J* = 11.3, 1.3 Hz, 1H).

2-vinylthiazole (205):

Argon was bubbled into a stirred suspension of methyltriphenylphosphonium bromide (3.47 g, 9.72 mmol, 1.1 eq.) in dry THF (20 mL) for 15 min, then potassium *tert*-butoxide (1.09 g, 9.72 mmol, 1.1 eq.) at 0 °C. The resulting yellow mixture was stirred at 0 °C for 1 h, then a solution of thiazole-2-carbaldehyde (1.0 g, 8.84 mmol, 1 eq.) in dry degassed THF (20 mL) was added dropwise. The resulting purple mixture was allowed to warm up to r.t. overnight, then it was quenched with brine and extracted with Et₂O (3 x 20 mL). The combined organic layers were washed with water, then dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: pentane:Et₂O, 95:5 to 80:20) to give **205** as a pale yellow oil (624 mg, **64%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.94 (ddd, *J* = 17.5, 10.9, 0.7 Hz, 1H), 6.06 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H), 5.55 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 167.4, 143.4, 130.6, 119.9, 118.6.

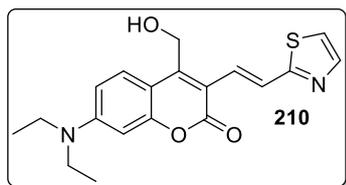
Ethyl 2-vinylloxazole-4-carboxylate (209):

To a stirred suspension of acrylamide (1.0 g, 14.07 mmol, 1 eq.) and powdered NaHCO₃ (4.73 g, 56.3 mmol, 4 eq.) in dry THF (50 mL) under argon atmosphere was added ethyl bromopyruvate (2.15 mL, 15.5 mmol, 1.1 eq.). The resulting mixture was heated to 60 °C overnight, then additional ethyl bromopyruvate (2.15 mL, 15.5 mmol, 1.1 eq.) was added, and the reaction was heated for 8

more hours. Upon cooling down to r.t., the mixture was filtered over Celite® and the filtrate was evaporated. The crude was immediately dissolved in dry THF (20 mL), and treated with trifluoroacetic anhydride (7.9 mL, 56.3 mmol, 4 eq.) at 0 °C, then stirred at r.t. overnight. Upon completion of the reaction, a saturated aqueous NaHCO₃ solution was slowly added, and the mixture was extracted with AcOEt. The combined organic layers were washed with water, then dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography of silicagel (eluent: petroleum ether:AcOEt, 7:3) to give **209** as a pale yellow oil (1.46 g, **62%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.17 (s, 1H), 6.65 (dd, *J* = 17.8, 11.1 Hz, 1H), 6.29 (dd, *J* = 17.7, 0.8 Hz, 1H), 5.75 (dd, *J* = 11.2, 0.8 Hz, 1H), 4.40 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

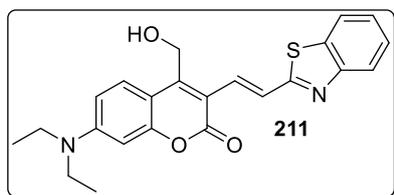
(*E*)-7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-3-(2-(thiazol-2-yl)vinyl)coumarin (210):



Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (200 mg, 0.536 mmol, 1 eq.) and **205** (89.4 mg, 0.804 mmol, 1.5 eq.). Upon cooling down to room temperature, the reaction was quenched with water, and evaporated. The resulting precipitate was collected by filtration, washed with a large amount of water, then with acetonitrile (5 mL). The resulting powder was dried under vacuum to give **210** as an orange solid (171 mg, **90%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.82 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 6.67 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H), 6.61 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 101 MHz), δ (ppm):** 143.1, 142.5, 128.1, 127.6, 125.6, 125.4, 120.5, 119.1, 109.2, 109.0, 97.9, 97.5, 83.6, 72.7, 59.9, 44.9, 12.6. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3437.5, 2961.3, 2922.6, 1700.8, 1618.8, 1595.7, 1568.2, 1415.4, 1354.1, 1282.4, 1145.8, 778.2.

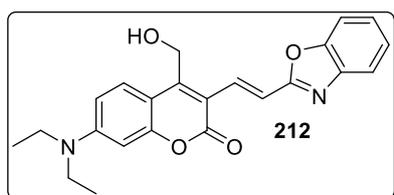
(E)-3-(2-(benzo[d]thiazol-2-yl)vinyl)-7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)coumarin (211):



Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (120 mg, 0.322 mmol, 1 eq.) and **200** (51.8 mg, 0.322 mmol, 1 eq.) The crude residue was precipitated in H₂O. The precipitate was collected by filtration, washed with a large amount of water, then with acetonitrile (5 mL) and dried under vacuum. Dark purple solid (125 mg, **96%**).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ (ppm): 8.08 (ddd, *J* = 8.1, 1.2, 0.6 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.97 (ddd, *J* = 8.1, 1.2, 0.6 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.51 (ddd, *J* = 8.1, 7.2, 1.2 Hz, 1H), 7.42 (ddd, *J* = 8.1, 7.2, 1.2 Hz, 1H), 6.80 (dd, *J* = 9.3, 2.6 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.69 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.81 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 3.48 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.15 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 151 MHz), δ (ppm):** 167.4, 159.9, 155.3, 153.6, 152.7, 151.0, 134.0, 130.4, 127.9, 126.5, 125.3, 124.2, 122.5, 122.2, 112.4, 109.6, 107.7, 96.4, 55.4, 44.2, 12.4. **HRMS (ESI):** *m/z* = 429.1244, calcd for C₂₃H₂₂N₂O₃NaS (M+Na)⁺: 429.1243. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3452.2, 2969.6, 1707.0, 1620.4, 1589.4, 1567.0, 1417.4, 1353.3, 1281.1, 1146.0, 752.0.

(E)-3-(2-(benzo[d]oxazol-2-yl)vinyl)-7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)coumarin (212):

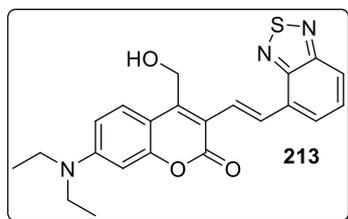


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (120 mg, 0.322 mmol, 1 eq.) and **201** (46.7 mg, 0.322 mmol, 1 eq.) The crude residue was precipitated in H₂O. The precipitate was collected by filtration, washed with a large amount of water, then with acetonitrile (5 mL) and dried under vacuum. Orange solid (116 mg, **92%**).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ (ppm): 8.03 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.73 – 7.72 (m, 2H), 7.71 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 7.43 – 7.30 (m, 2H), 6.80 (dd, *J* = 9.3, 2.4 Hz, 1H), 6.57 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.71 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.81 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H), 3.47 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.14 (t, *J* = 7.0 Hz, 6H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 151 MHz), δ (ppm):** 163.2, 159.9, 155.5, 153.1, 151.2, 149.9, 141.9, 132.2, 128.1, 125.3, 124.7, 119.5, 115.6, 112.0, 110.6, 109.7, 107.7, 96.4, 55.2, 44.2, 12.4. **HRMS (ESI):** *m/z* = 413.1455, calcd for C₂₃H₂₂N₂O₄Na

(M+Na)⁺: 413.1471. **FTIR** ν (cm⁻¹): 3445.2, 2969.2, 1711.0, 1620.2, 1497.1, 1418.4, 1353.5, 1249.2, 1145.5, 738.3.

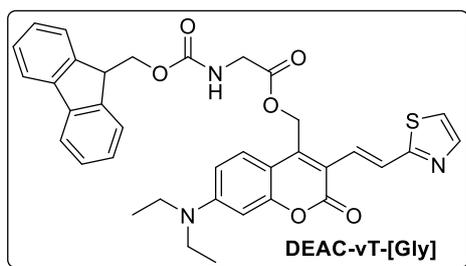
(E)-3-(2-(benzo[*c*][1,2,5]thiadiazol-4-yl)vinyl)-7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)coumarin (213):



Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (300 mg, 0.804 mmol, 1 eq.) and **203** (260.8 mg, 1.61 mmol, 2 eq.) The crude residue was purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂). Red solid (248 mg, 76%).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 8.47 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.65 – 7.52 (m, 2H), 6.65 (dd, *J* = 9.2, 2.6 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR** (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm): 161.3, 155.8, 155.2, 153.1, 150.4, 148.0, 131.2, 130.9, 129.9, 129.8, 128.8, 126.9, 126.4, 120.3, 116.9, 109.8, 97.8, 57.7, 45.3, 12.6. **HRMS** (FD): *m/z* = 407.13084, calcd for C₂₂H₂₁N₃O₃S (M)⁺: 407.13036. **FTIR** ν (cm⁻¹): 3443.4, 2968.6, 2928.1, 1695.4, 1618.4, 1603.4, 1509.8, 1413.4, 1352.3, 1263.1, 1142.9, 754.4.

(E)-((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)-7-(diethylamino)-2-oxo-3-(2-(thiazol-2-yl)vinyl)-coumarin-4-yl)methylglycinate (DEAC- ν T-[Gly]):



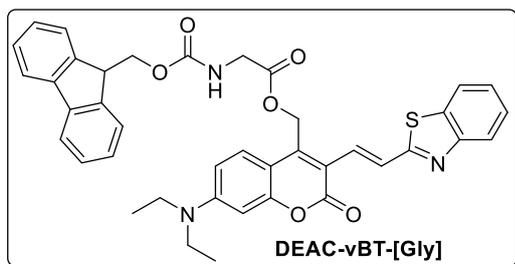
Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **210** (35 mg, 98.2 μ mol, 1 eq.) and Fmoc-Gly-OH (32.1 mg, 108 μ mol, 1.1 eq.), the product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 1:0 to 7:3) to give

DEAC- ν T-[Gly] as an orange powder (33 mg, 52%).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ (ppm): 7.89 – 7.83 (m, 4H), 7.81 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 7.63 – 7.56 (m, 4H), 7.39 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.27 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.69 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H), 6.47 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.21 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.11 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.38 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 1.08 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H). **¹³C NMR** (CDCl₃, 101 MHz), δ (ppm): 169.9, 167.7, 163.6, 160.4, 156.5, 155.4, 151.1, 143.9, 143.3, 141.4, 128.6, 127.9, 127.2, 126.5, 125.2, 120.1, 119.1, 109.7, 109.2, 108.2, 97.7, 97.4,

67.4, 59.1, 47.1, 45.0, 43.1, 12.6. **FTIR ν (cm^{-1}):** 3448.2, 3065.9, 2961.5, 2917.6, 2846.2, 1724.1, 1687.3, 1621.0, 1508.9, 1419.5, 1352.6, 1262.1, 1144.1, 1074.2, 754.5. **Melting point:** 170 °C.

(*E*)-(3-(2-(benzo[*d*]thiazol-2-yl)vinyl)-7-(diethylamino)-coumarin-4-yl)methyl (((9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)glycinate (DEAC-*v*BT-[Gly]):

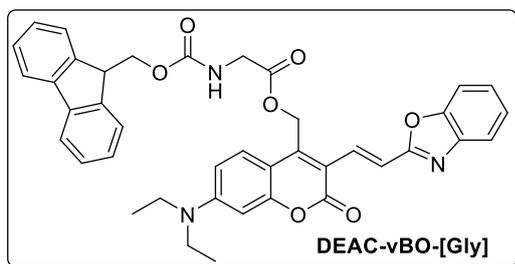


Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **211** (60 mg, 147.6 μmol , 1 eq.) and Fmoc-Gly-OH (48.3 mg, 162 μmol , 1.1 eq.), the product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH_2Cl_2 :acetone, 100:0 to 94:6). to give **DEAC-*v*BT-[Gly]** as an orange

powder (60 mg, 59%).

^1H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ (ppm): 8.04 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.99 – 7.95 (m, 2H), 7.97 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.82 (t, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J = 7.5, 0.6$ Hz, 2H), 7.52 – 7.48 (m, 1H), 7.43 – 7.40 (m, 1H), 7.38 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.25 (td, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 2H), 6.71 (dd, $J = 9.2, 2.5$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.54 (s, 2H), 4.20 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.84 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.40 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 1.09 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H). **^{13}C NMR (DMSO-*d*₆, 151 MHz), δ (ppm):** 170.0, 167.2, 159.4, 156.4, 155.0, 153.6, 151.0, 146.1, 143.7, 140.7, 134.2, 129.6, 127.6, 127.5, 126.9, 126.5, 125.4, 125.3, 125.1, 122.6, 122.1, 120.1, 113.7, 109.7, 107.5, 96.4, 65.8, 58.1, 46.4, 44.1, 42.3, 30.7, 12.4. **HRMS (ESI):** $m/z = 708.2108$, calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6\text{NaS}$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺: 708.2138. **FTIR ν (cm^{-1}):** 3420.7, 3060.4, 2967.0, 2923.1, 2868.1, 1721.7, 1712.2, 1620.1, 1599.5, 1513.4, 1419.8, 1354.5, 1267.7, 1147.5, 1050.8, 758.5. **Melting point:** 142 °C.

(E)-3-(2-(benzo[d]oxazol-2-yl)vinyl)-7-(diethylamino)-coumarin-4-yl)methyl (((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)glycinate (DEAC-vBO-[Gly]):

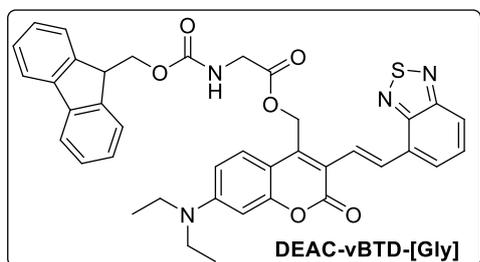


Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **212** (60 mg, 153.6 mmol, 1 eq.) and Fmoc-Gly-OH (50.3 mg, 169 mmol, 1.1 eq.), the product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 1:0 to

9:1). to give **DEAC-vBO-[Gly]** as an orange powder (71 mg, **69%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.96 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.73 – 7.70 (m, 1H), 7.54 – 7.51 (m, 2H), 7.51 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.38 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.34 – 7.30 (m, 1H), 7.32 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.26 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.61 (dd, *J* = 9.2, 2.2 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.56 (s, 2H), 5.41 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.34 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.12 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.09 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.36 (q, *J* = 7.2 Hz, 4H), 1.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 169.9, 163.6, 160.1, 156.5, 155.7, 151.4, 150.7, 144.6, 143.9, 142.5, 141.4, 130.4, 127.9, 127.2, 126.7, 125.4, 125.2, 124.6, 120.1, 120.1, 119.4, 115.8, 110.6, 109.8, 108.0, 97.4, 67.5, 58.9, 47.1, 45.0, 43.0, 12.6. **HRMS (ESI):** *m/z* = 692.2340, calcd for C₄₀H₃₅N₃O₇Na (M+Na)⁺: 692.2367. **FTIR ν (cm⁻¹):** 3446.0, 3324.2, 3065.9, 2972.5, 2923.1, 1721.7, 1694.5, 1615.3, 1542.8, 1507.9, 1419.8, 1351.6, 1274.4, 1151.1, 1059.4, 739.8. **Melting point:** 226 °C.

(E)-3-(2-(benzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)vinyl)-7-(diethylamino)-coumarin-4-yl)methyl (((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)glycinate (DEAC-vBTD-[Gly]):



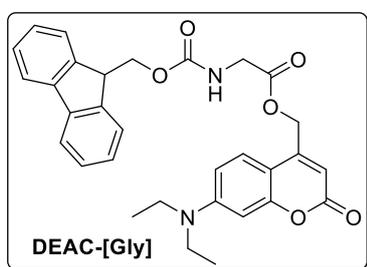
Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **213** (76 mg, 186.5 mmol, 1 eq.) and Fmoc-Gly-OH (61 mg, 205 mmol, 1.1 eq.), the product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 100:0 to 98:2) to

give **DEAC-vBTD-[Gly]** as a red powder (74 mg, **58%**).

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 8.32 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.58 – 7.52 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.36 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.25 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.56 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.55 (s, 2H), 5.52 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H),

4.33 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.13 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 4.11 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.34 (q, $J = 6.9$ Hz, 4H), 1.17 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 151 MHz), δ (ppm): 169.9, 160.8, 156.4, 155.8, 155.1, 153.2, 150.5, 143.8, 142.3, 141.3, 131.0, 129.8, 128.3, 127.8, 127.1, 126.2, 126.1, 125.1, 120.5, 120.1, 118.7, 109.4, 108.4, 97.4, 67.4, 59.7, 47.1, 44.9, 43.1, 12.6. **HRMS (FD)**: $m/z = 686.21931$, calcd for $\text{C}_{39}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ (M) $^+$: 686.21990. **FTIR ν (cm^{-1})**: 3445.9, 3060.4, 2969.6, 2923.1, 2862.6, 1715.9, 1703.4, 1618.8, 1602.2, 1512.0, 1416.2, 1355.0, 1265.1, 1146.0, 1078.7, 803.9, 748.9. **Melting point**: 116 °C.

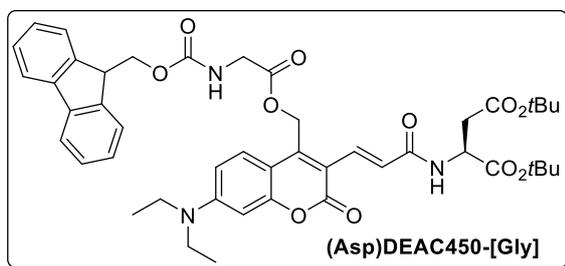
(7-(diethylamino)-coumarin-4-yl)methyl (((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)glycinate (DEAC-[Gly]):



Following the general procedure for esterification (Proc. D), with **116** (400 mg, 1.62 mmol, 1 eq.) and Fmoc-Gly-OH (962 mg, 3.24 mmol, 2 eq.), the product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH_2Cl_2 :acetone, 1:0 to 9:1), to give **DEAC-[Gly]** as a bright yellow powder (511 mg, 60%).

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 600 MHz), δ (ppm): 7.89 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.88 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.32 (td, $J = 7.6$, 1.1 Hz, 2H), 6.66 (dd, $J = 9.1$, 2.6 Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.04 (t, $J = 0.9$ Hz, 1H), 5.34 (d, $J = 0.9$ Hz, 2H), 4.32 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 3.95 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.40 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 1.10 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H). ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 151 MHz), δ (ppm): 169.8, 160.6, 156.6, 155.8, 150.4, 150.3, 143.8, 140.7, 127.6, 127.1, 125.5, 125.2, 120.1, 108.7, 105.2, 105.1, 96.8, 65.8, 61.6, 46.6, 44.0, 42.3, 12.3. **HRMS (ESI)**: $m/z = 549.2013$, calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$: 549.1996. **FTIR ν (cm^{-1})**: 3435.1, 3065.9, 2971.7, 2928.6, 2868.1, 1714.5, 1618.7, 1604.6, 1528.0, 1422.2, 1355.7, 1273.9, 1184.4, 1071.2, 760.9, 742.7. **Melting point**: 139 °C.

di-tert-butyl (E)-(3-(4-((((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)glycyl)oxy)methyl)-7-(diethylamino)-coumarin-3-yl)acryloyl)-L-aspartate ((Asp)DEAC450-[Gly]):

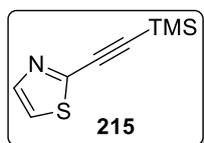


Following the general procedure for esterification (Proc. D) with **133** (26 mg, 47.7 μ mol, 1 eq.) and Fmoc-Gly-OH (15.6 mg, 52.5 μ mol, 1.1 eq.), the product was purified by a column chromatography of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:acetone, 1:0 to 8:2) to give

(Asp)DEAC450-[Gly] as a dark yellow powder (25 mg, **65%**).

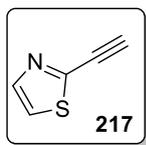
¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz), δ (ppm): 7.80 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.52 (dd, J = 7.3, 1.5 Hz, 2H), 7.46 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 7.27 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 6.72 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 9.2, 2.4 Hz, 1H), 6.35 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.52 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.83 (dt, J = 8.5, 4.4 Hz, 1H), 4.36 – 4.27 (m, 2H), 4.10 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 4.06 (d, J = 5.9 Hz, 2H), 3.33 (q, J = 7.1 Hz, 3H), 2.93 (dd, J = 17.1, 4.4 Hz, 1H), 2.77 (dd, J = 17.1, 4.5 Hz, 1H), 1.47 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.16 (t, J = 7.1 Hz, 5H). **¹³C NMR (CDCl₃, 151 MHz), δ (ppm):** 170.4, 169.9, 169.7, 166.3, 160.2, 156.5, 155.7, 151.4, 145.9, 143.9, 141.3, 141.3, 132.3, 127.8, 127.1, 126.6, 125.3, 120.1, 115.0, 109.7, 107.9, 97.3, 82.5, 81.7, 67.5, 58.8, 49.5, 47.0, 45.0, 43.0, 37.8, 28.2, 28.1, 12.6. **Melting point:** 132 °C.

2-((trimethylsilyl)ethynyl)thiazole (215):



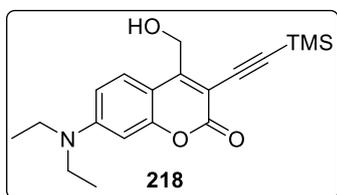
A mixture of 2-bromothiazole (1.0 g, 6.10 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (1.3 mL, 9.15 mmol, 1.5 eq.) in THF/Et₃N (50 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (86 mg, 0.122 mmol, 2 mol%) and CuI (23 mg, 0.122 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: pentane:CH₂Cl₂, 75:25 to 60:40) to give **215** as a colorless oil (397 mg, **36%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.80 (s, 2H), 7.26 (s, 2H), 0.27 (s, 9H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 148.7, 143.5, 120.8, 100.9, 96.6, -0.4.

2-ethynyl)thiazole (217):

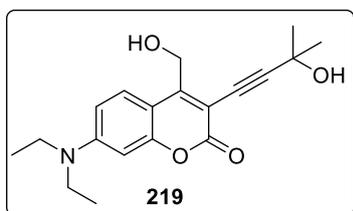
To a stirred solution of **215** (100 mg, 0.61 mmol, 1 eq.) in MeOH (3 mL) was added an aqueous solution of KOH (1M, 0.3 mL, 0.31 mmol, 0.5 eq.). The mixture was stirred at r.t. for 1 h, then it was partially evaporated, poured onto brine and extracted with Et₂O. The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered and evaporated to give **217** as a colorless oil (66 mg, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.86 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 3.50 (s, 1H).

7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-3-((trimethylsilyl)ethynyl)-coumarin (218):

A mixture of **125** (500 mg, 1.33 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (0.47 mL, 3.35 mmol, 2.5 eq.) in THF/Et₃N (15 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (94 mg, 0.134 mmol, 2 mol%) and CuI (25.5 mg, 0.134 mmol, 2 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more. The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column chromatography of silicagel (eluent: CH₂Cl₂:acetone, 99:1) to give **218** as an orange solid (260 mg, **57%**).

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ (ppm): 7.65 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 4.95 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.42 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 2.29 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 1.21 (t, *J* = 7.0 Hz, 7H), 0.28 (s, 9H). **¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz), δ (ppm):** 160.9, 155.8, 155.4, 151.2, 127.0, 109.4, 107.2, 104.2, 103.6, 98.0, 97.6, 60.2, 45.0, 12.6, 0.1.

7-(diethylamino)-3-(3-hydroxy-3-methylbut-1-yn-1-yl)-4-(hydroxymethyl)-coumarin (219):

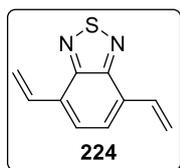
A mixture of **125** (400 mg, 1.07 mmol, 1 eq.) and trimethylsilyl acetylene (0.16 mL, 1.61 mmol, 1.5 eq.) in THF/Et₃N (10 mL, 4:1 v:v) was degassed with argon for 20 min, then PdCl₂(PPh₃)₂ (37.6 mg, 53.6 μmol, 5 mol%) and CuI (10.2 mg, 53.6 μmol, 5 mol%) were added and the mixture was degassed for 5 min more.

The reacting mixture was then stirred at 40 °C overnight, then cooled down to room temperature, filtered over Celite® and evaporated. The crude was then purified by column

chromatography of silicagel (gradient eluent: CH_2Cl_2 :acetone, 10:0 to 9:1) to give **219** as an orange solid (300 mg, **85%**).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 7.69 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.60 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H), 6.43 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 4.90 (s, 2H), 3.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 4H), 1.62 (s, 6H), 1.19 (t, $J = 7.1$ Hz, 6H).

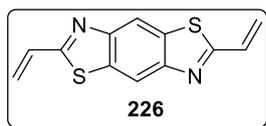
4,7-divinylbenzo[*c*][1,2,5]thiadiazole (224):



A stirred suspension of 4,7-dibromobenzo[*c*][1,2,5]thiadiazole (1.0 g, 3.40 mmol, 1 eq.), Cs_2CO_3 (4.43 g, 13.6 mmol, 4 eq.), and potassium vinyltrifluoroborate (1.37 g, 10.2 mmol, 3.0 eq.) in dioxane (20 mL) was degassed with argon for 20 min, then $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (393 mg, 0.34 mmol, 10 mol%) was added. The resulting mixture refluxed for 4 h under argon atmosphere. Upon cooling down to room temperature, the mixture was filtered over Celite®, and solvents were removed under vacuum. The crude was purified by column chromatography of silicagel (eluent: pentane: CH_2Cl_2 , 1:0 to 75:25) to give **224** as a yellow oil (314 mg, **49%**)

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 7.60 (s, 2H), 7.30 (dd, $J = 17.7, 11.3$ Hz, 2H), 6.57 (dd, $J = 17.7, 1.4$ Hz, 2H), 5.66 (dd, $J = 11.3, 1.3$ Hz, 2H).

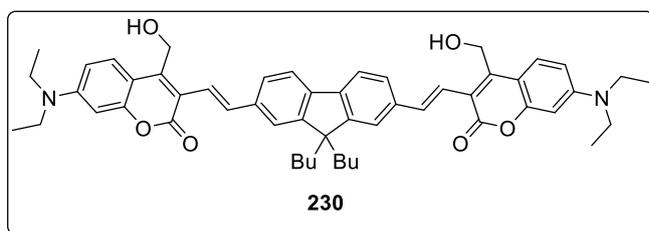
2,6-divinylbenzo[1,2-*d*:4,5-*d'*]bis(thiazole) (226):



The mixture of 2,6-dimethylbenzo[1,2-*d*:4,5-*d'*]bis(thiazole) (1.0 g, 4.54 mmol, 1 eq.), formaldehyde solution (1.11 g, 13.6 mmol, 3 eq.), diethylamine hydrochloride (1.49 g, 13.6 mmol, 3 eq.), and trimethylamine (0.1 mL, 0.68 mmol, 0.15 eq.) in dioxane (6 mL) was heated at 100 °C for 16 h. The solvent was then removed under reduced pressure, and the residue was dissolved in CH_2Cl_2 , and washed with water. The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered and evaporated. The crude was purified by column chromatography of silicagel (gradient eluent: petroleum ether: CH_2Cl_2 , 9:1 to 5:5) to give **226** as a colorless oil (110 mg, **10%**)

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ (ppm): 8.41 (s, 2H), 7.07 (dd, $J = 17.5, 10.9$ Hz, 2H), 6.22 (d, $J = 17.5$ Hz, 2H), 5.83 (d, $J = 10.8$ Hz, 2H). **^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz), δ (ppm):** 168.4, 152.0, 133.7, 131.5, 124.3, 115.6.

3,3'-((1*E*,1'*E*)-(9,9-dibutyl-9*H*-fluorene-2,7-diyl)bis(ethene-2,1-diyl))bis(7-(diethylamino)-4-(hydroxymethyl)-coumarin) (230):

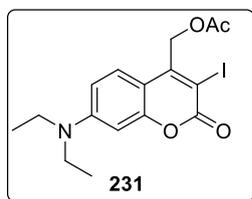


Following the general procedure for Heck coupling (Proc. C), with **125** (249 mg, 0.666 mmol, 2.2 eq.) and **227** (100 mg, 0.303 mmol, 1 eq.) The crude residue was purified by column chromatography

of silicagel (gradient eluent: CH₂Cl₂:AcOEt, 10:0 to 8:2). Orange solid (87 mg, **35%**).

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz), δ (ppm): 7.81 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.68 (d, *J* = 16.2 Hz, 2H), 7.65 – 7.53 (m, 4H), 7.37 (d, *J* = 16.2 Hz, 2H), 6.76 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 2H), 6.55 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 5.55 (t, *J* = 4.6 Hz, 2H), 4.81 (d, *J* = 4.6 Hz, 4H), 3.45 (q, *J* = 7.0 Hz, 8H), 2.16 – 1.99 (m, 4H), 1.14 (t, *J* = 7.0 Hz, 12H), 1.04 (p, *J* = 7.6 Hz, 4H), 0.64 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H), 0.61 – 0.47 (m, 4H). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz), δ (ppm):** 160.9, 155.1, 151.6, 150.4, 149.2, 140.6, 137.4, 133.8, 127.9, 125.8, 121.5, 120.7, 115.6, 109.6, 108.6, 96.9, 56.3, 55.1, 44.5, 26.4, 23.0, 14.3, 14.2, 12.9.

7-diethylamino-4-acetoxymethyl-3-iodocoumarin (231):



Following the general procedure for acetylation (Proc. A) with **125** (1 eq.), compound **231** was obtained as a dark yellow solid without purification (330 mg, **quant.**).

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz), δ (ppm): 7.44 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.58 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.38 (s, 2H), 3.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H), 2.12 (s, 3H), 1.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 7H). **¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz), δ (ppm):** 170.5, 158.9, 155.8, 151.9, 151.1, 126.1, 109.3, 107.9, 97.2, 85.6, 67.3, 45.0, 20.8, 12.6.

IV. Publications

- Chap. II:
E. Cueto Diaz, S. Picard, M. Klausen, V. Hugues, P. Pagano, E. Genin, M. Blanchard-Desce, *Cooperative Veratryle and Nitroindoline Cages for Two-Photon Uncaging in the NIR*, *Chem. – Eur. J.* 2016, 22, 10848–10859.

- Chap. III:
M. Klausen, G. Clermont, M. Blanchard-Desce, *Coumarin-based triad systems for ultra-fast two-photon photorelease of neurotransmitters (in preparation)*.
- Chap. V:
M. Klausen, V. Dubois, S. Plaize, G. Clermont, M. Blanchard-Desce, *Dual-wavelength two-photon photorelease of glycine with a series of π -extended dipolar and quadrupolar coumarins. (in preparation)*
- Other work:
J. Croissant, S. Picard, D. Aggad, M. Klausen, C. M. Jimenez, M. Maynadier, O. Mongin, G. Clermont, E. Genin, X. Cattoën, *et al.*, *Fluorescent periodic mesoporous organosilica nanoparticles dual-functionalized via click chemistry for two-photon photodynamic therapy in cells*, *J. Mater. Chem. B* 2016, 4, 5567–5574.