



HAL
open science

Synthèse et études de sondes fluorescentes pour la détection de neurotransmetteurs

Nicolas Fantozzi

► **To cite this version:**

Nicolas Fantozzi. Synthèse et études de sondes fluorescentes pour la détection de neurotransmetteurs. Chimie organique. Université de Bordeaux, 2019. Français. NNT : 2019BORD0423 . tel-02939507

HAL Id: tel-02939507

<https://theses.hal.science/tel-02939507>

Submitted on 15 Sep 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 A

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par Nicolas FANTOZZI

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR

Spécialité : Chimie Organique

Synthèse et étude de sondes fluorescentes pour la détection de neurotransmetteurs

Soutenue le : 19 décembre 2019

Devant la commission d'examen formée de :

M. FOUQUET Eric, Université de Bordeaux, Professeur des universités	Président
Mme GOSSE Isabelle, Bordeaux INP, Professeur des universités	Directrice de thèse
Mme LERAY Isabelle, Ecole Normale Supérieure de Cachan, Directrice de recherche	Rapporteur
M. MARTINEZ Alexandre, Université d'Aix-Marseille, Professeur des universités	Examineur
Mme PINET Sandra, Bordeaux INP, Maître de conférences	Co-directrice de thèse
M. RAIMUNDO Jean-Manuel, Université d'Aix-Marseille, Professeur des universités	Rapporteur

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier chaleureusement Eric Fouquet, de m'avoir permis de réaliser ma thèse dans son institut. Je le remercie aussi d'avoir été le président de mon jury de thèse ce qui a rendu ma soutenance possible et surtout merci d'avoir partagé sa bouteille aux repas de Noël du groupe.

Je tiens également à remercier mes directrices. Isabelle, pour m'avoir fait découvrir la chimie supramoléculaire et la fluorescence ainsi que de m'avoir permis de partir en congrès. Sandra, pour m'avoir accordé beaucoup de temps pour la préparation de mes communications et pour m'avoir fait progresser dans ma communication orale.

Je remercie le Dr. Isabelle Leray et le Pr. Jean-Manuel Raimundo d'avoir accepté d'évaluer mon travail. Merci également au Pr. Alexandre Martinez d'avoir examiné mes travaux et de m'avoir communiqué sa passion pour les hémicryptophanes.

Merci également à toutes les personnes qui se sont impliquées dans le projet ANR, Rémy Pétuya, Didier Bégué, Emilie Genin, Alexandre Martinez, Estelle Godart, Alberto Insuasty et Pierre Meyrand.

Je souhaite remercier Patrick Toullec de m'avoir autorisé à réaliser ma thèse au sein de son groupe et merci à tout le groupe CSH de m'avoir accepté comme l'un de leurs thésards en m'intégrant aux group meetings, en me consacrant du temps et en m'ayant donné de bons conseils. Un merci particulier à Mumu, qui m'a aidé même si je fais partie d'IPM et que je supporte l'OM.

Je remercie aussi le CESAMO pour toutes les analyses et notamment Cybille, Yannick et Zidane pour les conversations lors de mes titrations.

Enfin, je souhaite remercier tous mes camarades de laboratoire. Merci aux anciens, Thomas pour m'avoir fait tomber du télésiège, Marion pour avoir mangé avec moi au ru, Charlotte pour ses punchlines de ouf et Alexis pour ses qualités de chanteur, sa bonne humeur et pour ses défauts de supporter de l'OL.

Merci au chef des poireaux et sa poireaute d'avoir été là au laboratoire, de m'avoir souvent dépanné et merci pour tous ces week-ends, toutes ces soirées, tous ces souvenirs qu'on a ensemble et que je n'oublierai pas. T'es un mec en or. Merci également au meilleur des stagiaires d'avoir été là, de s'être joint à nos bêtises et d'avoir partagé tous ces bons moments. Merci aux deux meilleurs, Maxime d'avoir été un frère pour moi. Toujours là dans les bons comme les mauvais moments, merci d'avoir partagé ces 3 ans avec moi. Julien, mon copain de labo, je ne sais pas ce que j'aurais fait sans toi et tes bêtises. Heureux d'avoir pu skypé dans tous ces Uber avec toi et d'avoir été un charo avec moi (merci aussi à ta gow qui nous a supporté pendant tout ce temps).

Enfin je souhaite remercier Laura. Merci d'avoir partagé ma vie, de m'avoir soutenu et de m'avoir motivé à venir au laboratoire. Merci d'avoir regardé pokémon avec moi et pour tous ces souvenirs inoubliables.

Pour finir, merci à toutes les personnes que j'ai rencontrées au cours de ces 3 années. Vincent, pour ce marathon je n'oublierai pas, Obinna, pour toutes ces discussions sur le mariage et sur le Nigeria, Amaury, pour toutes ces soirées passées ensemble, Victor, mon copain d'IPM, Claire, pour sa gentillesse, Kalyan, pour ses blagues, sa bonne humeur et tous les autres.

Abréviations utilisées

Abs : Absorbance
ACh : Acétylcholine
EP : Epinéphrine (Adrénaline)
Ar : Argon
SCn : Calix[n]arène sulfonaté
Ch : Choline
 ε : Coefficient d'absorption molaire
 K_{ass} : Constante d'association
CuAAc : Cycloaddition catalysée au cuivre
CTV : Cyclotrivéatrylène
DCM : Dichlorométhane
DLS : Diffusion dynamique de la lumière DMF : Diméthylformamide
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DA : Dopamine
HC : Hémicryptophane
ITC : titrage calorimétrique isotherme
 τ : Durée de vie
Em : Emission
 ΔH : variation d'enthalpie
 ΔG : variation d'enthalpie libre
 ΔS : variation d'entropie
éq : équivalent
Et : Ethyle
 $\lambda_{\text{em max}}$: Longueur d'onde correspondant au maximum d'émission
 $\lambda_{\text{Abs max}}$: Longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption
MeO : Méthoxyde
Me : Méthyle
TEM : Microscopie électronique en transmission
mM : millimolaire
NEP : Noradrénaline
Pent : Pentyle
Pr : Propyle
 Φ_{F} : Rendement quantique de fluorescence
RMN : Résonance magnétique nucléaire
HMRS : Spectrométrie de masse haute résolution
HEPES : Tampon HEPES
PBS : Tampon phosphate (« Phosphate Buffer Solution »)
TA : Température ambiante
THF : Tétrahydrofurane
Tren : tris(2-aminoéthyl)amine
PET : Transfert d'électron photo-induit
UV-Visible : Ultraviolet-visible
u. a. : unité arbitraire
M.O : micro-onde

Table des matières

I.	Introduction générale.....	1
II.	Partie bibliographique	5
A-	Les neurotransmetteurs	7
B-	Méthodes de détection de l'acétylcholine	8
a)	Sondes fluorescentes pour la détection d'acétylcholine basées sur les résocinarenes	9
b)	Sondes fluorescentes pour la détection d'acétylcholine basées sur les calixarènes et pillararènes	12
c)	Autres types de sondes à acétylcholine ou choline	15
C-	Méthodes de détection des catécholamines.....	18
a)	Sondes à catécholamines indirectes	19
b)	Sondes à catécholamines par dérivation chimique.....	21
c)	Nanoparticules et quantum dots pour la détection de catécholamines	23
d)	Sondes directes	26
D-	Cyclotrivéatrylènes et hémicryptophanes	31
a)	Cyclotrivéatrylènes	31
b)	Hémicryptophanes	36
III.	Développement et caractérisation de cyclotrivéatrylènes fluorescents	42
A-	Stratégies envisagées pour améliorer les longueurs d'ondes d'excitations des sondes	45
a)	Synthèse du cyclotrivéatrylène triodé.....	45
b)	Par modification de l'effet « push-pull »	46
c)	Par extension de conjugaison en utilisant des réactions de couplage avec le CTV triodé	48
d)	En greffant des fluorophores coumarine, BODIPY, benzothiadiazole.....	61
e)	Synthèse du CTV 201	80
B-	Caractérisations et études de titration des cyclotrivéatrylènes fluorescents	83
a)	Caractéristiques spectroscopiques des CTV	83
b)	Reconnaissance des ammoniums	86
IV.	Synthèses et caractérisations d'hémicryptophanes (HC) fluorescents	90
A-	Synthèses d'hémicryptophanes fluorescents solubles en milieu organique et aqueux	92
a)	Synthèse d'un hémicryptophane fluorescent soluble en milieu organique	92
b)	Synthèse d'un hémicryptophane soluble en milieu aqueux.....	94
c)	Propriétés spectroscopiques des HC 207 et 211	97
d)	Synthèse de l'HC 214	98
B-	Etudes de titration des hémicryptophanes fluorescents développés	102
a)	Etudes de titration d'hémicryptophane soluble en milieu organique	102
b)	Etudes de titration d'hémicryptophane soluble en milieu tampon	107
V.	Conclusion Générale	111

VI.	Partie expérimentale	114
A-	Partie expérimentale générale	115
B-	Procédures expérimentales de synthèse	116
C-	Spectroscopie	149

I. Introduction générale

La chimie supramoléculaire a été décrite par Jean-Marie Lehn comme « la chimie au-delà de la molécule ». ¹ Pedersen et Lehn (prix Nobel de chimie 1987), ont synthétisé des macrocycles bicycliques ou polycycliques semblables aux éthers couronnes. Ces molécules leurs ont permis d'étudier les interactions supramoléculaires. Pedersen et Lehn ont appelé cette classe de molécule « cryptand ». Ces molécules sont capables de reconnaître les cations (figure 1). ²

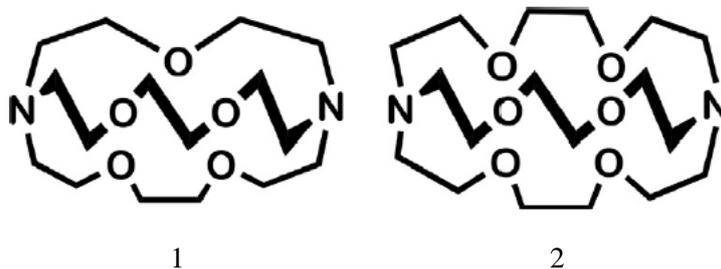


Figure 1 : Premiers exemples de cryptands développés par Pedersen

Ces molécules possèdent une cavité préformée ce qui leurs permet de reconnaître différentes molécules grâce à une certaine synergie des interactions entre le cryptand (appelé hôte) et l'analyte à détecter (appelé invité). On parle d'interaction Hôte-Invité.

De façon similaire, le terme de cavitand a été introduit par D.J. Cram, ³ qui définit les cavitands comme « des molécules hôtes en forme de conteneurs et capables de reconnaître des invités possédant une taille et une forme complémentaire ».

Au cours du temps, de nombreux autres récepteurs capables de complexer différents cations (ammoniums, K^+ , Cu^{2+} , ...) ont été développés comme les calixarènes, resorcinarènes, pillularènes, cucurbiturils ou encore cyclotrivratriylènes.

Ces sondes supramoléculaires peuvent être utilisées pour la catalyse, les machines moléculaires ou la détection d'espèces. Dans le cas de la détection d'espèces, les récepteurs doivent être associés à un mode de détection. La fluorescence est l'une de ces méthodes et est particulièrement intéressante pour l'imagerie. ⁴ En particulier, ces sondes fluorescentes peuvent permettre la détection de petites molécules y compris celles qui sont non fluorescentes. ⁵

La fluorescence est une méthode rapide, peu envahissante, peu coûteuse et très sensible.

Il existe 3 types de sondes fluorescentes :

- Les sondes fonctionnant par liaison covalente (figure 2.1) : le fluorophore est lié de façon covalente à la molécule non fluorescente. Ceci permet de le suivre mais perturbe également son environnement et donc perturbe les mécanismes biologiques.
- Les sondes supramoléculaires par déplacement de fluorophore (figure 2.2) : le fluorophore est complexé par la sonde et cette interaction impacte la fluorescence du fluorophore. Lorsque le complexe est mis en présence du neurotransmetteur, celui-ci est reconnu par le récepteur et libère le fluorophore. Il retrouve alors ses propriétés photochimiques. Cette méthode permet de détecter une espèce cible à un instant T mais ne permet pas de le suivre dans la durée, étant donné que seule la diffusion du fluorophore est visible. Ce type de sonde n'est donc pas appropriée pour l'imagerie d'une espèce cible.

¹ J. L. Atwood, *Comprehensive Supramolecular Chemistry II*, Second Edition, 2017

² Weber, E.; Vögtle, F. *Inorg. Chim. Acta*, **1980**, *45*, L45–L67

³ D. J. Cram, *Science*, **1983**, *219*, 4589, 1177-1183

⁴ T. L. Mako, J. M. Racicot, M. Levine, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 322–477

⁵ T. Pradhan, H. S. Jung, J. H. Jang, T. W. Kim, C. Kang, J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 4684

- Les sondes supramoléculaires luminescentes directes (figure 2.3) : lors de la reconnaissance de l'espèce cible, leurs propriétés de fluorescences (longueurs d'ondes d'absorption et d'émission, intensité de fluorescence, rendement quantique, coefficient d'absorption molaire) sont modifiées, permettant de suivre l'espèce cible dans l'espace en temps réel.

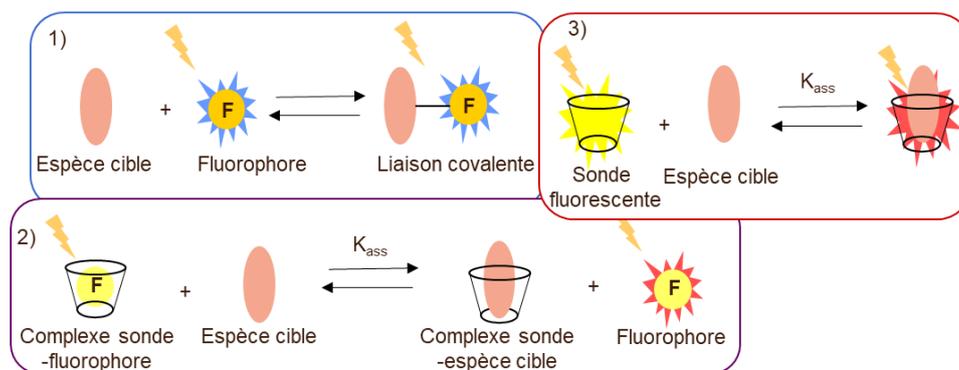


Figure 2: 3 différents types de sondes fluorescentes

Les sondes supramoléculaires fluorescentes directes présentent plusieurs avantages et peuvent être utilisées pour suivre des processus biologiques qui ne sont pas encore compris aujourd'hui. Les symptômes de certaines maladies neurodégénératives comme Parkinson, Alzheimer ou Huntington seraient dues à un déséquilibre en neurotransmetteurs (acétylcholine, dopamine, sérotonine). Ces derniers sont libérés par les neurones pour assurer la transmission du message nerveux d'un neurone à l'autre. Développer des sondes fluorescentes fonctionnant de façon directe pourrait permettre de mieux comprendre le fonctionnement de ces maladies.

Le travail de cette thèse a pour objectif de développer des sondes fluorescentes pour la détection des neurotransmetteurs. Pour se faire, il faudra développer des molécules fluorescentes capables d'interagir avec des neurotransmetteurs. Cette interaction devra également induire une modification des propriétés photochimiques de la sonde. Idéalement, cette sonde devra être sélective d'un neurotransmetteur afin de le différencier des autres espèces possédant des structures chimiques similaires. Cette sonde devra également être soluble, stable et active en milieu biologique, ainsi qu'être non cytotoxique.

Un état de l'art va être effectué afin de voir les avantages et les inconvénients des systèmes actuels et d'expliquer la voie choisie.

II. Partie bibliographique

Ce projet avait pour objectif de distinguer des neurotransmetteurs qui possèdent des structures proches l'une de l'autre. Nous allons présenter les neurotransmetteurs ciblés, essentiellement des ammoniums et des catécholamines qui sont impliqués dans diverses maladies neurodégénératives comme Parkinson, Alzheimer et Huntington. Nous présenterons ensuite les récepteurs supramoléculaires décrits dans la littérature pour la détection de ces espèces.

A- Les neurotransmetteurs ⁶

Les neurotransmetteurs sont des composés chimiques libérés par les neurones et qui agissent sur d'autres neurones comme messagers. Ils sont classés en fonction de leurs structures, voici les caractéristiques de ceux auxquels nous allons nous intéresser.

L'acétylcholine est le premier neurotransmetteur découvert en 1914. Elle joue un rôle important dans la transmission synaptique dans le système nerveux central et périphérique. Elle est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage. Deux types de récepteurs naturels sont capables de reconnaître l'acétylcholine : les récepteurs muscarinique et nicotinique.

Elle est synthétisée à partir de la choline et de l'acétyl-CoA grâce à l'enzyme choline acétyltransférase. Ses métabolites sont la choline et la bétaine (Schéma 1). La concentration typique de l'acétylcholine, dans le cerveau, est de 1 mM.

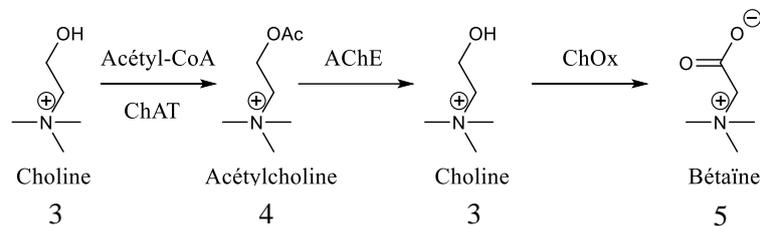


Schéma 1: Métabolisme de l'acétylcholine

La dopamine fait partie de la famille des catécholamines (dopamine, noradrénaline, adrénaline) qui dérivent du même précurseur, la tyrosine (schéma 2). Les catécholamines possèdent des structures similaires : un groupe catéchol et une chaîne éthylamine. La dopamine joue un rôle important dans le comportement et dans le système dit hédonique en déclenchant une sensation de plaisir. Elle est synthétisée à partir de la tyrosine en 2 étapes grâce aux enzymes tyrosine hydroxylase et DOPA décarboxylase. Sa concentration dans le cerveau est comprise entre 10 nM et 1 μM.

La noradrénaline, aussi appelée norépinephrine et **l'adrénaline**, aussi appelée épinéphrine sont impliquées dans la vasoconstriction ou la vasodilatation des tissus du cœur. Elles sont synthétisées à partir de la dopamine grâce à l'enzyme dopamine hydroxylase pour la noradrénaline et grâce à la phényléthanolamine N-méthyltransférase pour l'adrénaline (schéma 2). Leurs concentrations varient dans le corps humain du nM au mM.

⁶ Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas L. Jessell, Principles of neural science, 4th edition, 2000

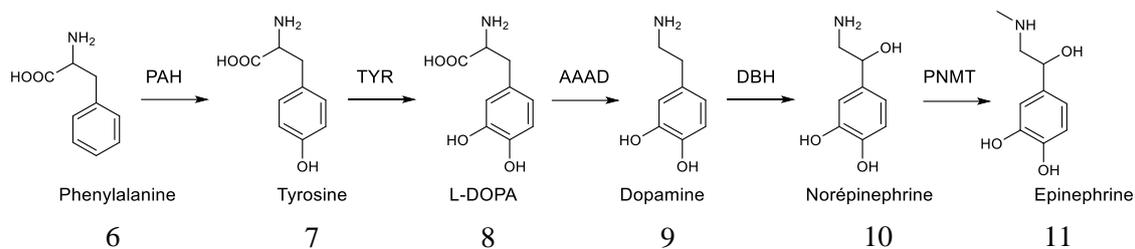


Schéma 2: Métabolisme des catécholamines

La sérotonine, aussi appelée 5-hydroxytryptamine, a été découverte en 1947 et influe sur la vasoconstriction. Elle joue sur la mémoire et l'apprentissage ainsi que sur le comportement sexuel et alimentaire. Elle est synthétisée à partir du tryptophane en 2 étapes grâce aux enzymes tryptophane hydroxylase et 5-hydroxytryptophane-décarboxylase (Schéma 3). Sa concentration dans le cerveau est de quelques centaines de nM.

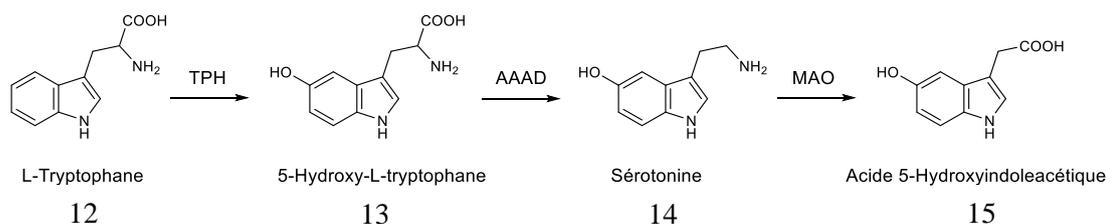


Schéma 3: Métabolisme de la sérotonine

Ces réactions permettent de produire ces différents neurotransmetteurs présents dans le corps humain. Chaque neurotransmetteur possède une fonction spécifique (parmi d'autres fonctions communes à d'autres neurotransmetteurs) et c'est pour cela qu'il serait intéressant de pouvoir reconnaître chacun d'entre eux de façon spécifique. Cependant, les structures chimiques au sein d'une famille de neurotransmetteurs sont souvent proches, ce qui rend leur reconnaissance sélective difficile. C'est dans cette optique que différents récepteurs synthétiques ont été développés.

B- Méthodes de détection de l'acétylcholine

Il existe différentes méthodes pour détecter l'acétylcholine comme les microélectrodes,⁷ qui permettent de détecter la présence d'acétylcholine grâce à des molécules spécifiques greffées sur les biocapteurs. Elles permettent de détecter l'acétylcholine en très faible quantité et en temps réel. Cependant l'utilisation *in vivo* de microélectrodes est une méthode de détection invasive et qui ne permet pas de suivre l'acétylcholine dans l'espace. Une autre méthode de détection de l'acétylcholine est par détection d' H_2O_2 .⁸ En effet, lorsque l'acétylcholine est métabolisée en choline, du peroxyde d'hydrogène est dégagé. Ceci permet de déterminer la concentration en

⁷ M. Shen, Z. Qu, J. DesLaurier, T. M. Welle, J. V. Sweedler, R. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 7764–7768

⁸ H. Li, Y. Guo, L. Xiao, B. Chen, *Biosensors and Bioelectronics*, **2014**, *59*, 289–292

acétylcholine dans le milieu mais ne permet pas de la suivre dans l'espace. Des quantum dots⁹ ont également été développés pour la détection d'acétylcholine. Ces quantum dots sont fonctionnalisés à leur surface par des molécules reconnaissant l'acétylcholine. Leur intensité de fluorescence est modifiée lorsqu'ils sont mis en présence d'acétylcholine. Cette méthode permet de suivre l'acétylcholine dans l'espace en temps réel, cependant ces quantum dots possèdent généralement des tailles trop importantes (environ 30 nm) pour être utilisés dans la fente synaptique (100 nm) sans perturber le fonctionnement des neurotransmetteurs.

Nous allons nous intéresser aux récepteurs supramoléculaires, plus particulièrement aux récepteurs supramoléculaires fluorescents.

En 1990, Dennis Dougherty et David Stauffer reportent le premier récepteur complètement synthétique capable de détecter l'acétylcholine jusqu'à une concentration de 50 micromolaires (figure 3).¹⁰ Cette molécule, composée majoritairement de cycles aromatiques possède une cavité hydrophobe, lui permettant de reconnaître l'ammonium quaternaire de l'acétylcholine en formant des liaisons cation- π . L'inclusion de l'ammonium dans la cavité a été observée par RMN en milieu aqueux. Dans un tel milieu, l'ammonium est fortement solvatoé lorsqu'il est libre et il l'est beaucoup moins lorsqu'il est complexé. Grâce à cela, ils ont pu prouver l'importance des liaisons cation- π pour la reconnaissance d'acétylcholine. Ils ont aussi prouvé qu'il y avait des interactions ioniques entre les carboxylates du récepteur et l'ammonium de l'acétylcholine. Mais ce récepteur n'est pas fluorescent, le premier récepteur fluorescent pour l'ACh ayant été publié par Inouye en 1994.¹¹

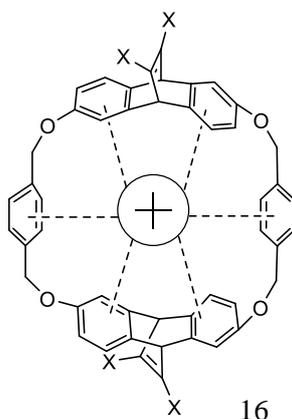


Figure 3 : premier récepteur synthétique à acétylcholine

a) Sondes fluorescentes pour la détection d'acétylcholine basées sur les résorcinarenes

Les résorcinarenes sont une classe moléculaire fortement représentée chez les récepteurs à acétylcholine. Différents exemples représentant une avancée notable dans ce domaine

⁹ T. Jin, F. Fujii, H. Sakata, M. Tamura, M. Kinjo, *Chem. Commun.*, **2005**, 4300–4302

¹⁰ D.A. Dougherty, D.A. Stauffer, *Science*, **1990**, 250, 1558-1560

(augmentation des longueurs d'ondes, augmentation des constantes d'associations vis-à-vis de l'acétylcholine) ou des exemples représentant un ensemble de sondes seront présentés dans cette partie afin de donner une vision générale des différentes sondes décrites dans la littérature.

En 1994, l'équipe de Masahiko Inouye a développé la première sonde fluorescente pour la détection d'acétylcholine par libération de fluorophore (ici un pyrène modifié) (figure 4).¹¹ L'équipe d'Inouye a synthétisé un nouveau récepteur artificiel basé sur un tétramère formé de sous unités résorcinol. La forme de bol de ce récepteur sert de site de reconnaissance. Cette molécule est sélective de l'acétylcholine par rapport aux autres neurotransmetteurs comme la dopamine, la sérotonine, le GABA. La reconnaissance spécifique de l'acétylcholine est due à une forte interaction entre la cavité de la molécule et l'ammonium quaternaire de celle-ci, ce qui engendre une augmentation de fluorescence. Cette reconnaissance se fait grâce aux interactions électrostatiques et cation- π . Une constante d'association de l'ordre de 10^4 M^{-1} a été déterminée dans un mélange KOH/MeOH à 0,01 M. Cependant, pour que cette sonde ait la bonne conformation, il est nécessaire de l'utiliser en milieu basique, ce qui, d'après l'équipe de Shinkai,¹² dégrade l'acétylcholine en choline.

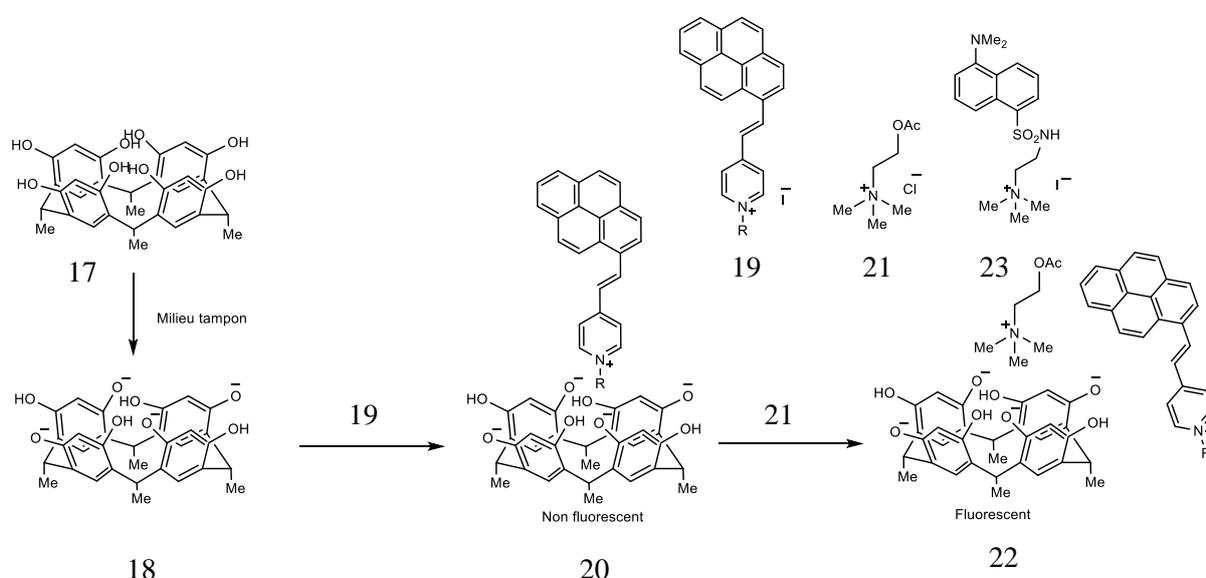


Figure 4 : première sonde fluorescente pour la détection d'ACh

En 2010, l'équipe de Takashi Fujihara a synthétisé le premier resorcin-[4]arène contenant du bore et capable de reconnaître des ions alkyltriméthylammonium avec une constante d'association supérieure à 10^7 M^{-1} dans un mélange DCM/DMSO 9/1 (figure 5).¹³ L'introduction de 4 bores a permis d'étendre la structure facilement et de rendre la molécule fluorescente. Les bores coordonnés sont de bons accepteurs π et permettent une modification des propriétés optiques lors de la complexation avec un invité. La complexation de sels d'ammoniums entraîne un déplacement du spectre d'émission vers le bleu. Ce changement peut se voir à l'œil nu grâce à un changement de couleur.

¹¹ M. Inouye, K. Hashimoto, K. Isagawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 5517-5518

¹² K. Nak Koh, K. Araki, A. Ikeda, H. Otsuka, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 755-758

¹³ Kubo, Y.; Tsuruzoe, K.; Okuyama, S.; Nishiyabu, R.; Fujihara, T. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3604-3606.

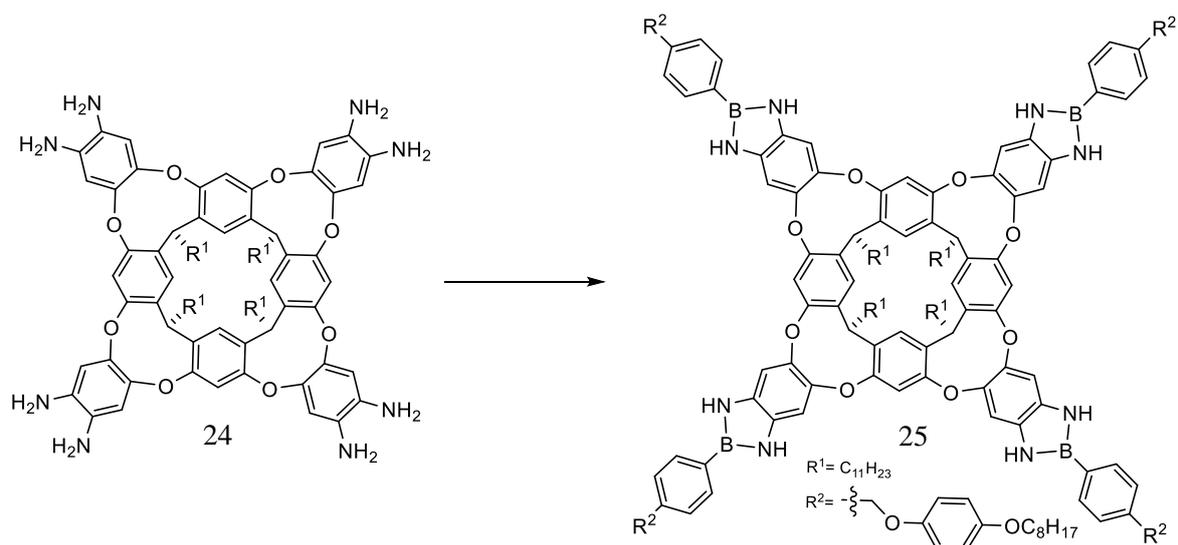


Figure 5: résorcinarène synthétisé par l'équipe de Takashi Fujihara

En 2011, l'équipe de Rebek a synthétisé un récepteur à acétylcholine basé sur les résorcinarènes (figure 6).¹⁴ Ici, un des pans du résorcinarène a été rendu fluorescent par l'introduction d'une benzoquinoxaline. La molécule est composée de 6 amides qui font des liaisons hydrogènes intramoléculaires, ce qui permet de garder la forme de vase et d'avoir une cavité profonde pour la reconnaissance d'analytes. Cette molécule reconnaît l'acétylcholine, qui va venir directement en contact du fluorophore, ce qui va produire un déplacement bathochrome et une augmentation de l'intensité de fluorescence. Ceci est dû à la proximité des cations avec le fluorophore. Cette sonde possède une longueur d'onde d'absorption de 365 nm et une longueur d'onde d'émission de 460 nm ainsi qu'un rendement quantique de 0,24. Cette sonde étant soluble seulement en milieu organique, les études RMN ont été faites dans le chloroforme à 27°C. Le résorcinarène seul a une signature en RMN ¹H caractérisée par des signaux larges à cause de la flexibilité du système. En présence d'ACh, des signaux RMN ¹H fins sont observés, ce qui montre un système plus rigide.

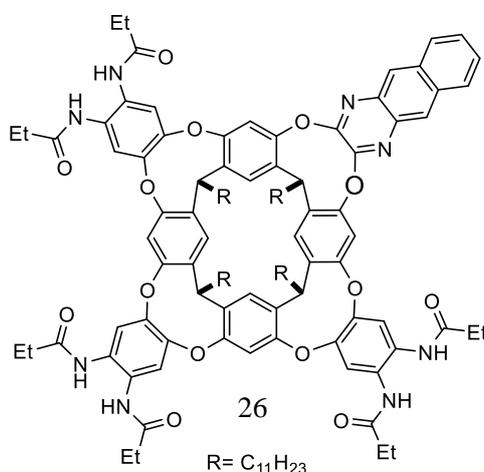


Figure 6: résorcinarène fluorescent développé par Rebek

En 2013, l'équipe de Jean-Pierre Dutasta publie des nouveaux tétraphosphonates fluorescents capables de complexer l'acétylcholine avec de fortes constantes d'associations ($>10^6 \text{ M}^{-1}$) et

¹⁴ O. B. Berryman, A. C. Sather, J. Rebek Jr., *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 19, 5232-5235

d'assez bons rendements quantiques dans le chloroforme (0,26-0,62) (figure 7).¹⁵ L'acétylcholine est bien reconnue grâce à des interactions ioniques avec les phosphonates et grâce aux interactions CH- π favorisées entre le groupe méthyle de l'acétylcholine et la cavité aromatique. Le suivi des concentrations dans le temps de ce neurotransmetteur a pu se faire car, lors de l'ajout d'acétylcholine dans le milieu, une diminution de fluorescence a pu être observée. Une stœchiométrie 1 :1 entre le tétraphosphonate et l'acétylcholine a également été démontrée. Les limites de cette cage apparaissent comme étant une longueur d'onde d'absorption et d'émission faible ($\lambda_{\text{abs}}=290$ nm et $\lambda_{\text{em}}=327$ nm), une solubilité en milieu organique et une diminution de fluorescence ce qui ne facilite pas le suivi de la molécule.

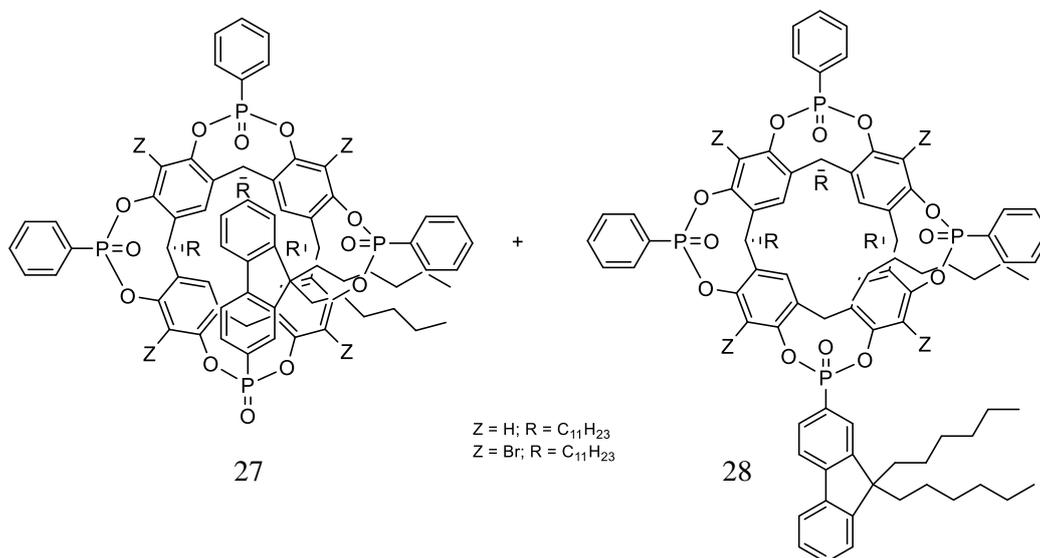


Figure 7: tétraphosphonates synthétisés par l'équipe de J.-P. Dutasta

b) Sondes fluorescentes pour la détection d'acétylcholine basées sur les calixarènes et pillararènes

Les calixarènes et les pillararènes sont également une classe moléculaire fortement représentée. En effet, leur forme de cône leur permet de former une cavité propice à la reconnaissance de différentes espèces moléculaires dont les ammoniums. Différents exemples de récepteurs à acétylcholine utilisant ces molécules vont être présentés.

En 1996, l'équipe de Shinkai a reporté un récepteur fluorescent à acétylcholine basé sur les calixarènes (figure 8).¹⁶ Ils se sont inspirés du travail d'Inouye et ont voulu éviter l'utilisation d'un milieu basique. Pour cela ils ont utilisé un calix[n]arène-p-sulfonates, qui est soluble dans un mélange eau/méthanol 1:1 à pH 8,0 avec des phosphates à 0,1M. Le méthanol est utilisé pour éviter l'agrégation du fluorophore dans l'eau. Dans un premier temps ils ont vérifié que ce calixarène complexait bien le même fluorophore qu'Inouye (ils ont observé une diminution de fluorescence) puis dans un second temps, que l'ajout d'acétylcholine libérait bien le

¹⁵ Mettra, B.; Bretonniere, Y.; Mulatier, J.-C.; Bibal, B.; Tinant, B.; Aronica, C.; Dutasta, J.-P. *Supramol. Chem.* **2013**, 25,672–681.

¹⁶ K. N. Koh, K. Araki, A. Ikeda, H. Otsuka, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 755-758

fluorophore (observation d'une augmentation de fluorescence). L'augmentation de l'intensité de fluorescence a permis de déterminer la constante d'association de cette sonde pour l'acétylcholine qui est de 10^3 M^{-1} . Une sélectivité pour l'acétylcholine par rapport à des acides aminés (possédant des groupes ammoniums primaires ou secondaires) comme la glycine, la proline, la phenylalanine a été obtenue. En effet, aucune augmentation de l'intensité de fluorescence n'a été observée avec les acides aminés, les auteurs ont donc conclu que les constantes d'associations des acides aminés sont plus faibles que celle du fluorophore (placé dans la cavité). La complexation de l'acétylcholine dans la cavité du calixarène a été confirmée par RMN.

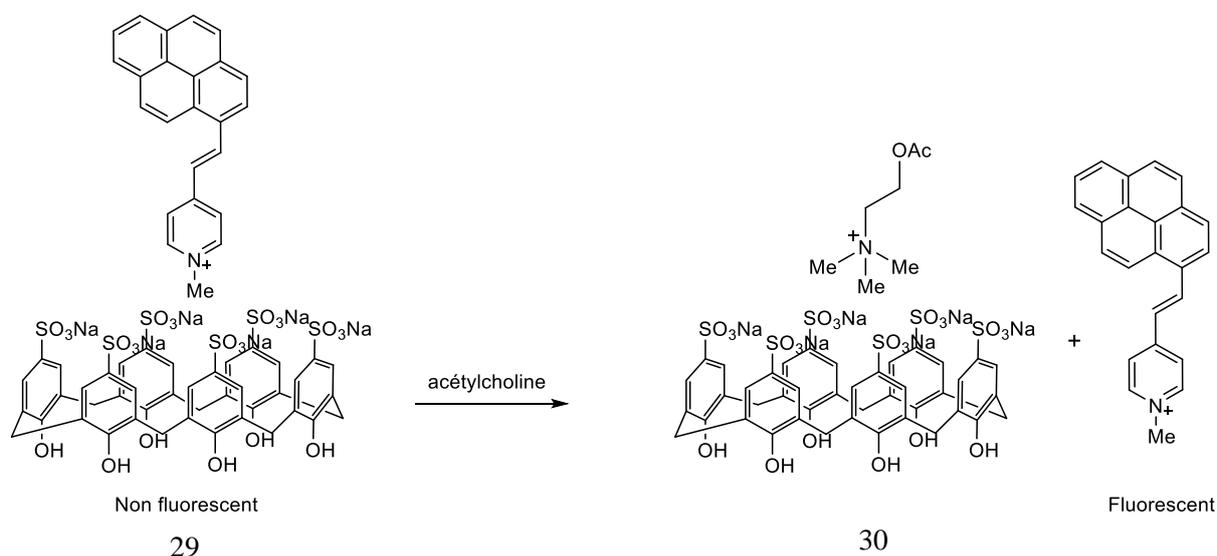


Figure 8: sonde synthétisé par Shinkai et soluble en milieu neutre

En 2010, l'équipe de Takashi Jin a synthétisé un calixarène (figure 9) soluble en milieu tamponné (PBS) capable de détecter l'acétylcholine à une échelle de l'ordre du millimolaire (mM) par déplacement de fluorophore (ici une rhodamine 800) dans la gamme de longueur d'onde du proche infrarouge.¹⁷ La rhodamine est dans un premier temps complexée par le calixarène, limitant son émission, puis lors de l'ajout d'acétylcholine le fluorophore est libéré et une augmentation de l'intensité de fluorescence produite par la rhodamine 800 est observée.

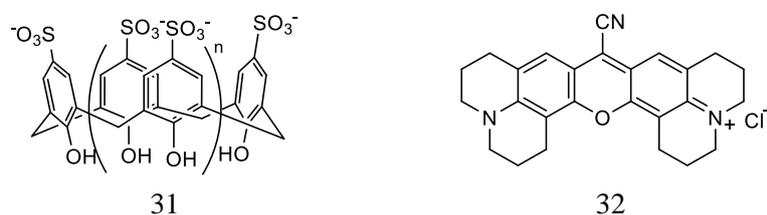


Figure 9: p-sulfonatocalix[n]arenes et rhodamine 800

Un autre calixarène a été développé en 2011 par l'équipe de Werner Nau (figure 10). Il permet de détecter la présence d'acétylcholine et de choline en milieu aqueux (pH 2-8) également par déplacement de fluorophore. Ce calixarène complexe le fluorophore, la lucigénine, avec une forte constante d'association ($2,8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$). Une forte augmentation de fluorescence (deux fois plus grandes que les autres sondes reportées) est observée lorsqu'elle est libérée par l'ajout d'acétylcholine et de choline. Cette méthode a permis de déterminer la concentration de

¹⁷ T. Jin, *Sensors*, **2010**, *10*, 2438–2449

l'acétylcholine et de la choline dans la gamme du micromolaire, dont la gamme de concentration est équivalente en milieu biologique.¹⁸ Cette méthode a permis en 2015 d'obtenir des images de la détection d'acétylcholine et de choline dans des fibroblastes (V79) et des cellules d'ovaire de hamster chinois (CHO).¹⁹

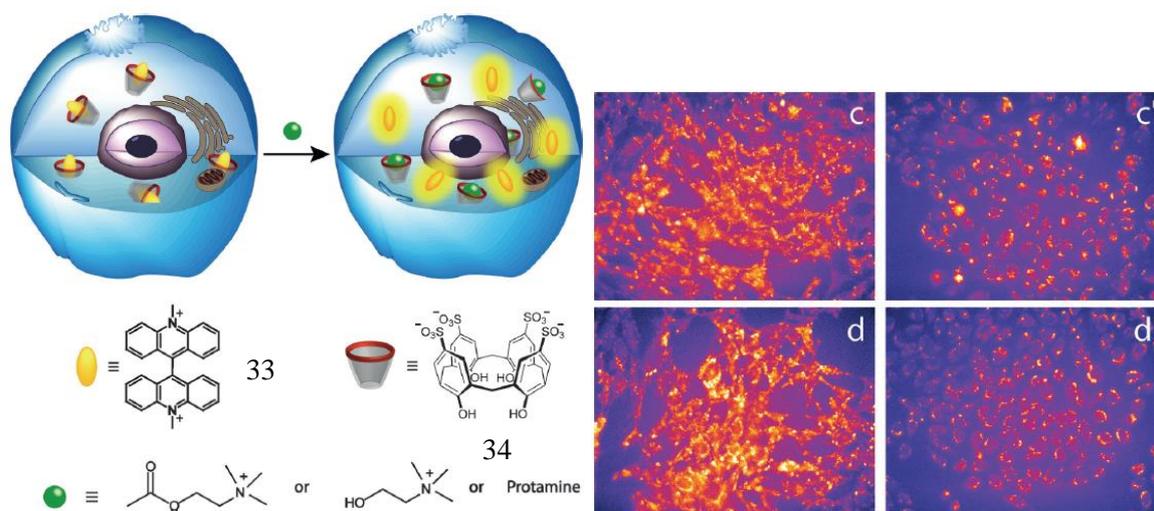


Figure 10 : calixarène développé par l'équipe de Werner Nau et images des cellules V79 (c,d) et des cellules CHO (c',d') en présence du complexe calixarène-lucigénine et d'une solution à 50 mM de choline (c,c') et 50 mM d'acétylcholine (d,d')

Plus récemment, l'équipe de Yang a développé une sonde basée sur le même concept en utilisant un pillararène comme molécule hôte et l'acridine orange comme fluorophore en milieu tampon (PBS) (figure 11).²⁰ Cette sonde reconnaît l'acétylcholine et la choline avec une constante d'association de l'ordre de 10^4 M^{-1} et une sélectivité $K_{\text{ACh}}/K_{\text{Ch}} = 1,5$. Elle ne complexe pas la bétaine qui est le métabolite de la choline. En effet, lorsque l'acétylcholine et la choline sont complexées par la sonde, le fluorophore est libre dans le milieu et émet. Lors de l'oxydation de la choline par la choline oxydase, celle-ci n'est plus reconnue et le fluorophore est à nouveau complexé dans le pillararène, ce qui éteint sa fluorescence. Cette sonde permet donc de détecter l'ACh et la Ch présents dans le milieu.

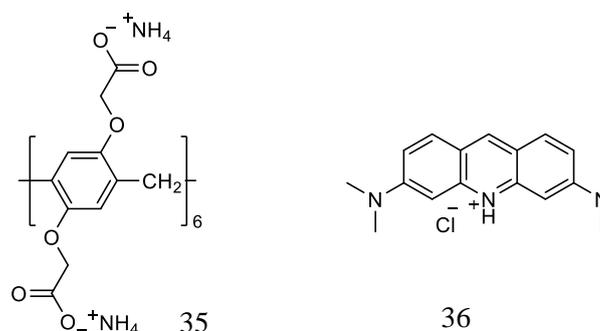


Figure 11: pillar[6]arene développé par l'équipe de Jie Yang

¹⁸ Guo, D.-S.; Uzunova, V. D.; Su, X.; Liu, Y.; Nau, W. M. *Chem. Sci.*, **2011**, 2, 1722–1734.

¹⁹ Norouzi, A.; Azizi, Z.; Nau, W.M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 792-795

²⁰ B. Hua, L. Shao, Z. Zhang, J. Sun, J. Yang, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2018**, 255, 1430-1435

c) Autres types de sondes à acétylcholine ou choline

D'autres structures chimiques permettent également la détection de l'acétylcholine ou de la choline *via* des mécanismes (chimiques et photochimiques) différents. Voici quelques exemples récents de sondes.

Un autre type de sonde pour la détection d'acétylcholine, basé sur une structure nano conjuguée d'oxyde de graphène et de naphthalimide comme groupement fluorescent, a été reporté par l'équipe de Joshy Joseph en 2017 (figure 12).²¹ Ce détecteur est sensible au pH et devient fluorescent en présence d'acide. En effet, la fluorescence des naphthalimides est diminuée à cause d'interactions π - π et d'un transfert d'électron photo-induit (PET) entre le naphthalimide et la structure d'oxyde de graphène. Lorsqu'elle est mise en présence d'acétylcholine et d'acétylcholinestérase, la fluorescence augmente d'un facteur 6. Ceci est dû au fait que lorsque l'acétylcholinestérase transforme l'acétylcholine en choline, la réaction libère de l'acide acétique qui va protoner les atomes d'azote du naphthalimide et les oxygènes de l'oxyde de graphène. Ceci va ainsi bloquer le transfert d'électrons et permettre l'émission du fluorophore. Grâce à cette sonde, ils ont pu détecter en milieu aqueux l'acétylcholine présente jusqu'à une concentration de 50 μ M.

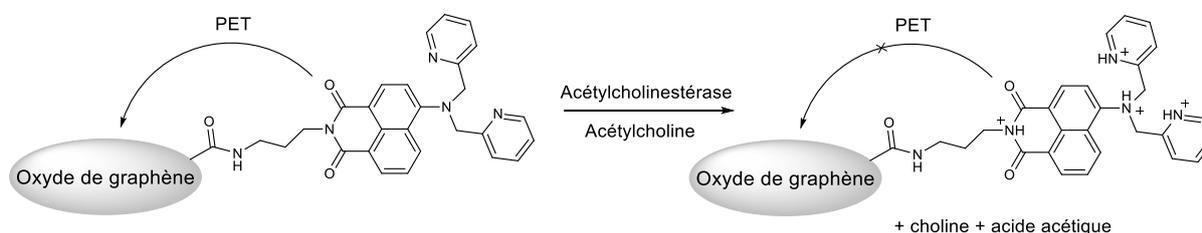


Figure 12 : détecteur à acétylcholine développé par Joshy Joseph

Afin de détecter l'acétylcholine, l'équipe de Kai Johnsson a développé une protéine semi-synthétique ACh-SNIFIT (capteur protéique semi-synthétique fluorescent) (figure 13).²² Cette sonde fluorescente permet de détecter de façon directe et en temps réel la quantité d'acétylcholine ainsi que celle de l'anticholinestérase (substance inhibitrice de la cholinestérase). Cette sonde est basée sur le principe de transfert d'énergie de résonance de Förster (FRET). C'est-à-dire que la molécule est composée d'un accepteur de FRET (Cy5) et d'un donneur de FRET (Cy3). Lors de l'ajout d'un analyte reconnu, l'intensité de fluorescence de l'accepteur (Cy5) diminue et celle du donneur (Cy3) augmente. Cette sonde permet donc de détecter et de quantifier l'acétylcholine présente dans le milieu de cellules vivantes issues de reins humains HEK293. Cependant, une telle molécule ne peut pas être utilisée pour suivre l'acétylcholine en temps réel dans l'espace étant donné qu'elle est fixée par le motif SNAP (permet l'attachement spécifique et covalent d'une molécule à une protéine d'intérêt) sur la surface des cellules vivantes. De plus, le temps de passage de sa forme fermée à sa forme ouverte est de l'ordre de la seconde, ce qui limite son utilisation dans le suivi des mécanismes biologiques plus rapide de l'ordre de la milliseconde.

²¹ S. Mangalath, S. Abraham, J. Joseph, *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 11404 – 11409

²² A. Schena and K. Johnsson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, 53, 1302 – 1305

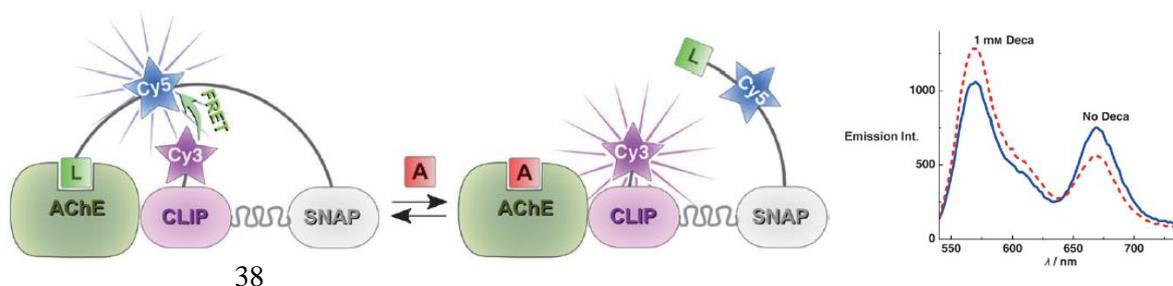


Figure 13 : sonde ACh-SNIFIT développé par l'équipe de Kai Johnsson et spectre d'émission de fluorescence de ACh-SNIFIT-D en présence (rouge pointillée) et en absence d'invité (bleue)

En 2016, l'équipe de Chunju Li a synthétisé le premier biphen[4]arène contenant des groupements carboxylates et soluble en milieu aqueux (figure 14).²³ Ses facultés de complexation ont été étudiées par RMN avec différents cations (différence de déplacements chimiques allant de 0,56 à 0,77 avec la choline) et ont pu montrer une certaine sélectivité entre l'acétylcholine et la choline ($K_{ACh}/K_{Ch} = 3,3$) tandis que la bêtaïne n'est pas reconnue. Des études de RMN 2D NOESY ainsi que des études thermodynamiques menées grâce à un titrage microcalorimétrique isotherme ont permis de déterminer que les cations formaient bien un complexe avec le biphen[4]arène. Cette sonde est celle montrant la plus grande sélectivité en faveur de l'acétylcholine par rapport à la choline en milieu aqueux.

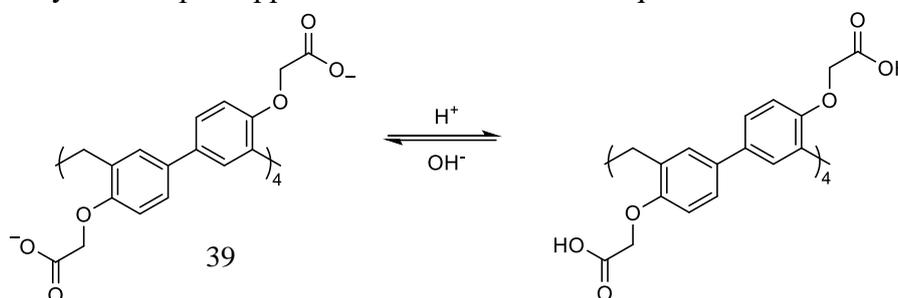
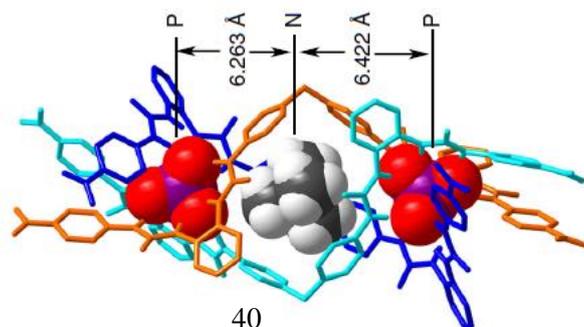


Figure 14: biphen[4]arene synthétisé par Chunju Li

La nature arrive parfaitement à reconnaître les différents neurotransmetteurs de façon sélective grâce à des enzymes comme la choline oxydase (Chox), reconnaissant la choline et non l'acétylcholine. En 2017, l'équipe de Biao Wu a développé une structure auto-assemblée triple anion hélicate mimant la structure naturelle de la Chox (figure 15). A l'aide de cette structure, ils ont pu détecter de façon sélective la choline par rapport à l'acétylcholine ($K_{choline}/K_{acetylcholine} > 15$). Leur étude a été menée par déplacement de fluorophore et a permis de calculer les constantes d'associations à partir des courbes de titrations.²⁴ Cette étude montre une grande avancée dans la détection sélective d'espèces biologiques, et comme de nombreuses autres publications, la sélectivité est en faveur de la choline. En effet, la détection de façon sélective de l'acétylcholine par rapport à la choline est une chose encore très peu étudiée et seulement quelques exemples de sondes allant dans ce sens ont été publiés.

²³ J. Ma, Q. Meng, X. Hu, B. Li, S. Ma, B. Hu, J. Li, X. Jia, C. Li, *Org. Lett.*, **2016**, *18*, 5740–5743

²⁴ C. Jia, W. Zuo, D. Yang, Y. Chen, L. Cao, R. Custelcean, J. Hostaš, P. Hobza, R. Glaser, Y-Y. Wang, X-J. Yang and B. Wu. *Nat. Commun.*, **2017**, *8*, 938



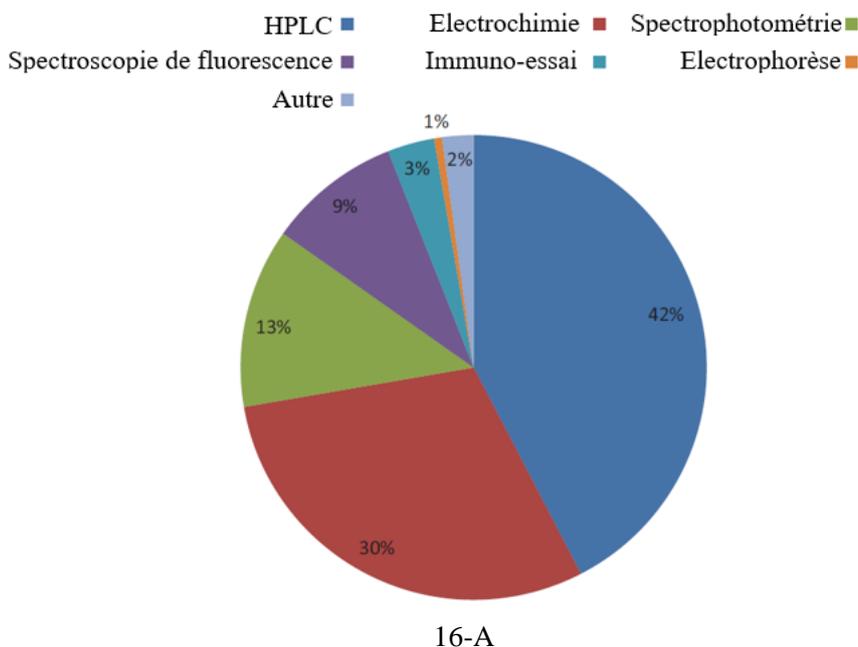
40
 Figure 15 : triple anion helicate développé par Biao Wu

Du fait de leur propriété à complexer différents types de molécules (anions, cations, neutre), les cavitands ont été largement utilisés comme sondes fluorescentes pour la détection d'acétylcholine de façon indirecte.²⁵ Cette méthode est la plus utilisée et de nombreuses publications y font références de par sa simplicité de mise en œuvre et sa simplicité de détection. Même si cette technique permet de détecter et de quantifier la présence d'acétylcholine dans le milieu, elle ne permet pas de suivre en temps réel la molécule. En effet, ce que l'on suit est le fluorophore qui a été déplacé de la cavité de l'hôte.

²⁵ B. Bibal, *supramol. Chem.*, **2017**, 243-254

C- Méthodes de détection des catécholamines

Dans une revue de M. V. Gorbunova publiée en 2018, les différentes méthodes pour détecter les catécholamines sont comparées (figure 16-A).²⁶ On peut voir que l'HPLC ainsi que l'électrochimie sont largement représentées dans la littérature.^{27,28,29,30,31} Cependant, il existe également d'autres méthodes comme la spectrophotométrie et la spectroscopie de fluorescence. Dans cette même revue, la répartition, en pourcentage des différentes catécholamines ciblées, est donnée (figure 16-B). La majorité des méthodes de détection vise à détecter l'adrénaline. La détection de la dopamine et de la noradrénaline a également suscité un grand intérêt. Les méthodes sont principalement électrochimiques et les méthodes par fluorescence sont bien moins représentées.



²⁶ M. V. Gorbunova, S. V. Gutorova, D. A. Berseneva, V. V. Apyari, V. D. Zaitsev, S. G. Dmitrienko, Y. A. Zolotov, *Applied Spectroscopy Reviews*, **2018**, DOI:10.1080/05704928.2018.1470980

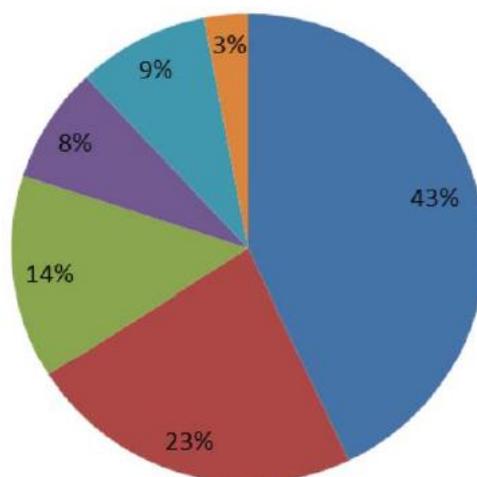
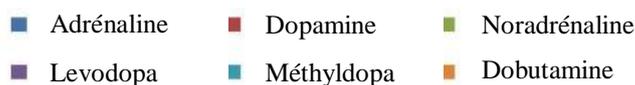
²⁷ Bicker, J., Fortuna, A., Alves, G., and Falcao, A., 2013, *Anal. Chim. Acta* 768, 12–34

²⁸ Yoshitake, T., Kehr, J., Todoroki, K., Nohta, H., and Yamaguchi, M., *Biomed. Chromatogr.*, **2006**, 20, 267–281.

²⁹ Ramachandran, R., Chen, T.-W., Chen, S.-M., Gnana Kumar, G. P., Chinnasamy, M., Devi, N. B., Tseng, T.-W., *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2017**, 12, 1572–1588

³⁰ Ribeiro, J. A., Fernandes, P. M. V., Pereira, C. M., and Silva, F., *Talanta*, **2016**, 160, 653–679

³¹ Jeon, J., Hwang, I., and Chung, T.D., *Biomed. Eng. Lett.*, **2016**, 6, 123–133.



16-B

Figure 16 : Répartition des méthodes de détection de catécholamines (16A) et des catécholamines détectées (16B)

a) Sondes à catécholamines indirectes

Dans la littérature, beaucoup de méthodes de détection sont basées sur les propriétés de réduction des catécholamines. Voici un exemple récent, publié par l'équipe de Gorbunova en 2016, où les catécholamines sont détectées de façon rapide et dont la mise en œuvre ainsi que la visualisation sont faciles (Figure 17).³² La formation d'agrégats d'or et d'argent permet la détection de catécholamine. En effet, lorsque les ions AgNO_3 se trouvent dans un milieu en présence de catécholamines, ils vont oxyder ces dernières en quinones. Les ions argent réduits vont ensuite former un amalgame avec les agrégats d'or. La formation de ces amalgames se voit par TEM (microscopie à transmission d'électron), ils induisent également un déplacement hypsochrome de la longueur d'onde d'absorption ainsi qu'une augmentation du spectre d'absorption du milieu et un changement de couleur (passe du violet au vert). La limite de détection de ce système est de $13 \mu\text{g.L}^{-1}$. Cependant, ce système ne différencie pas les catécholamines entre elles et il reconnaît également l'hydroquinone. Il permet donc de détecter les catécholamines et peut servir à l'analyse de médicaments mais pas à suivre ces neurotransmetteurs en milieu biologique.

³² M.V. Gorbunova, V.V. Apyari, S.G. Dmitrienko, A.V. Garshev, *Anal. Chim. Acta.*, **2016**, 936, 185-194

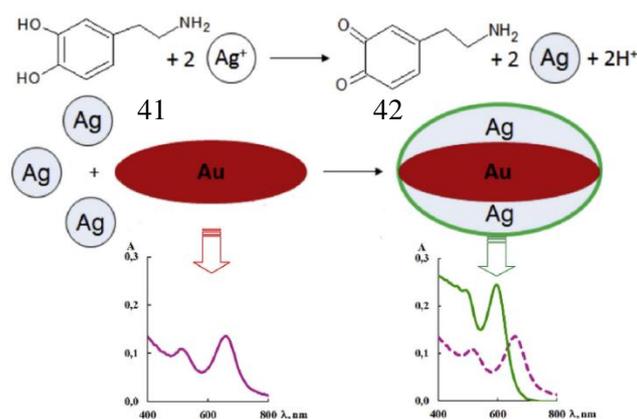


Figure 17 : Schéma du fonctionnement de la sonde

Récemment, l'équipe de Caixia Yin a développé une sonde fluorescente pour la détection spécifique de noradrénaline par rapport à la dopamine ou à l'épinéphrine (figure 18).³³ Cette sonde résulte d'un couplage entre une fluorescéine et des thiophénols. Ce composé n'est pas fluorescent. En présence de noradrénaline l'amine de la noradrénaline va s'additionner sur le carbonyle de la sonde, libérant le thiophenol. L'alcool va alors attaquer de façon intramoléculaire le carbonyle du carbamate précédemment obtenu. Cette addition est suivie de l'élimination du fluorophore qui va émettre à une longueur d'onde de 530 nm. Cette sonde a été testée en milieu aqueux (PB/DMSO) puis sur des tissus de cerveau. Des neurones noradrénergiques et dopaminergiques sont comparés par les auteurs. Seule la noradrénaline est détectée par cette sonde, prouvant bien sa sélectivité. Celle-ci est due à la nécessité de faire deux attaques nucléophiles (l'amine attaque d'abord de façon intermoléculaire puis l'alcool va attaquer de façon intramoléculaire) pour libérer le fluorophore. Néanmoins, cette méthode modifie la noradrénaline, ce qui va perturber son fonctionnement.

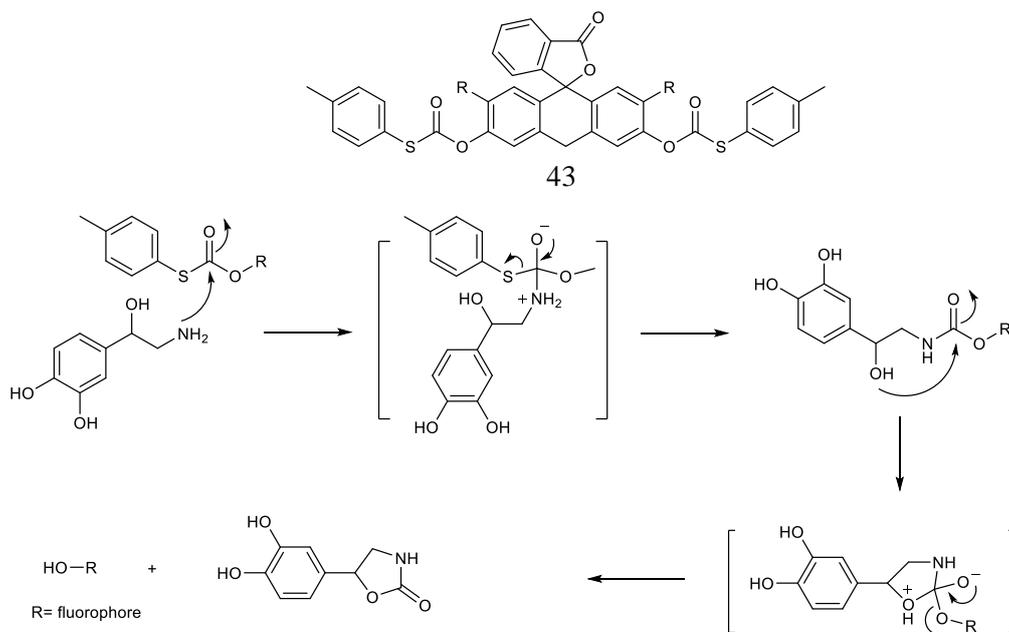


Figure 18 : sonde fluorescente basée sur la fluorescéine et son mécanisme d'action

³³ Y. Yue, F. Huo, C. Yin, *Anal. Chem.*, **2019**, *91*, 2255–2259

Une autre classe de détecteurs pour les neurotransmetteurs est basée sur la modification de protéine (utilisation de récepteur humain pour la dopamine) : il s'agit des indicateurs génétiquement modifiés. En 2018, l'équipe de Patriarchi reporte dans *Science* un détecteur de ce type pour la détection de la dopamine.³⁴ Ce détecteur, appelé dLight1 (figure 19) se place dans la membrane cellulaire (cellules neuronales). Le détecteur est excitable à un photon ($\lambda_{em}=516$ nm) et à deux photons ($\lambda_{em}=920$ nm) grâce à l'introduction d'un motif GFP (protéine fluorescente verte). Il permet de détecter la concentration en dopamine dans le milieu avec une affinité de l'ordre du nanomolaire grâce à une augmentation de l'intensité de fluorescence de 200% lorsque l'indicateur dLight1 est au contact de la dopamine, permettant une réponse rapide (10 ms). De plus, ce détecteur possède une très bonne sélectivité pour la dopamine par rapport à la norépinéphrine et l'épinéphrine de 70 et 40 respectivement. Cependant, cette protéine étant localisée dans la membrane cellulaire, elle ne permet pas de suivre la dopamine.

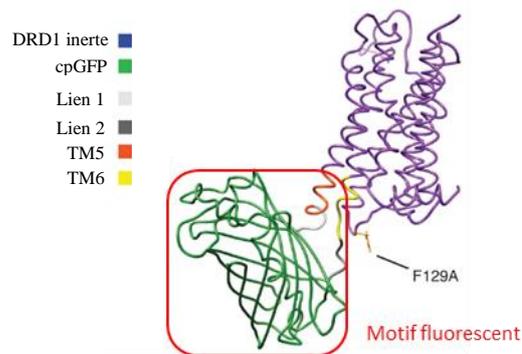


Figure 19 : structure simulée de dLight1

b) Sondes à catécholamines par dérivation chimique

L'équipe de Sudipta Maiti s'est beaucoup intéressée à la détection de monoamines comme la dopamine et la sérotonine.

En 2017, ils ont développé la première technique d'images sans sonde pour mesurer le changement de concentration de la sérotonine à l'intérieur des vésicules dans des cellules vivantes (figure 20).³⁵ Ils avaient reporté en 1997 pour la première fois, la visualisation de la sérotonine grâce à l'utilisation de l'excitation à trois photons.³⁶ Ils ont pu observer que lors de l'ajout de sérotonine, la fluoxetine (bloqueur de transporteur de sérotonine) bloque bien l'augmentation de la sérotonine. Cependant, leur technique ne fonctionne que dans la gamme de concentration de 10-150 nM. Au-delà de cette concentration, la sérotonine forme des oligomères et ne peut plus absorber les photons émis à 360 nm. La concentration dans les vésicules étant de l'ordre de la centaine de millimolaire, les images ne peuvent être obtenues qu'au moment du remplissage des vésicules où la concentration en sérotonine est plus faible.

³⁴ T. Patriarchi, J. Ryan Cho, K. Merten, M. W. Howe, A. Marley, W-H. Xiong, R. W. Folk, G. Joey Broussard, R. Liang, M. Jee Jang, H. Zhong, D. Dombeck, M. von Zastrow, A. Nimmerjahn, V. Gradinaru, J. T. Williams, L. Tian, *Science*, **2018**, *360*, 1420

³⁵ A. K. Das, B. K. Maity, D. Surendran, U. Tripathy, S. Maiti, *ACS Chem. Neurosci.* **2017**, *8*, 2369-2373

³⁶ Maiti, S., Shear, J. B., Williams, R. M., Zipfel, W. R., and Webb, W. W. *Science*, **1997**, *275*, 530-532

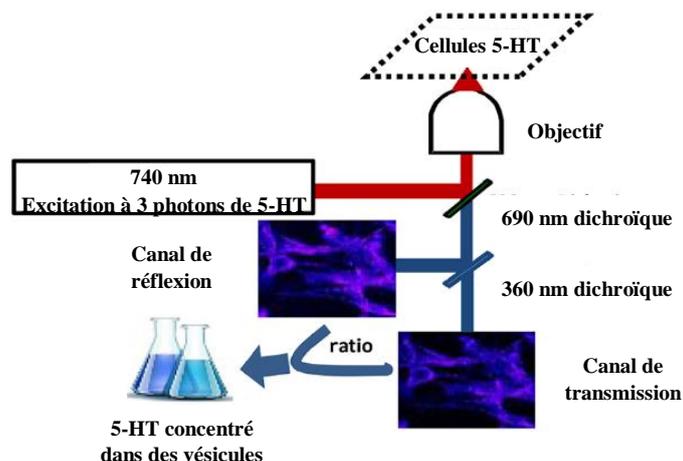


Figure 20 : représentation schématique de l'installation optique pour l'imagerie ratiométrique de la sérotonine

Puis en 2018, ils ont utilisé une sonde fluorescente à un photon pour la détection de neurotransmetteurs monoamines (MNT) (dopamine, norépinephrine, *L*-dopa, sérotonine) *in vitro* et dans des cellules *ex-vivo*.³⁷ L'ortho-phthalaldéhyde (OPA) forme un isoindole avec les MNT (figure 21). Le produit de la réaction (l'adduit OPA-MNT) est fluorescent. Des tests *in vitro* avec cette sonde ont été réalisés. Une étude par spectrométrie de masse a également été menée, les produits attendus dans le cas de la sérotonine ont été observés contrairement à la dopamine.

Ils ont ensuite étudié leur sonde *ex-vivo* sur des cellules vivantes dopaminergiques et sérotoninergiques. Ils ont pu observer la formation de molécules fluorescentes par microscopie confocale, montrant également que l'OPA passe les membranes. Ils ont extrait les cellules et observé par spectrométrie de masse les mêmes résultats qu'*in vitro* et noté que leur sonde n'était pas cytotoxique à 100 μ M en faisant un dosage MTT (dosage colorimétrique pour évaluer l'activité métabolique cellulaire) à différentes concentrations. Grâce à cette méthode, ils ont pu détecter les monamines présentes dans le milieu en utilisant la microscopie de fluorescence à un photon.

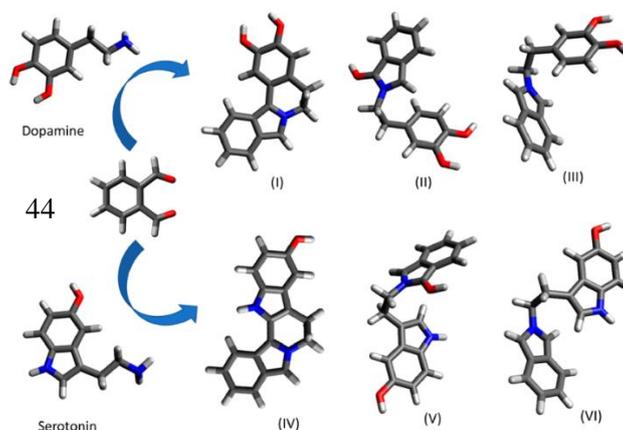


Figure 21: produits possibles de la réaction entre MNT et OPA

³⁷ K. Bera, A. K. Das, A. Rakshit, B. Sarkar, A. Rawat, B. K. Maity, S. Maiti, *ACS Chem. Neurosci.*, **2018**, 9, 469–474

En 2004, une méthode fluorimétrique de détection directe de l'épinéphrine et de la norépinéphrine avec une grande sensibilité a été développée par l'équipe d'Aiqin Du.³⁸ Cette méthode consiste à former un fluorophore (composé **48**, figure 22) avec la norépinéphrine et l'épinéphrine en le faisant réagir avec du formaldéhyde et du potassium hexacyanoferrate (III). Ce fluorophore possède une longueur d'onde d'absorption de 428 nm et une longueur d'onde d'émission de 498 nm. Cette sonde détecte la norépinephrine et l'épinéphrine pour des concentrations allant de $1,4 \times 10^{-9}$ à $2,1 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹. La limite de détection de cette sonde est de $2,4 \times 10^{-10}$ mol.L⁻¹. Les auteurs ont donc fait de la détection dans des échantillons d'urine et de sérum humain avec une précision de 98-99 % pour la détection d'épinéphrine. Cette sonde n'est néanmoins pas sélective d'un seul composé. Cette méthode permet donc de déterminer avec sensibilité la présence d'épinéphrine ou de norépinéphrine dans une solution mais en modifiant complètement la structure du neurotransmetteur, ce qui va perturber son fonctionnement et ne peut donc pas être utilisée pour le suivre et comprendre son fonctionnement dans le système nerveux central.

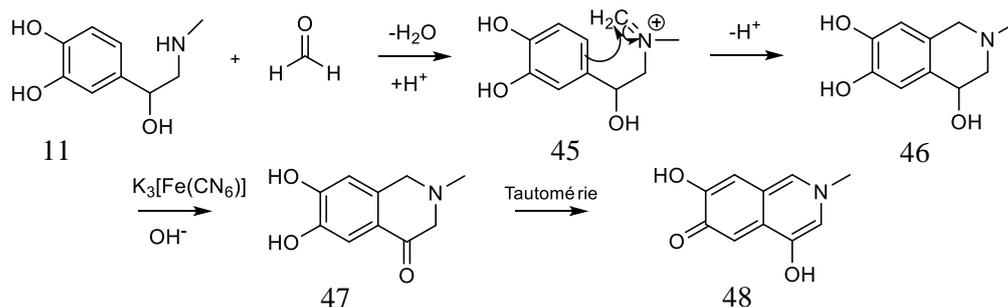


Figure 22: Mécanisme possible de formation du fluorophore

Une méthode similaire a été utilisée pour la détection de sérotonine.³⁹ Les méthodes de détection de ce neurotransmetteur se font principalement par détection des propriétés intrinsèques d'absorbance de la sérotonine ou par modification de sa structure pour le rendre fluorescent.

c) Nanoparticules et quantum dots pour la détection de catécholamines

En 2015, un autre type de sonde pour la dopamine a été utilisé par l'équipe de Jun-Jie Zhu (figure 23).⁴⁰ Des particules d'or fonctionnalisées par des cyclodextrines sont utilisées pour la détection de dopamine par luminescence. La sonde seule est luminescente et lorsque de la dopamine est complexée par la cyclodextrine, la luminescence est éteinte à cause d'un transfert d'électron. Cette sonde possède des longueurs d'ondes d'absorption de 375 nm et d'émission de 510 nm. Elle permet de détecter la dopamine à partir de 2 nM. Des tests ont été effectués sur des échantillons de sérum humain (dont la concentration est connue) et il a été possible de déterminer leur concentration en dopamine avec une précision comprise entre 92% et 103% (valeur de la concentration obtenue avec cette méthode par rapport à la concentration indiquée

³⁸ Y. Guo, J. Yang, X. Wu, A. Du, *J. Fluoresc.*, **2005**, *15*, 2, 131-136

³⁹ Q. Peng, C. Jiang, *J. Fluoresc.*, **2007**, *17*, 339-343

⁴⁰ R. Ban, E. S. Abdel-Halim, J. Zhang, J.-J. Zhu, *Analyst*, **2015**, *140*, 1046

des échantillons). Cette sonde permet donc la détection de dopamine avec une grande sensibilité mais aucune sélectivité par rapport à ses autres dérivés n'est discutée.



Figure 23: représentation du mécanisme de détection de la DA

Le même type de sonde composée de nanoparticules d'or (AuNP) et de β -cyclodextrine (β -CD) pour la détection de dopamine a été développé par l'équipe de Guobao Xu en 2018 (figure 24).⁴¹ Cette sonde est basée sur les interactions supramoléculaires et une extinction de fluorescence. Ces nanoparticules d'or sont de petite taille (< 2 nm), ont une bonne longueur d'onde d'émission ($\lambda_{em} = 450$ nm) et détecte la dopamine jusqu'à une concentration de 20 nM. Les nanoparticules sont beaucoup utilisées pour leur excellente photostabilité, leur bonne biocompatibilité et une large gamme de longueurs d'ondes d'émissions. Les cyclodextrines, quant à elles, sont des macrocycles composés de sept α -D-glucopyranosides. Ces structures possèdent une cavité hydrophobe, permettant la formation de complexe hôte-invité, et une surface hydrophile (soluble dans l'eau). De plus, ils sont disponibles commercialement, non toxiques, écologiques et sont des complexes hôte-invité spécifiques.

La sonde AuNP- β -CD reconnaît la dopaquinone. La sonde va catalyser l'oxydation de la dopamine en dopaquinone, ce qui va la rendre hydrophobe et lui permettre d'être reconnue par les cyclodextrines. La fluorescence de la sonde est alors éteinte, ce qui est dû à un transfert d'électron photo-induit (PET). Ce système est sélectif de la dopamine parmi 24 autres analytes biologiques testés mais aucune étude concernant l'adrénaline et la noradrénaline n'a été menée. Pour finir, cette sonde a été testée sur des échantillons de sang humains et a permis de détecter la dopamine présente dans le milieu.

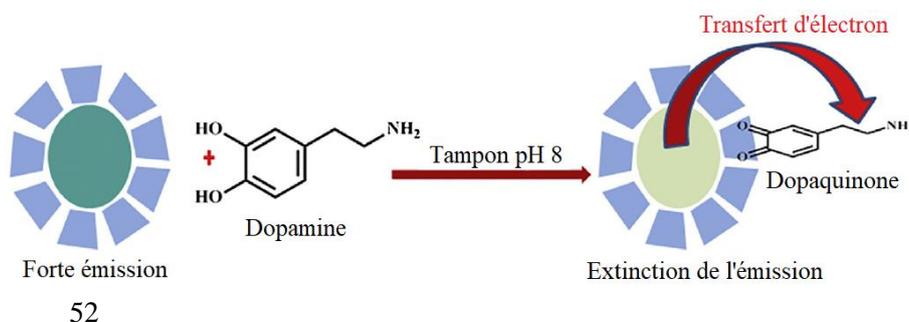


Figure 24 : mécanisme de reconnaissance de la sonde AuNP- β -CD

⁴¹ M. I. Halawa, F. Wua, T. H. Fereja, B. Loua, G. Xu, *Sensors and Actuators B*, **2018**, 254, 1017–1024

Dans la littérature, les quantum dots sont largement utilisés pour la détection de dopamine. En 2016, l'équipe de Shulin Zhao a reporté un quantum dots de graphène (GQD) pour la détection de ce neurotransmetteur (figure 25).⁴² Il possède des longueurs d'ondes d'absorption de 360 nm et d'émission de 453 nm ainsi qu'une bonne photostabilité. Lors de l'ajout de dopamine, l'intensité de fluorescence du GQD, qui était intense, est fortement diminuée à cause d'un transfert d'électron entre le GQD et la dopaquinone (intensité 6 fois moins intense). La limite de détection a été déterminée à 90 nM et une sélectivité pour la dopamine par rapport à d'autres espèces comme l'acide ascorbique ou l'acide urique (dont les potentiels d'actions sont proches de la dopamine) a été observée. Dans des échantillons de sérum humain, une bonne précision de détection allant de 98% à 106% a été obtenue. Ce type de sonde permet donc la détection de dopamine mais là encore, aucune sélectivité par rapport aux autres catécholamines n'est discutée. De plus, les GQD possédant une grande taille (100 nm environ), ils ne peuvent être utilisés dans la fente synaptique (100 nm) qui ne possède pas une taille suffisante.

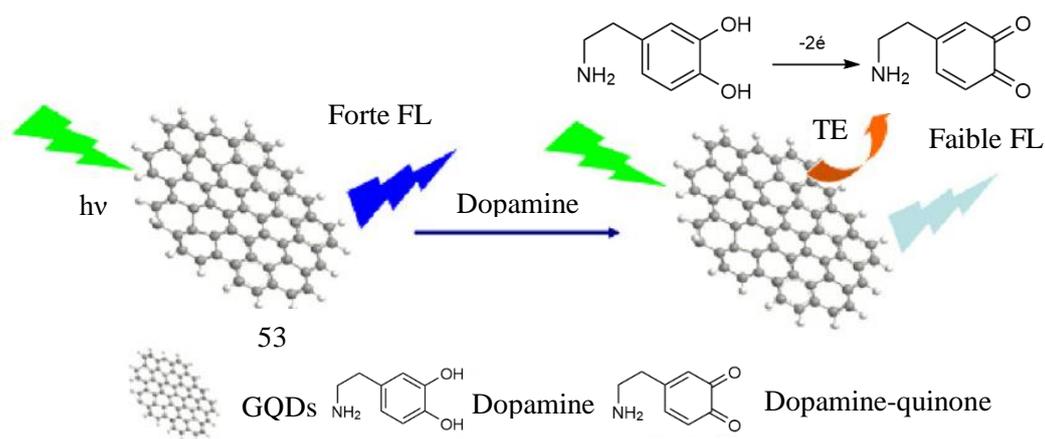


Figure 25 : mécanisme de reconnaissance de la dopamine par le GQD

En 2019, l'équipe de Malik Maaza a publié une sonde multicanale (sonde possédant 3 longueurs d'ondes d'émissions) pour la détection de catécholamines (figure 26).⁴³ Pour cela, des quantum dots (QD) connus pour posséder de très bons rendements quantiques ont été utilisés. Ils ont une taille modifiable et de larges plages de longueurs d'ondes d'émissions. L'équipe de Maaza a donc mixé trois quantum dots différents pour former une sonde composée d'un quantum dots bleu, d'un vert et d'un rouge qui émettent respectivement à 450 nm, 520 nm et 630 nm en étant excités à 365 nm. Chaque analyte (dopamine (DA), noréphédrine (NE), L-dopa (LD), acide ascorbique (AA)) différent éteint la fluorescence d'un QD spécifique permettant une reconnaissance sélective. Cependant, ils n'observent pas de sélectivité entre la dopamine et la L-Dopa). Selon les auteurs, cette sélectivité peut être due aux structures différentes des catécholamines, qui lorsqu'elles sont oxydées, vont polymériser. Les polymères vont permettre ou non le transfert d'électrons avec le QD. Ce phénomène est visible à l'œil nu ainsi que par spectrofluorimétrie. Les tests de détection des analytes ont été faits dans une gamme de concentration allant de 5 μ M à 100 μ M. Afin qu'une telle sonde fonctionne, il ne faut pas que les longueurs d'ondes d'émissions se recouvrent pour pouvoir différencier les couleurs et donc

⁴² J. Zhao, L. Zhao, C. Lan, S. Zhao, *Sensors and Actuators B*, **2016**, 223, 246–251

⁴³ S. Abbasi-Moayeda, M. R. Hormozi-Nezhad, M. Maaza, *Sensors & Actuators: B. Chemical*, **2019**, 296, 126691

l'analyte reconnu. Cette sonde a été utilisée, avec une bonne efficacité, pour la détection et l'identification de différents analytes dont la dopamine dans des échantillons d'urine.

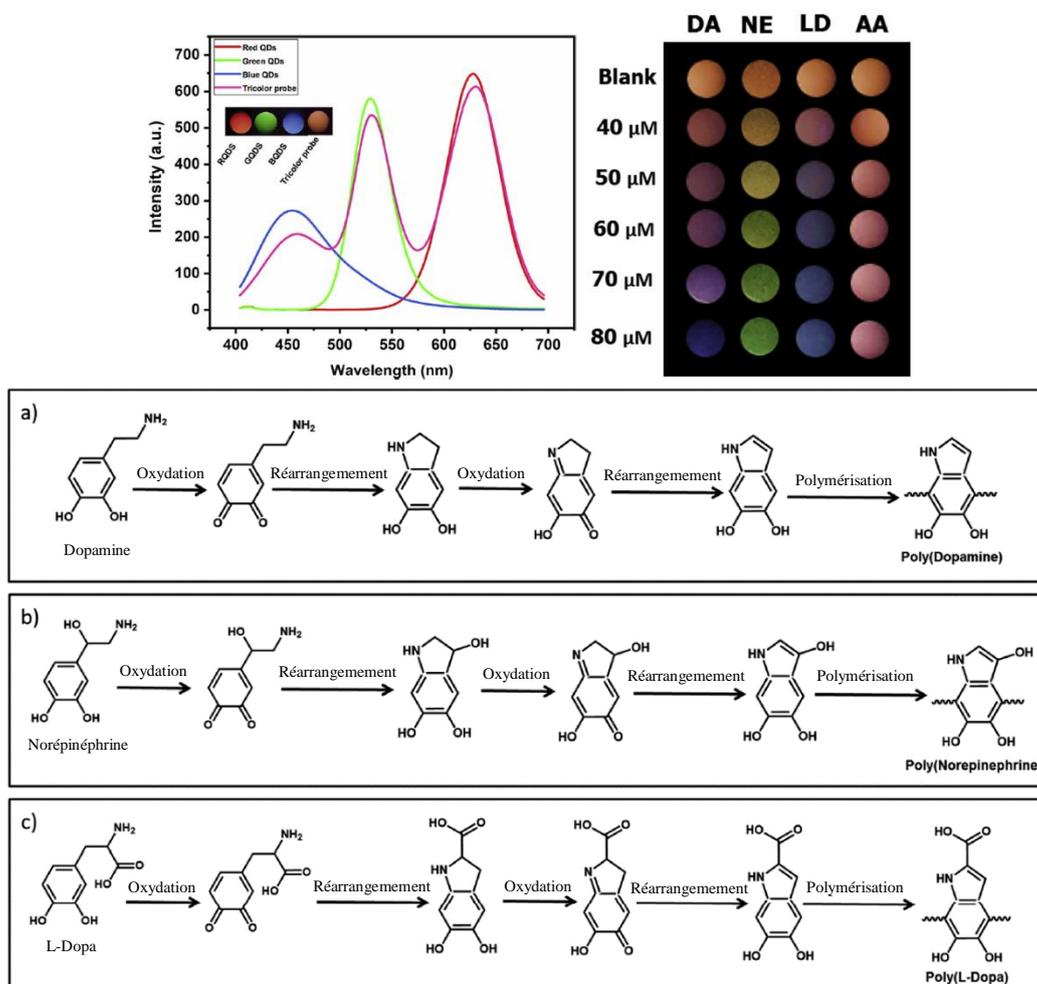


Figure 26 : Spectre de fluorescence de QD rouge, vert et bleu et de la sonde tricolore ainsi qu'une image de la sonde tricolore en présence des différents analytes et les mécanismes de polymérisation des différentes espèces

d) Sondes directes

L'équipe de Oren Scherman a décrit en 2014 une sonde fluorescente soluble en milieu aqueux pour la dopamine en utilisant un cucurbit[8]uril (CB[8]) comme hôte (figure 27).⁴⁴ Il a été montré que les CB [8] pouvaient former des complexes 1:1:1 avec différents invités dont des fluorophores comme ici avec un perylene diimide (PDI). Il est intéressant de noter que dans ce cas, la fluorescence du fluorophore complexé est augmentée par rapport à sa forme libre en empêchant le π -stacking et que celle-ci est diminuée lors de l'ajout du second invité. Le complexe CB[8]-PDI est donc capable de reconnaître la dopamine par extinction de fluorescence avec une constante d'association de 10^6 M^{-1} et jusqu'à une concentration de $2 \times 10^{-5} \text{ M}$. Une bonne sélectivité pour la dopamine a également été observée par rapport à la norépinéphrine et à l'épinéphrine qui possèdent un groupement hydroxyle qui provoque un

⁴⁴ S. Kasera, Z. Walsh, J. del Barrio, O. A. Scherman, *Supramol. Chem.*, **2014**, 26, 3–4, 280–285

encombrement stérique ou des interactions non favorables. En effet, la norépinéphrine n'est pas reconnue tandis que l'épinéphrine est mille fois moins reconnue.

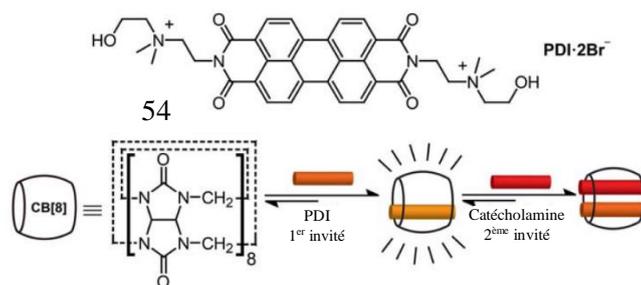


Figure 27 : Structure de PDI et schéma du complexe CB[8]-PDI-DA

En 2017, l'équipe de Xiang Zhang a développé un pillar[5]arène capable de complexer le chlorhydrate de dopamine (figure 28).⁴⁵ La reconnaissance de la dopamine a été suivie grâce à la fluorescence émise par la dopamine en milieu aqueux. Lors de la complexation de la dopamine par le pillararène, la fluorescence de la dopamine est éteinte. Un complexe de stoechiométrie 1:1 a été observé. La constante d'association est de $2,3 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}$. Différents paramètres faisant varier la reconnaissance ont également été étudiés comme le pH, la température ainsi que le temps de réaction entre le pillararène et la dopamine. Cette sonde a été utilisée dans des échantillons d'urine et les résultats ont été en accord avec les résultats théoriques. La dopamine n'émettant pas à hautes longueurs d'ondes, ce système possède certaines limitations. De plus, aucune sélectivité n'est discutée par rapport à l'adrénaline ou la noradrénaline.

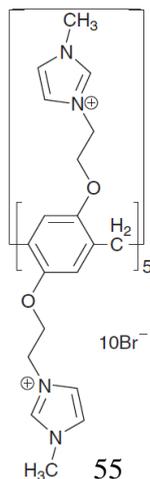


Figure 28 : pillar[5]arene reconnaissant la dopamine

L'équipe de Timothy Glass, qui travaille sur le développement de sondes fluorescentes directes par liaison covalente pour la détection d'espèces biologiques a reporté différentes sondes aux cours de ces dernières années. A partir de 2004, ils reportent une sonde basée sur une coumarine qui permet de reconnaître les catécholamines comme l'épinéphrine, la norépinéphrine et la dopamine (figure 29).⁴⁶ Seulement, cette sonde fonctionne selon un mécanisme « turn-on/turn-

⁴⁵ X-D. Xiao, L. Shi, L-H. Guo, J-W. Wang, X. Zhang, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2017**, 173, 6–12

⁴⁶ K. E. Secor, T. E. Glass, *Org. Lett.*, **2004**, 6, 21, 3727-3730

off », la fluorescence de la sonde étant éteinte par le catéchol. Lors de la complexation, un transfert d'électrons se produit entre le motif catéchol et la coumarine, ce qui éteint la fluorescence.

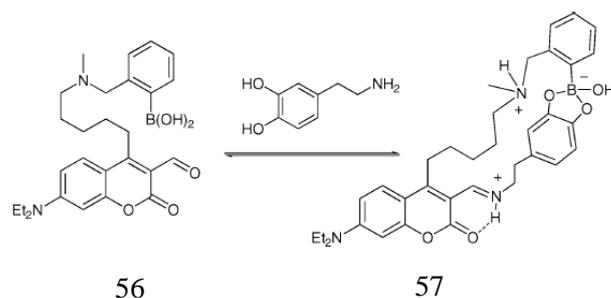


Figure 29 : sonde « turn-off » à catécholamines

Puis en 2013, ils publient une sonde fonctionnant cette fois-ci selon un mode « turn-off/turn-on », et reconnaissant les mêmes neurotransmetteurs que précédemment mais avec une moins bonne affinité (figure 30).⁴⁷ Ceci est dû à l'absence d'acide boronique, qui permet de faire des liaisons avec les motifs catéchols.

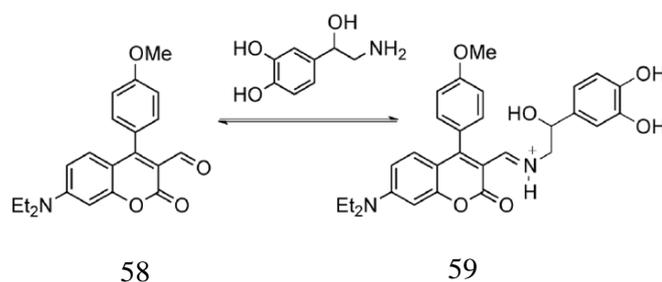


Figure 30 : sonde « turn-on » à catécholamines

Ce n'est que très récemment qu'ils ont reporté une nouvelle sonde fluorescente pour la détection de catéchols combinant les avantages et en s'affranchissant des défauts des deux précédentes sondes.⁴⁸ Cette nouvelle sonde est basée sur une quinolone comme groupement fluorescent, plus riche en électrons que la coumarine **58** précédemment utilisée ce qui évite à la fluorescence d'être éteinte par le catéchol riche en électrons (figure 31). Elle possède également un acide boronique ainsi qu'un aldéhyde pour la reconnaissance de norépinéphrine notamment. Une bonne constante d'association a été déterminée avec cette sonde pour la norépinéphrine ($K_a = 1,35 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) et une intensité de fluorescence qui augmente lors de la reconnaissance de la norépinéphrine alors qu'elle diminue lors de celle de la dopamine et de l'épinéphrine (analytes plus riches en électrons donc ils éteignent la fluorescence par transfert d'électrons). C'est à l'heure actuelle la sonde permettant la meilleure différenciation entre ces différents neurotransmetteurs. De plus, ce détecteur fluorescent a été testé sur des cellules chromaffines et a permis de visualiser grâce à un microscope confocal la norépinéphrine présente dans celles-ci ainsi que de suivre l'expulsion des neurotransmetteurs à l'extérieur de la cellule. Cette molécule est l'un des rares exemples dans la littérature possédant une augmentation de fluorescence en présence de catécholamine et présentant une sélectivité entre les

⁴⁷ K. S. Hettie, X. Liu, K. D. Gillis, and T. E. Glass, *ACS Chem. Neurosci.*, **2013**, *4*, 918–923

⁴⁸ L. Zhang, X. A. Liu, K. D. Gillis, T. E. Glass, *Angew. Chem.*, **2019**, *131*, 7693–7696

catécholamines. Cependant, le rendement quantique est faible ($\Phi = 0,025$). De plus, cette sonde se lie de façon covalente au neurotransmetteur, ce qui va perturber son environnement et donc son fonctionnement.

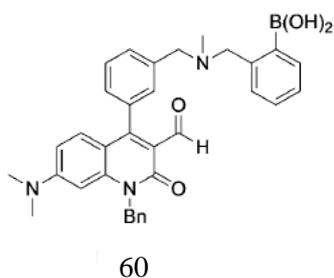


Figure 31 : sonde développée récemment par l'équipe de T.E.Glass

En conclusion, on a pu voir dans la littérature, que les systèmes les plus utilisés pour la détection de catécholamines sont l'HPLC et l'électrochimie. Il existe également différentes techniques optiques comme la spectrophotométrie et la spectroscopie de fluorescence.⁴⁹ Cependant, ces techniques sont largement représentées par l'utilisation de nanoparticules (or ou argent) et de quantum dots souvent trop gros pour être utilisés dans la fente synaptique. Quelques molécules organiques fluorescentes ont cependant été décrites mais elles fonctionnent soit par détection indirecte (on suit le fluorophore libéré et non l'invité ciblé), soit par liaisons covalentes (ce qui va perturber l'environnement de l'invité ciblé et donc son fonctionnement). Il est donc important de continuer à développer des sondes fonctionnant par détection directe, ne modifiant pas l'environnement du neurotransmetteur et étant sélective d'une catécholamine par rapport à une autre.

⁴⁹ P. Abdul Rasheed, J.-S. Lee, *Microchimica Acta*, **2017**, *184*, 5, 1239–1266

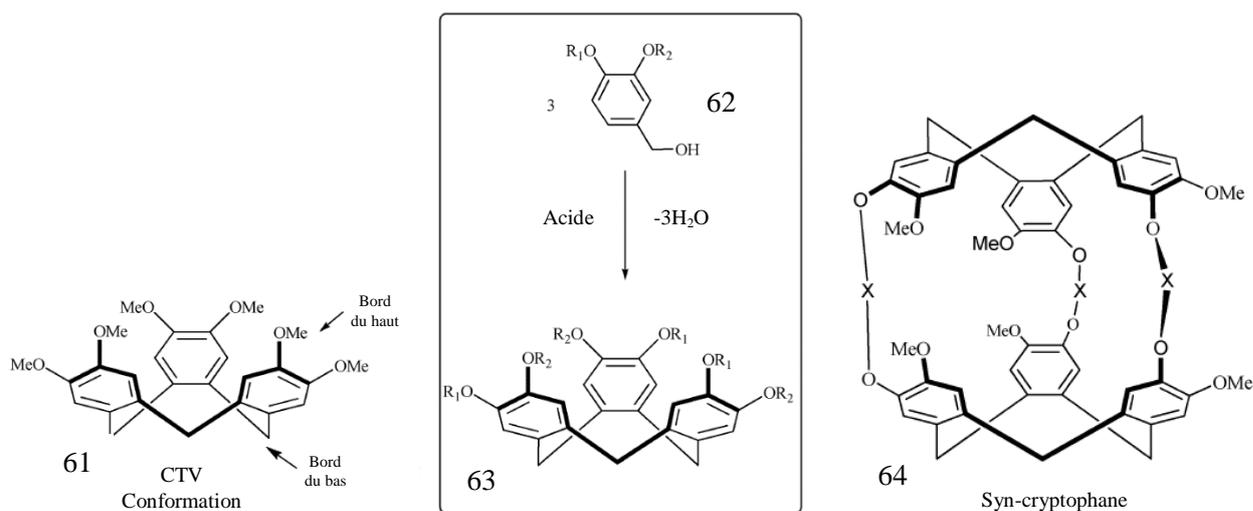
D- Cyclotrivératrylènes et hémicryptophanes

a) Cyclotrivératrylènes

Le cyclotrivératrylène (CTV) est un hôte moléculaire cyclique trimérique. Cette molécule possède une conformation en couronne formant une cavité moléculaire hydrophobe qui lui permet de reconnaître des molécules invitées de façon non-covalente.^{50, 51}

Les CTV sont formés à partir du vétratrole par condensation (substitution électrophile aromatique) dans des conditions souvent dures et acides (traditionnellement avec de l'acide perchlorique dans le méthanol, de l'acide formique ou de l'acide sulfurique dans l'acide acétique).

Les CTV sont similaires aux calixarènes et aux pillararènes qui sont reliés respectivement en position 1,3 et 2,5 tandis que les CTV sont reliés en position 1,2 (Figure 32). Les CTV peuvent être fonctionnalisés facilement au niveau des méthoxy. Deux CTV reliés entre eux de façon covalente permettent d'obtenir la formation d'une cage appelée cryptophane.



Grâce à leur forme de bol, les CTV sont capables de reconnaître **les fullerènes** via des interactions π - π . En 1994, l'équipe de Jerry Atwood a mis en évidence la formation d'un complexe entre le CTV **65** et le fullerène C_{60} (figure 33).⁵² Seul un complexe avec le C_{60} pur est formé tandis que le C_{70} forme un complexe mixte avec le C_{60} , ceci leur a permis d'extraire les C_{60} d'un mélange C_{60}/C_{70} . Les fullerènes C_{60} peuvent être libérés du CTV par ajout de chloroforme ou de DCM, les solvants halogénés interagissant avec les cycles aromatiques riches en électrons de l'hôte. Afin d'étudier les propriétés de complexation de ce CTV vis à vis des métaux de transitions, du ruthénium (II) a été mélangé avec du $Ag[BF_4]$ afin d'échanger le

⁵⁰ A. Collet, *Tetrahedron*, **1987**, 43, 5725

⁵¹ M.J. Hardie, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 516–527

⁵² J. W. Steed, P. C. Junk, J. L. Atwood, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 10 346 – 10347

contre-ion en présence du CTV **65**. Un complexe sandwich $[\text{Ru}(\eta^6\text{-arène})(\eta^6\text{-CTV})][\text{BF}_4]_2$ a été obtenu avec 0,5 eq de CTV. Les CTV, en fonction de leurs substituants, sont donc capables de complexer différents types d'espèces moléculaires (fullerènes, cations).

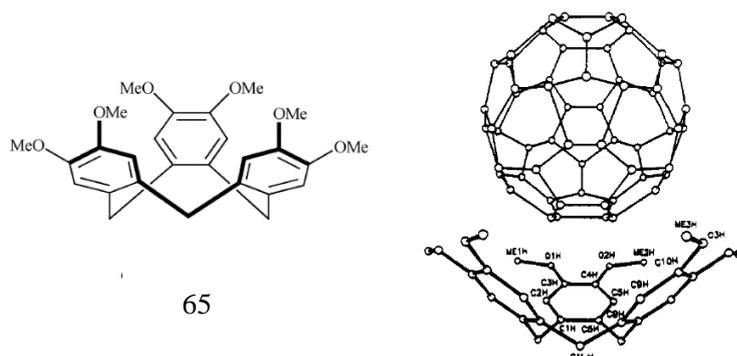


Figure 33 : cyclotrivératrylène et complexe CTV-fullerène

Les CTV, en fonction de leurs substituants, ont la capacité de reconnaître **les anions**. En 2001, l'équipe de Jean-Pierre Dutasta a développé le CTV **66** (figure 34) fonctionnalisé par des amides et substitué par des ferrocènes, capable de complexer différents anions comme F^- , H_2PO_4^- et ATP^{2-} .⁵³ La reconnaissance des anions est possible grâce à la formation de liaisons hydrogènes avec les amides et l'interaction des anions avec les ferrocènes, surtout lorsqu'ils sont oxydés. Des complexes de stœchiométrie 1:1 ont été obtenus et dont la meilleure constante d'association est de 89 M^{-1} pour le phosphate de dihydrogène. Cette constante a été déterminée par RMN du proton dans le DCM. Les interactions mises en jeu lors de la formation des complexes ont également été étudiées par RMN du proton ; lors de l'ajout d'anion, les NH des fonctions amide, non équivalents, sont blindés, montrant une interaction de type liaison hydrogène entre les NH et l'anion complexé. Un déplacement de 1,80 ppm est obtenu avec le phosphate de dihydrogène et de 2,13 ppm pour l'adénosine triphosphate, les espèces les mieux reconnues parmi les anions (F^- , HSO_4^-) testés. Le motif CTV est donc important car il permet une préorganisation, d'avoir les sites des liaisons hydrogènes des amides proches les uns des autres ainsi que les ferrocènes pour la reconnaissance.

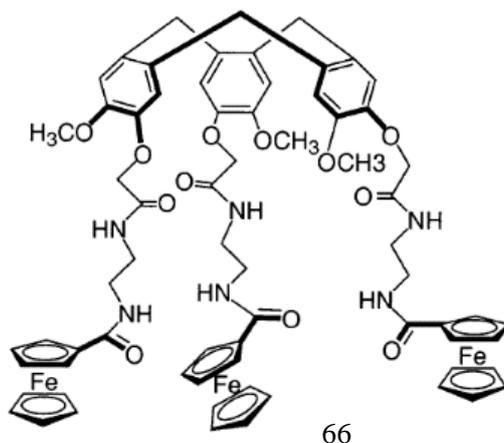


Figure 34 : CTV complexant divers anions

⁵³ O. Reynes, F. Maillard, J.-C. Moutet, G. Royal, E. Saint-Aman, G. Stanciu, J.-P. Dutasta, I. Gosse, J.-C. Mulatier, *Journal of Organometallic Chemistry*, **2001**, 637–639, 356–363

Des CTV ont également été modifiés et utilisés pour reconnaître **des cations**. Différents exemples existent dans la littérature (Cu^{2+} , ammoniums,⁵⁴ actinides,⁵⁵ Cs^+ ,⁵⁶...).

Récemment, l'équipe de Toshiyuki Moriuchi a reporté un CTV-fluorescent substitué par trois groupes 8-quinolinyl (figure 35) et capable de reconnaître Cu^{2+} de façon sélective par rapport à d'autres cations comme Ag^+ , Cd^{2+} , Co^{2+} , K^+ , Li^+ .⁵⁷ Dans cette publication, il a été montré que le motif CTV jouait un rôle important dans la reconnaissance sélective du Cu^{2+} , étant donné que le 8-((2-methoxy-4-méthylphenoxy)méthyl)quinoline (monomère correspondant au CTV) reconnaît également d'autres cations testés (Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+}). Pour la détection, la technique de fluorescence a été utilisée. La sonde possède une longueur d'onde d'absorption de 313 nm et une longueur d'onde d'émission de 431 nm et son intensité de fluorescence est 4,4 fois plus forte lorsqu'elle reconnaît le Cu^{2+} par rapport au Fe^{3+} ($F_{\text{Cu}}/F_{\text{Fe}^{3+}} = 4,4$).

Les auteurs attribuent cet accroissement de fluorescence à la disparition d'un transfert d'électron photoinduit (PET) lors de la complexation du métal. Cette sonde capable de complexer le Cu^{2+} avec une augmentation de fluorescence est la première à être réversible pour ce cation. Lorsqu'on ajoute de la triéthylamine, elle va prendre la place du cation dans la cavité et l'intensité de fluorescence va revenir à son état initial.

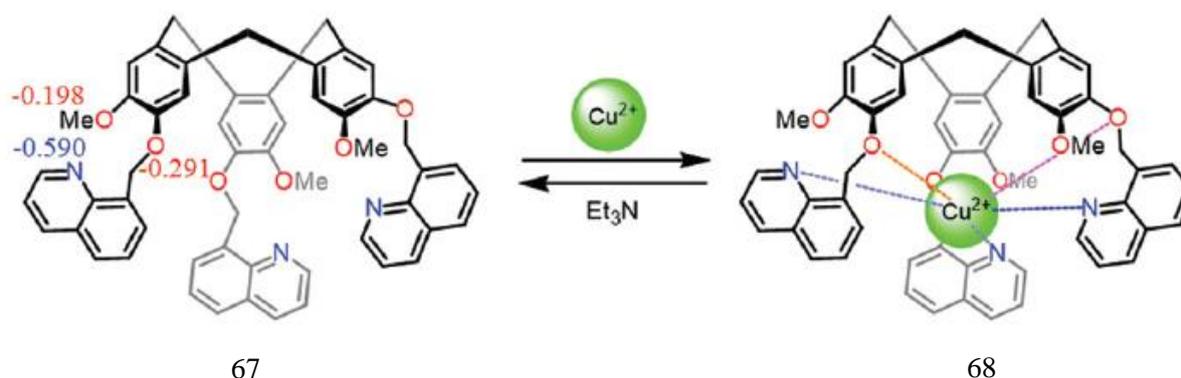


Figure 35 : mécanisme de coordination proposé

Les CTV sont capables de reconnaître **les sucres**. En 2016, l'équipe d'Alexandre Martinez a développé un CTV fonctionnalisé par trois groupes binaphtol et obtenu de façon énantiomériquement et diastéréomériquement pure (schéma 4).⁵⁸ Cette molécule combine une chiralité axiale grâce aux binaphtols et une chiralité axiale du CTV. La configuration absolue de ces molécules a été déterminée. Pour cela, les différents stéréoisomères ont été synthétisés par une autre voie de synthèse. Ils commencent par dédoubler les énantiomères du CTV **69**, introduisent les binaphtols énantiopures sur chacun des énantiomères du CTV **69**. Ils obtiennent ainsi des CTV fonctionnalisés dont ils connaissent la configuration et comparent ensuite les RMN de ces CTV de stéréochimie connue à celles des stéréoisomères qu'ils ont séparés auparavant (modulo une méthylation car la déallylation du binaphtol se faisant à 80°C conduirait à la racémisation du CTV).

⁵⁴ K. Kataoka, T. D. James and Y. Kubo, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15126

⁵⁵ H. H. Dam, D. N. Reinhoudt and W. Verboom, *New J. Chem.*, **2007**, *31*, 1620

⁵⁶ K. Kataoka, S. Okuyama, T. Minami, T. D. James and Y. Kubo, *Chem. Commun.*, **2009**, 1682

⁵⁷ T. Moriuchi-Kawakami, Y. Mizuno, T. Inoue, S. Matsubara, T. Moriuchi, *Analyst*, **2019**, *144*, 1140

⁵⁸ S. Lefevre, A. Héloin, D. Pitrat, J-C. Mulatier, N. Vanthuyne, M. Jean, J-P. Dutasta, L. Guy, A. Martinez, *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 3199–3205

Ensuite, les propriétés de reconnaissance de la molécule ont été étudiées par RMN dans le chloroforme, ce qui a montré l'interaction des hydroxyles et des aromatiques des binaphtols avec le glucose et le mannose.

Les molécules étant énantiopures, de la reconnaissance chirale d'octylpyranosides (octyl- α et β -glucose, octyl- α et β -mannose) a été effectuée avec succès. Par exemple, l'hôte M-RRR1 reconnaît préférentiellement l'octyl- α -mannose. La sélectivité a été attribuée aux liaisons hydrogènes mises en jeu. Une constante d'association de 10^3 M^{-1} a été obtenue et une stoechiométrie 1:1 a été observée grâce à une courbe de Job pour l'OctaMan.

Cette molécule fait partie des rares exemples d'hôtes artificiels capables de reconnaître sélectivement des dérivés du mannose par rapport à des analogues du glucose.

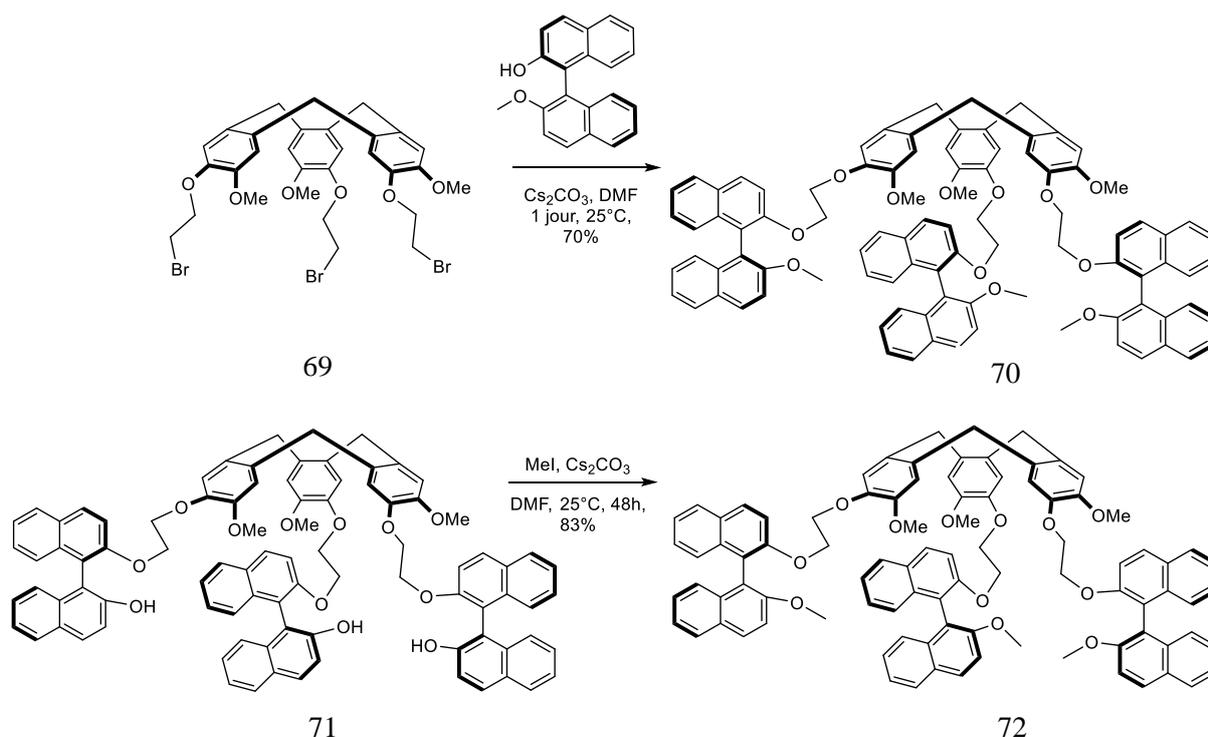


Schéma 4 : voie synthétique pour déterminer la configuration absolue des CTV

Différents exemples de macromolécules fluorescentes complexant l'acétylcholine ont également été développés au laboratoire utilisant la méthode de détection directe. Cette méthode permet de suivre l'acétylcholine dans l'espace en temps réel et peu de sondes fluorescentes fonctionnent sur ce principe. Au cours du temps, les synthèses ont été simplifiées et des méthodes permettant d'introduire facilement différents groupements ont été développées. Le premier cyclotrivérratrylène (CTV) fluorescent ($\lambda_{\text{abs max}} = 289 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{em max}} = 314 \text{ nm}$) et soluble en milieu physiologique a été développé (figure 36).⁵⁹ Ce CTV a montré une reconnaissance pour l'acétylcholine avec une constante d'association de l'ordre de 23 M^{-1} déterminée par spectroscopie de fluorescence et par RMN. Ceci est faible mais cette sonde est l'une des rares sondes permettant une détection directe de l'acétylcholine dans un milieu physiologique par changement de fluorescence. Il semble donc intéressant de s'intéresser aux CTVs fluorescents pour la détection d'ammoniums.

⁵⁹ M-L Dumartin, C. Givélet, P. Meyrand, B. Bibal, I. Gosse, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 2725–2728

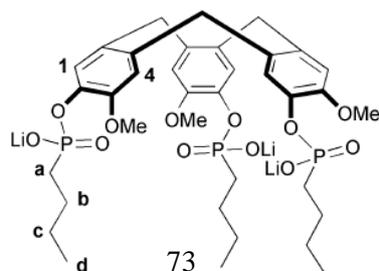


Figure 36 : premier CTV fluorescent développé par l'équipe d'Isabelle Gosse

En 2011, il a été développé un nouvel intermédiaire CTV-triiodé facilement accessible et permettant d'être fonctionnalisé par divers groupements électroattracteurs de type phosphonates (figure 37).⁶⁰ Ces molécules possèdent des longueurs d'ondes similaires au précédent CTV en milieu tampon. Cette sonde reconnaît l'acétylcholine mais également la choline et montre même une meilleure sélectivité pour la choline que d'autres systèmes non fluorescents ($K_{Ch}/K_{ACh} = 2,8$).

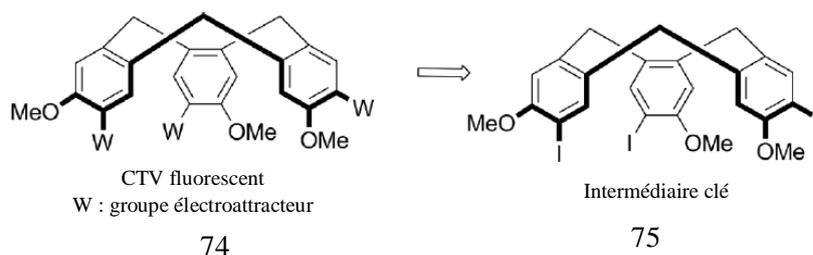


Figure 37 : intermédiaire CTV-triiodé

En 2012, de nouveaux CTVs ont été synthétisés à partir de l'intermédiaire triiodé par des réactions de Sonogashira.⁶¹ Ceci a permis d'augmenter les longueurs d'ondes par rapport aux précédentes molécules développées, ce qui est dû à l'augmentation de conjugaison grâce à l'insertion d'un alcyne. Ces sondes ont été étudiées en solvant organique et leurs propriétés de reconnaissances n'ont pas été étudiées.

C'est en 2015 qu'un nouveau CTV fluorescent et soluble dans un milieu tampon a été publié (figure 38).⁶² Celui-ci a été obtenu à partir du même intermédiaire triiodé par réaction de Sonogashira. Ceci a permis d'obtenir une sonde avec des longueurs d'ondes améliorées par rapport au système précédent en solvant organique ($\lambda_{abs\ max} = 338\ nm$ et $\lambda_{em\ max} = 422\ nm$). Cette amélioration est due au solvatochromisme de la molécule. Cette sonde reconnaît plus fortement l'acétylcholine que les précédentes sondes développées au laboratoire ($K_{ACh} = 539\ M^{-1}$) et a une meilleure sélectivité vis-à-vis de la choline $K_{ACh}/K_{Ch} = 2,2$.

⁶⁰ L. Peyrard, S. Chierici, S. Pinet, P. Batat, G. Jonusauskas, N. Pinaud, P. Meyrand, I. Gosse, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 8489

⁶¹ L. Peyrard, M-L Dumartin, S. Chierici, S. Pinet, G. Jonusauskas, P. Meyrand, I. Gosse, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 7023–7027

⁶² L. Eriau-Peyrard, C. Coiffier, P. Bordat, D. Bégué, S. Chierici, S. Pinet, I. Gosse, I. Baraille, R. Brown, *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2015**, *17*, 4168

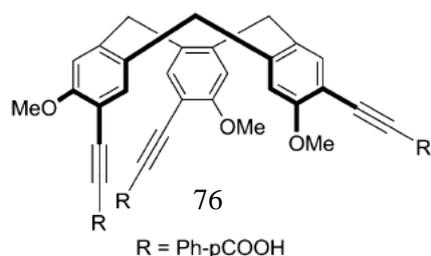


Figure 38 : CTV fluorescent complexant l'ACh

Les CTV sont capables de reconnaître différentes espèces non fluorescentes et notamment les ammoniums qui nous intéressent plus particulièrement. Cependant, les constantes d'association restent faibles. Des molécules dérivant des CTV, appelées hémicryptophanes, ont montré des constantes d'association plus importantes pour les ammoniums.

b) Hémicryptophanes

Les hémicryptophanes (HC) sont des cages moléculaires constituées d'une unité CTV et d'un autre motif de symétrie C_3 .⁶³ Ils sont capables de reconnaître différentes espèces chargées ou neutres comme des ammoniums, des zwitterions ou des carbohydrates. Ils sont utilisés pour la reconnaissance moléculaire, la catalyse ou comme machine moléculaire.

En 1982, Lehn et Collet ont décrit pour la première fois un nouveau type de cage moléculaire appelé spealand **77**, constituée d'un CTV et d'une unité éther couronne.⁶⁴ Puis en 1999, l'équipe de Dutasta a proposé le terme d'hémicryptophane pour leur cage moléculaire thiophosphorylée **78** (figure 39).⁶⁵

De la reconnaissance chirale d'ammoniums (éphédrine et noréphédrine), par des HC énantiopurs, a été effectuée par l'équipe d'Alexandre Martinez en 2013.⁶⁶

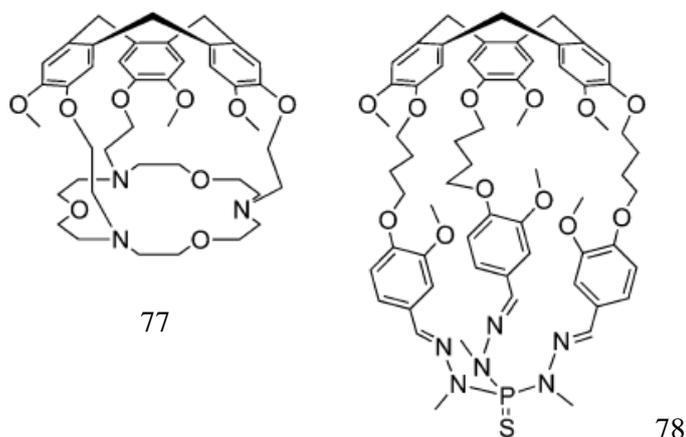


Figure 39 : spealand et HC développés par les équipes de J.-M. Lehn, A. Collet et J.-P. Dutasta

⁶³ D. Zhang, A. Martinez, J-P. Dutasta, *Chem. Rev.*, **2017**, *117*, 4900–4942

⁶⁴ Canceill, J.; Collet, A.; Gabard, J.; Kotzyba-Hibert, F.; Lehn, J. M., *Helv. Chim. Acta*, **1982**, *65*, 1894–1897

⁶⁵ Gosse, I.; Dutasta, J.-P.; Perrin, M.; Thozet, A., *New J. Chem.*, **1999**, *23*, 545–548

⁶⁶ A. Schmitt, B. Chatelet, S. Collin, J-P. Dutasta, A. Martinez, *Chirality*, **2013**, *25*, 475-479

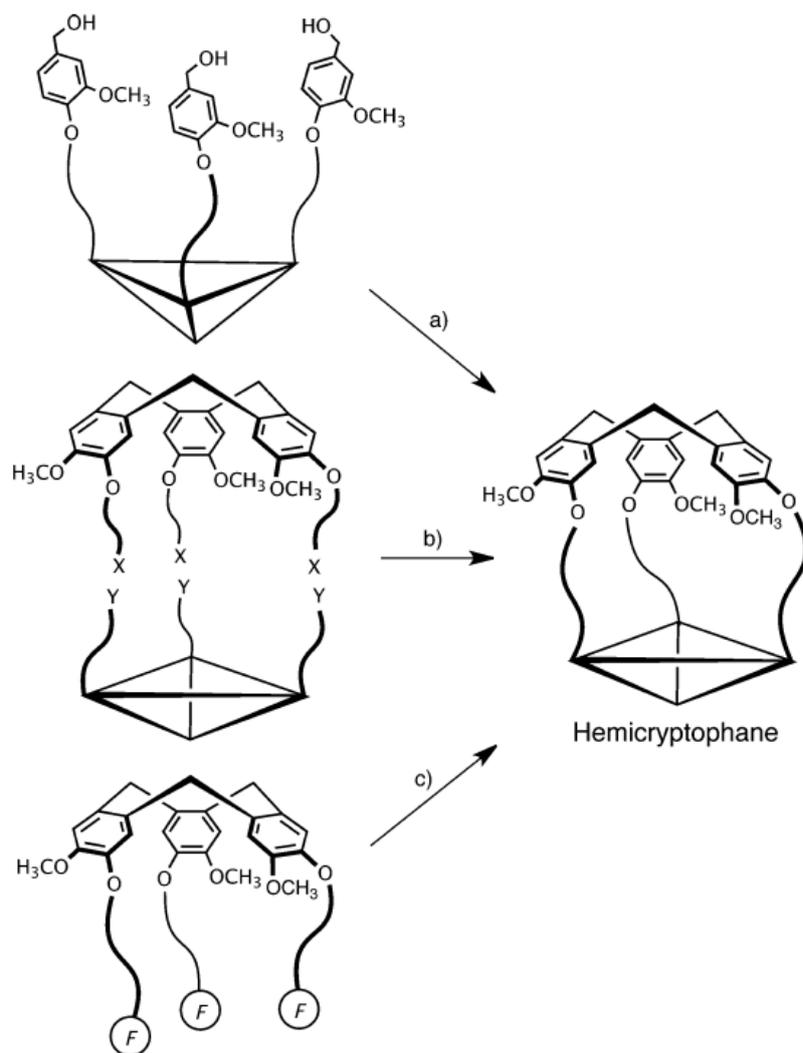


Figure 40 : stratégies de synthèse d'HC

Les hémicryptophanes dont les deux motifs de symétrie C_3 (CTV et celui de la partie sud de l'HC représenté par un triangle sur la figure 40) sont liés de façon covalente peuvent être synthétisés de 3 façons différentes (figure 40) :

- par fermeture de la cage en formant l'unité CTV en fin de synthèse (approche commune et pratique)⁶⁷
- par couplage [1+1] entre les deux unités (méthode très efficace)⁶⁸
- en fermant la cage par création de la seconde unité de symétrie C_3 .⁶⁹

L'équipe d'Alexandre Martinez, spécialisée dans la synthèse de capsules, a développé différents HC.

En 2012, ils ont mis en évidence la reconnaissance d'ammoniums primaires par un hémicryptophane possédant un motif tris(2-aminoéthyl)amine (tren) **79** (figure 41).⁷⁰ Le motif tren est connu pour reconnaître les cations et les anions. Les constantes d'associations de cet hémicryptophane avec les ammoniums primaires sont particulièrement élevées. L'hémicryptophane (figure 41) forme un complexe de stœchiométrie 1 : 1 avec la dopamine. La constante d'association de ce complexe, déterminée par RMN, est de $2,5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ dans un mélange $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ (95/5).

⁶⁷ Raytchev, P. D.; Perraud, O.; Aronica, C.; Martinez, A.; Dutasta, J.-P. *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 2099–2102

⁶⁸ Chatelet, B.; Payet, E.; Perraud, O.; Dimitrov-Raytchev, P.; Chapellet, L.-L.; Dufaud, V.; Martinez, A.; Dutasta, J.-P. *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 3706–3709

⁶⁹ Wang, L.; Wang, G.-T.; Zhao, X.; Jiang, X.-K.; Li, Z.-T. *J. Org. Chem.*, **2011**, *76*, 3531–3535

⁷⁰ O. Perraud, S. Lefevre, V. Robert, A. Martinez, J.-P. Dutasta, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, 1056

Les protons de la dopamine sont blindés indiquant que celle-ci se situe sûrement dans la cavité de l'hémicryptophane. La reconnaissance est assurée par des liaisons hydrogènes et des interactions CH- π favorisées par la taille de l'hémicryptophane adaptée à celle de la dopamine.

Des calculs de DFT ont permis de corroborer les résultats obtenus en RMN. L'ammonium de la dopamine est orienté vers le tren. Les protons aliphatiques de la dopamine (cible) formant avec les cycles aromatiques de l'HC (hôte) des interactions CH- π .

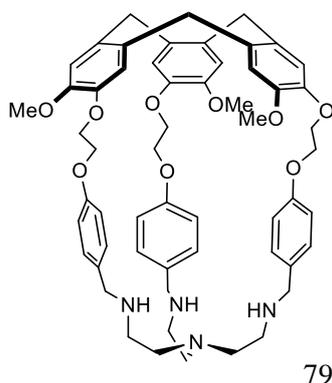


Figure 41: HC reconnaissant la dopamine

En 2014, ils ont synthétisé en sept étapes le premier hémicryptophane soluble dans l'eau et reconnaissant la choline (figure 42).⁷¹ La reconnaissance supramoléculaire dans l'eau est difficile car il faut que la molécule soit hydrosoluble et surtout que les interactions avec la molécule ciblée soient assez fortes pour concurrencer les interactions avec l'eau.

L'hémicryptophane **80** est soluble à condition que les phénols soient déprotonés. Les études par RMN protons ont donc été menées dans un mélange D₂O/NaOD (pD=12). Les signaux RMN de la choline étant larges, l'ITC (titrage calorimétrique isotherme) a été utilisé pour déterminer plus précisément la constante d'association. La constante d'association obtenue est de 2,10³ M⁻¹. Le thermogramme obtenu a permis de déterminer que la reconnaissance de la choline produit une réaction exothermique, suggérant que la complexation est principalement gouvernée par l'enthalpie.

L'hémicryptophane reconnaît seulement la choline et non les substrats dont la structure est proche: la bêtaïne glycine et la bêtaïne aldéhyde. Cette sélectivité peut venir du caractère zwitterionique des bêtaïnes à pH=12. L'acétylcholine étant hydrolysée à ce pH, cet HC ne peut être utilisé pour la complexer.

Les calculs de DFT ont montré que l'ammonium de la choline interagissait avec les cycles aromatiques de l'hôte par interaction CH- π et l'atome d'oxygène chargé négativement. Le groupement OH de la choline fait des liaisons hydrogènes avec deux atomes d'azote du tren.

⁷¹ A. Schmitt, V. Robert, J-P. Dutasta, A. Martinez, *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 2374–2377

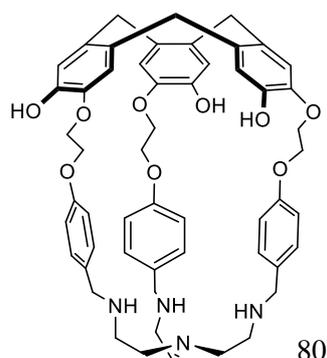


Figure 42: premier HC soluble en milieu aqueux

En 2015, ils ont synthétisé le premier hémicryptophane fluorescent reconnaissant sélectivement la choline phosphate par rapport à la choline dans un mélange 98/2 DMSO/eau (figure 43)⁷² (2 ordres de grandeur de différence). Ce composé pourrait être utilisé pour mesurer l'activité de la choline kinase en temps réel. La sélectivité observée peut être attribuée à des interactions fortes entre le phosphate et le métal (Zn(II)) préalablement complexé par l'entité tren.

La complexation de la choline phosphate, étudiée par spectroscopie de fluorescence conduit à une diminution de l'intensité de fluorescence à 350 nm. La constante d'association, déterminée pour un complexe de stœchiométrie 1:1, est de $4,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ dans le mélange 98/2 DMSO/eau. Dans un milieu compétitif (DMSO/H₂O 80/20) la constante d'association est de $4,1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$.

Cette diminution de fluorescence a été attribuée à un transfert d'électron photo-induit entre les azotes benzyliques et les naphthalènes lors de la complexation. En effet, la complexation de la choline phosphate par le métal diminue la force des interactions entre les doublets des atomes d'azote du tren et le Zn(II).

Une très faible variation de fluorescence a été observée avec l'hémicryptophane ne contenant pas de zinc, montrant l'importance du métal pour la complexation. En absence de Zinc, l'intensité de fluorescence est 20 fois moins importante. Des études de modélisation moléculaire par DFT ont confirmé la géométrie du complexe, l'ammonium vers le CTV et le phosphate lié au zinc.

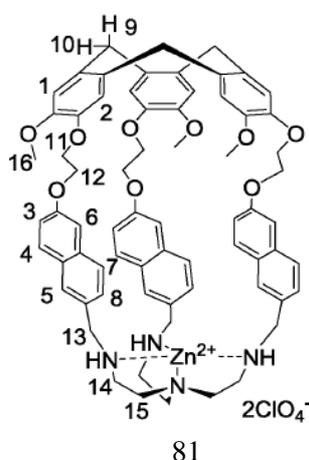


Figure 43 : premier HC fluorescent

⁷² D. Zhang, G. Gao, L. Guy, V. Robert, J-P. Dutasta, A. Martinez, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 2679

En 2016, l'équipe de Makita a développé un hémicryptophane tri-amide reconnaissant l'acétylcholine (figure 44).⁷³ Ils ont pu obtenir une structure aux rayons X de l'hémicryptophane avec l'acétylcholine montrant une inclusion partielle du neurotransmetteur dans la cage (l'ammonium se situe dans la cavité, l'acétyle et l'ion chlorure se situent à l'extérieur).

Différents ammoniums quaternaires sont reconnus dans un mélange CDCl₃/CD₃OD 20/1 avec des constantes d'associations de l'ordre de 10⁴ M⁻¹.

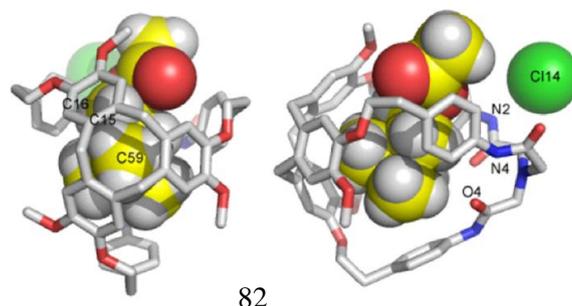


Figure 44 : structures aux rayons X du complexe HC-ACh

Récemment, l'équipe de Martinez a publié un nouvel hémicryptophane fluorescent reconnaissant l'ACh en milieu organique (figure 45).⁷⁴ Cette sonde fluorescente est excitable à 288 nm et émet à 326 nm. Sa constante d'association pour l'acétylcholine est relativement élevée ($K_{ACh} = 2,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$) et elle présente une sélectivité pour l'ACh par rapport à la Ch ($K_{ACh}/K_{Ch} = 4$), ce qui en fait à notre connaissance la sonde la plus sélective pour l'acétylcholine.

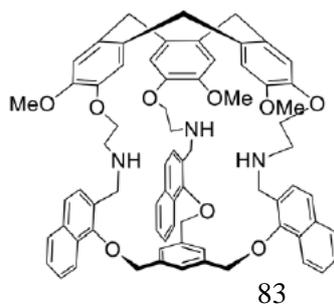


Figure 45 : hémicryptophane fluorescent reconnaissant l'ACh

En conclusion, en étudiant la littérature sur les sondes fluorescentes pour la détection de l'acétylcholine et des catécholamines, un bon nombre de ces sondes fonctionnent par détection indirecte. Celles-ci permettant seulement de détecter la présence de neurotransmetteurs et non de les suivre. Et un très faible nombre de sondes procèdent par détection directe et possèdent une sélectivité pour un neurotransmetteur précis. Il est donc important de développer des sondes sélectives, sensibles et utilisables en milieu aqueux pour la détection de neurotransmetteurs.

⁷³ Y. Makita, N. Katayama, H-H. Lee, T. Abe, K. Sogawa, A. Nomoto, S-I. Fujiwara, A. Ogawa, *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 5112–5115

⁷⁴ A. Long, N. Fantozzi, S. Pinet, E. Genin, R. Pétuya, D. Bégué, V. Robert, J-P Dutasta, Isabelle Gosse, A. Martinez, *Org. Biomol. Chem.*, **2019**, 17, 5253

III. Développement et caractérisation de cyclotrivératrylènes fluorescents

Cette thèse s'inscrit dans la continuité des travaux précédemment effectués au laboratoire par le docteur Lisa Peyrard.⁷⁵ Une méthodologie permettant de fonctionnaliser facilement les cyclotrivératrylènes (CTV) a été développée en utilisant un CTV triiodé **75**. Celui-ci permet de greffer différents fluorophores par une réaction de Sonogashira.⁷⁶ Cela a permis d'accéder à différentes sondes ; l'une d'elle était particulièrement intéressante. En particulier, elle avait développé une sonde fluorescente possédant trois acides carboxyliques et soluble en milieu aqueux tamponné (pH 7,4) pour la détection de neurotransmetteurs (acétylcholine et choline) (Figure 46).⁷⁷

L'utilisation de cette sonde montre cependant quelques limites : des longueurs d'ondes d'absorption et d'émission dans l'UV, elles sont donc trop faibles pour être utilisées en milieu biologique. La molécule est excitable par absorption à deux photons mais il n'a pas été possible de voir le maximum de la section efficace d'absorption à deux photons (surface que devrait avoir la molécule pour capter les deux photons simultanément). Une constante d'association ainsi qu'une sélectivité faible pour les neurotransmetteurs ont été observées.

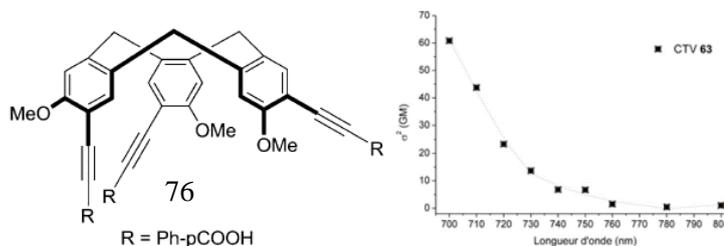


Figure 46 : CTV fluorescent et ses propriétés d'absorption à deux photons

Ce travail a pour objectif d'améliorer les propriétés de fluorescence car elles restent faibles (Figure 47). Pour cela, différents fluorophores seront insérés sur le CTV triiodé afin de déterminer le fluorophore le plus adapté à la détection d'espèces biologiques. Une fois ce fluorophore trouvé, le but sera de l'appliquer aux hémicryptophanes (HC). Les HC permettent d'améliorer les propriétés de reconnaissance par rapport aux CTV grâce à leur cavité fermée. La dernière étape sera d'étudier la reconnaissance d'espèces biologiques avec ces composés.

⁷⁵ Cyclotrivératrylènes fluorescents pour la détection d'ammoniums d'intérêt biologique, Lisa Peyrard, 2012, thèse présentée à l'université de Bordeaux

⁷⁶ L. Peyrard, M.-L. Dumartin, S. Chierici, S. Pinet, G. Jonusauskas, P. Meyrand and I. Gosse, *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 7023–7027

⁷⁷ L. Eriau-Peyrard, C. Coiffier, P. Bordat, D. Bégué, S. Chierici, S. Pinet, I. Gosse, I. Baraille, R. Brown, *Phys.Chem.Chem.Phys.*, **2015**, *17*, 4168

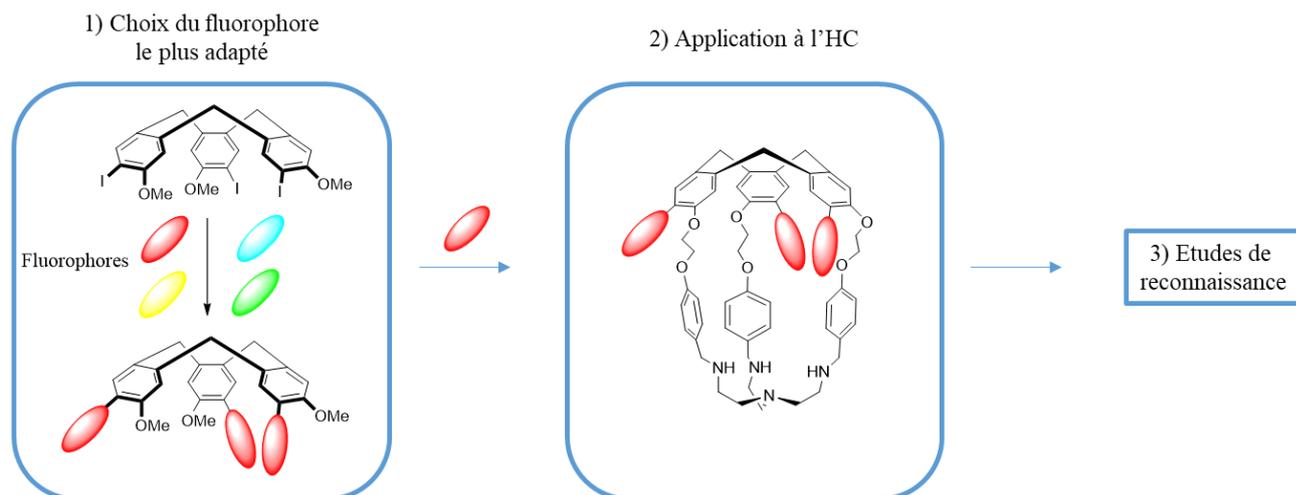


Figure 47 : Stratégie employée pour ce travail

A- Stratégies envisagées pour améliorer les longueurs d'ondes d'excitations des sondes

Dans un premier temps la synthèse du CTV triodé va être décrite. Afin d'améliorer les propriétés spectroscopiques des précédents systèmes, l'amélioration du système « push-pull » a été envisagée. L'introduction de bons groupements donneurs et attracteurs permettant d'augmenter les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission. Puis une extension de conjugaison en utilisant des réactions de couplage avec le CTV triodé a été considérée. D'abord en utilisant des alcynes et ensuite en utilisant des alcènes. Enfin divers fluorophores possédant des grandes longueurs d'ondes d'absorption et d'émission ainsi que des bons rendements quantiques ont été envisagés comme les coumarines,⁷⁸ les BODIPY⁷⁹ ou les benzothiadiazoles.⁸⁰ L'objectif sera de les synthétiser, en utilisant des méthodes de la littérature et ensuite de les greffer sur le CTV pour rendre celui-ci fluorescent. Cela permettra également de déterminer les groupements fluorescents les plus prometteurs en vue de les greffer sur des HC.

a) Synthèse du cyclotrivérratrylène triodé

L'intermédiaire triodé qui peut être fonctionnalisé par différents groupements afin de rendre le CTV fluorescent a été préparé en suivant la méthode précédemment développée au laboratoire.

La synthèse du CTV triodé **75** a été réalisée en 3 étapes (schéma 5). La première étape est une alkylation du phénol et une estérification de l'acide en milieu basique pour obtenir le composé **85** avec 84 % de rendement. Ensuite l'ester est réduit en alcool benzylique **86**, avec 95 % de rendement, en utilisant 3 équivalents d'hydruure de diisobutylaluminium. L'étape de trimérisation est ensuite effectuée. Il s'agit d'une substitution électrophile aromatique (réaction de déshydratation) réalisée à reflux de l'éther diéthylique, pendant 2 jours et en présence de

⁷⁸ L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.*, **2014**, 9, 855–866

⁷⁹ A. Loudet and K. Burgess, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 4891-4932

⁸⁰ B. A. D. Neto, A. A. M. Lapis, E. N. da Silva Júnior, J. Dupont, *Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, 228–255

P₂O₅ comme desséchant. Le composé **75** est obtenu avec 44 % de rendement. Cette synthèse permet d'obtenir en grande quantité le composé **86** (plusieurs grammes) étant donné qu'aucune purification n'est nécessaire. Le composé **75** s'obtient à partir du composé **86** dans des quantités plus faibles (quelques centaines de milligrammes), la réaction de trimérisation fonctionnant moins bien sur grosses quantités (>2g). Cette méthode permet d'accéder facilement et rapidement au composé **75**, qui pourra être fonctionnalisé par différents groupements grâce à la présence des iodes.

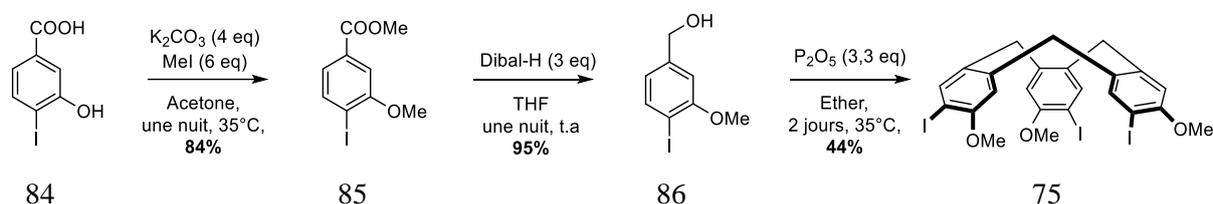


Schéma 5 : synthèse du CTV triiodé **75**

b) Par modification de l'effet « push-pull »

Afin d'améliorer les longueurs d'ondes d'une molécule fluorescente, une première stratégie a été de vouloir modifier le système « push-pull » du CTV **75**.⁸¹ Celui-ci est constitué d'un groupement donneur, qui va permettre d'augmenter l'énergie de la HOMO. Il est également constitué d'un groupement attracteur, qui permet de diminuer l'énergie de la LUMO. Ce système permet de diminuer la différence entre les orbitales HOMO et LUMO (Figure 48), ce qui permet d'augmenter les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission. A l'état fondamental, ce type de molécule peut s'écrire sous deux formes : neutre et zwitterionique. Le groupement diméthylamine est l'un des meilleurs groupements donneurs et le groupement cyano est l'un des meilleurs groupements accepteurs.

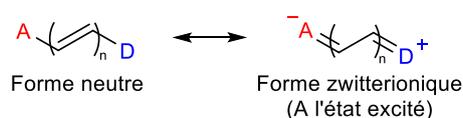


Figure 48 : motif « push-pull »

C'est dans l'optique d'améliorer les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission, que nous avons voulu remplacer le groupement méthoxy présent sur le CTV par un groupement amine, qui est un meilleur groupement donneur que le méthoxy.

Pour cela, un nouveau monomère possédant un iode et une amine a été développé.

La première idée a été de partir de l'aniline et de mettre un iode sur celle-ci de façon sélective (Figure 49).

⁸¹ M. Staderini, M. A. Martin M. L. Bolognesic, J. C. Menéndez, *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 1807

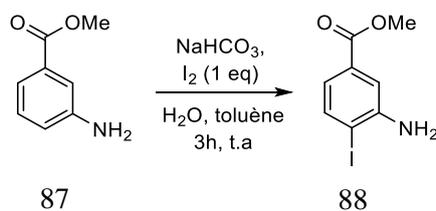


Figure 49 : Iodation de l'aniline de départ⁸²

La réaction a été suivie par RMN du proton et on a pu observer la formation du produit monoiodé (présence de 3H au lieu de 4H sur le produit de départ et le produit obtenu a des signaux déplacés par rapport au produit de départ). En comparant au produit de départ, on peut voir que le pic du proton en ortho de l'ester (formant un doublet de triplet) a disparu au profit d'un doublet de doublet. Ceci nous indique que nous avons bien iodé en para de l'ester. Cependant, après purification par colonne de silice avec un éluant cyclohexane/AcOEt 80/20, le produit majoritairement récupéré est le produit de départ. Il semble donc que nous ayons déiodé la molécule **88**.

La purification par colonne de silice du composé **88** n'ayant pas fonctionné, il a été décidé d'effectuer la synthèse du composé **93**, à partir de l'acide 4-iodobenzoïque commercial (schéma 6). Tout d'abord, une réaction de nitration est effectuée avec un mélange acide nitrique/acide sulfurique afin d'insérer le groupement nitro en ortho de l'iode, un rendement de 89% est obtenu. L'ester de méthyle est ensuite formé en utilisant du chlorure de thionyle dans du DCM puis ensuite la méthanolyse du chlorure d'acide est effectuée pour donner le composé **91** avec un rendement quantitatif. Puis le groupement nitro est réduit en amine en présence de fer dans l'acide acétique avec un rendement de 74%. Pour effectuer la trimérisation, il est nécessaire de protéger l'amine afin d'éviter l'attaque nucléophile de l'amine sur le carbocation formé au cours de la réaction. Le chlorure de chloroacétyle a été choisi comme groupement protecteur. En effet André Collet décrit que la déprotection du chlorure de chloroacétyle est plus facile que celle de l'acétyle pour un CTV similaire portant des groupements amines.⁸³ L'ester est enfin réduit comme précédemment avec de l'hydruire de diisobutylaluminium pour obtenir l'alcool benzylique qui servira à la trimérisation avec un rendement de 44%.

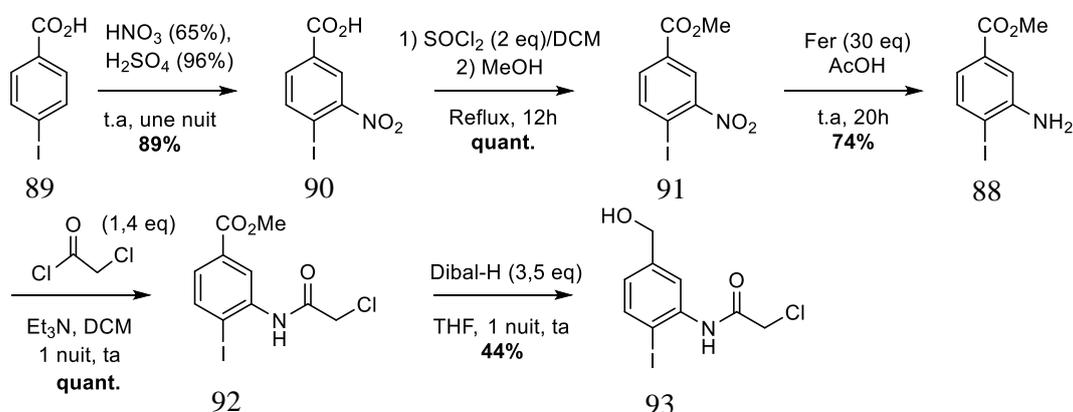
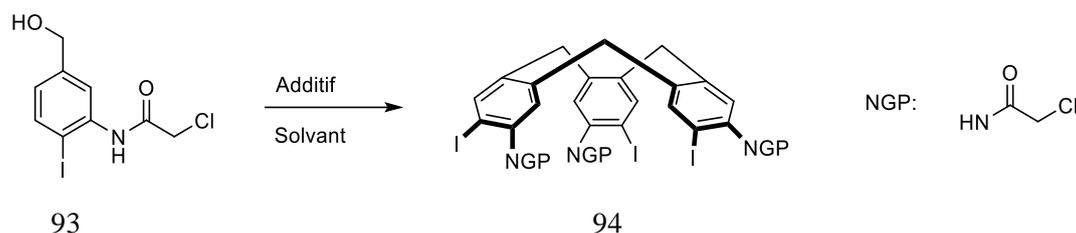


Schéma 6 : synthèse du monomère **93** contenant une amine

⁸² R. Adepu, A. Rajitha, D. Ahuja, A. K. Sharma, B. Ramudu, R. Kapavarapu, K. V. L. Parsa, M. Pal, *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, *12*, 2514

⁸³ C. Garcia, J. Malthete, A. Collet, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1993**, *130*, 93

Une fois le monomère avec l'amine protégée obtenu, nous avons voulu former le CTV correspondant (Figure 50). Pour cela, différentes conditions décrites dans la littérature ont été suivies :



Réaction	Additif	Solvant	Ref.
1	P ₂ O ₅	Ether diéthylique	84
2	P ₂ O ₅	THF	83
3	Acide formique	-	85
4	Acide perchlorique	Méthanol	95
5	Sc(OTf) ₃	DCM	86

Figure 50 : formation d'un CTV-amine

Cependant, dans aucun cas nous n'avons pu observer par RMN du proton la formation du CTV souhaité et seulement le produit de départ est observé. Ceci peut s'expliquer par la diminution du caractère donneur de l'amine dû à sa protection. Etant donné qu'aucune des conditions essayées n'ont permis l'obtention du produit, nous nous sommes tournés vers une autre méthode pour améliorer les propriétés spectroscopiques de la sonde.

Pour cela, nous avons décidé de d'augmenter la conjugaison du système.

- c) Par extension de conjugaison en utilisant des réactions de couplage avec le CTV triiodé

1) Conjugaison avec des alcynes

Le fluorophore sera greffé sur le CTV-triiodé par une réaction de Sonogashira dont la réaction et le mécanisme sont explicités ci-dessous (schéma 7 et figure 51) :⁸⁷

⁸⁴ L. Peyrard, S. Chierici, S. Pinet, P. Batat, G. Jonusauskas, N. Pinaud, P. Meyrand, I. Gosse, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*, 8489

⁸⁵ T. Brotin, J-P. Dutasta, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 88-130

⁸⁶ O. Taratula, P. A. Hill, Y. Bai, N. S. Khan, I. J. Dmochowski, *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 1414-1417

⁸⁷ R. Chinchilla, C. Najera, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 5084-5121

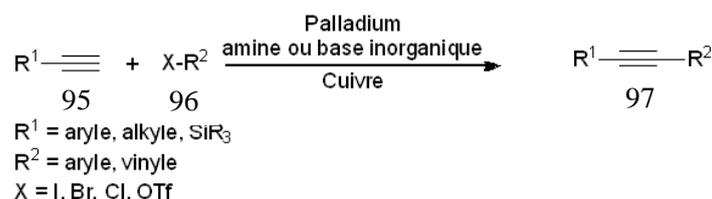


Schéma 7 : réaction de Sonogashira

La réaction de Sonogashira permet la création d'une liaison carbone-carbone (C-C) entre un alcyne et un composé halogéné (ou un triflate). La réaction se fait avec du palladium comme catalyseur, du cuivre comme co-catalyseur et une base (souvent une amine).

Le cycle catalytique est composé de différentes étapes : formation *in situ* du Pd(0) par réduction de Pd(II) en présence des ligands (phosphine, amine etc...) ou utilisation directe de Pd(0).

La première étape est l'addition oxydante du palladium dans la liaison carbone-halogène (C-X). Un groupement électro-attracteur sur le composé halogéné diminue l'énergie de la HOMO et facilite l'addition oxydante tandis qu'un groupement électro-donneur fait l'inverse.

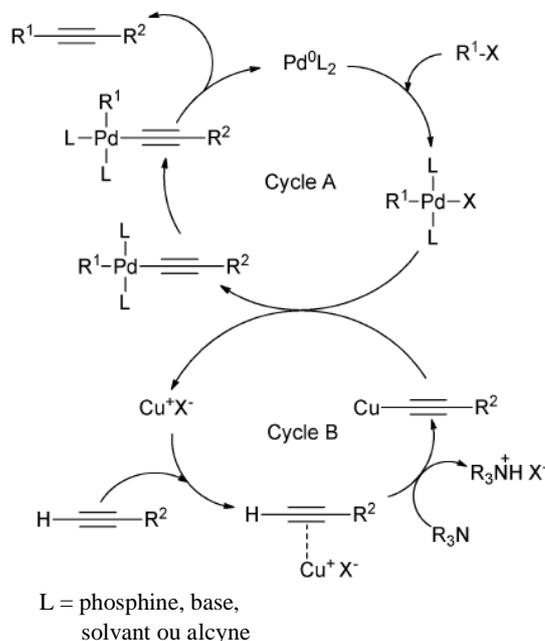


Figure 51 : mécanisme de Sonogashira

La seconde étape est la transmétalement entre le complexe [Pd(II)R¹L₂X] et l'alcyne de cuivre (formé dans le cycle B) pour former un complexe [Pd(II)L₂R¹(CC-R²)].

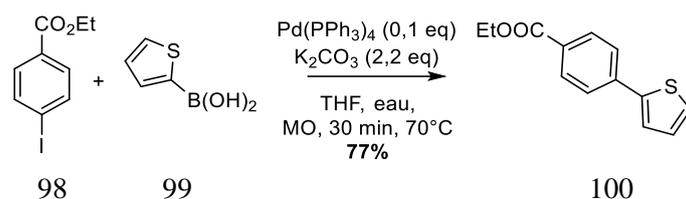
La troisième étape est une élimination réductrice qui a lieu après une isomérisation *cis/trans* des groupements R¹ et R² régénérant le Pd(0).

Dans un premier temps, nous avons voulu rajouter, afin d'augmenter la conjugaison, un motif thiophène entre l'alcyne et l'aryle de la sonde **76** pour pouvoir augmenter ses longueurs d'ondes d'absorption et d'émission. En effet, dans la littérature⁸⁸ on a pu voir que l'ajout d'un thiophène pouvait augmenter les longueurs d'ondes jusqu'à 73 nm, ce qui devrait être suffisant pour observer le maximum de la section efficace d'absorption à deux photons et donc pouvoir utiliser cette sonde en milieu biologique et vérifier si on peut l'observer à l'aide d'un microscope électronique à deux photons.

La synthèse du fluorophore contenant le motif thiophène se fait en 4 étapes (schéma 8).

Un couplage de Suzuki est d'abord réalisé entre le 4-iodobenzoate d'éthyle **98** et l'acide thiophen-2-ylboronique **99**. Celle-ci a été optimisée par une étudiante de licence 3 que j'ai encadrée (Figure 52).

⁸⁸ A. Abbotto, S. Bradamante, A. Facchetti, G.A. Pagani, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 5755



Réaction	Concentration M ⁻¹	Temps	Chauffage ou M.O	Rendement isolé
1	0,133	Une nuit	Chauffage	67%
2	0,133	45 min	M.O	76%
3	0,133	30 min	M.O	79%
4	0,24	30 min	M.O	77%
5	0,48	30 min	M.O	50%

Figure 52 : optimisation de la réaction de Suzuki

Au départ, nous faisons la réaction avec un chauffage au bain d'huile ($T=70^\circ\text{C}$) et avec des concentrations beaucoup plus faibles ($C=0,133 \text{ M}^{-1}$). Ces conditions nous ont permis d'obtenir le produit **100** avec un rendement de 67%. L'utilisation du micro-onde nous a permis de faire cette réaction plus rapidement (30 min au lieu d'une nuit précédemment) ainsi que synthétiser une plus grande quantité de produit (obtention du produit en quantité de l'ordre du gramme) avec un rendement de 77%.

Une réaction de bromation a ensuite été effectuée en utilisant du NBS comme agent de bromation, ce qui nous a permis d'obtenir le composé **101** avec un rendement de 90%. Puis l'alcyne a été introduit grâce à un couplage de Sonogashira entre le composé bromé **101** et le triméthylsilylacétylène. Le composé **102** a été obtenu avec un rendement de 65%. Le groupement protecteur silylé est ensuite éliminé en présence de fluorure de tétrabutylammonium pour donner le composé **103** avec un rendement moyen de 50%.

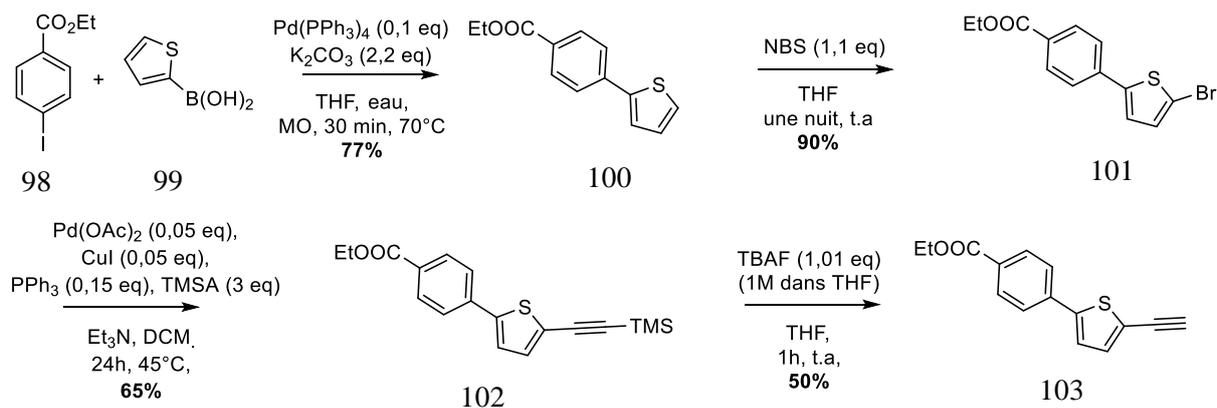


Schéma 8 : synthèse du fragment thiophène

Une fois le CTV et le fluorophore synthétisés, un couplage de Sonogashira a été réalisé entre les deux espèces (schéma 9). Pour cela, 9 équivalents de fluorophore sont nécessaires. Ceci est dû à la difficulté d'insérer des groupements sur le CTV à cause de l'encombrement stérique, ainsi qu'à la formation du sous-produit d'homocouplage de cette réaction.

Une colonne de gel de silice a été effectuée pour purifier ce composé. Cependant, le produit d'homocouplage est toujours présent (de l'ordre de 10%) avec le composé souhaité, et cela même après plusieurs purifications (diminution de l'homocouplage à 5%). Ceci est étrange, étant donné que la polarité des deux molécules est très différente. Afin d'obtenir le composé souhaité pur, nous avons essayé de le faire précipiter avec du chloroforme et de l'éther diéthylique. Il a également été essayé de triturer le produit avec de l'éther diéthylique mais les impuretés ne sont pas solubles dedans. Différents solvants tels que le chloroforme, le méthanol, le THF, l'acétonitrile, l'acétone, le toluène ont été essayés mais n'ont pas permis la séparation des deux espèces.

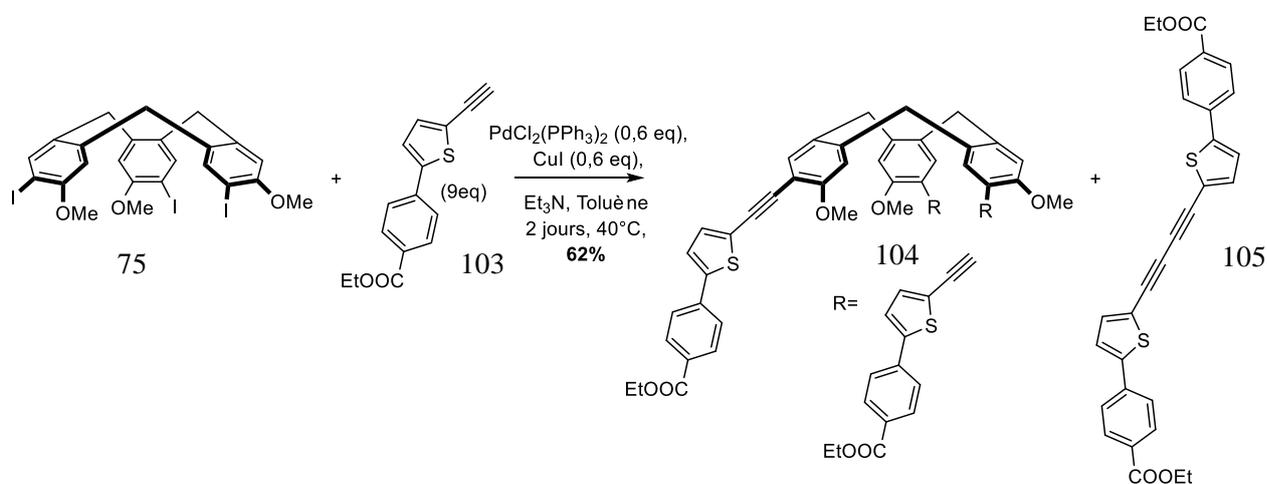


Schéma 9 : synthèse du CTV-thiophène

Le sous-produit d'homocouplage est formé en présence de cuivre par une réaction de Glaser. Le cuivre apporte également quelques problèmes comme l'utilisation de réactifs nocifs pour l'environnement et la nécessité de travailler dans un milieu extrêmement anaérobie.

Pour éviter sa formation, nous avons essayé divers protocoles de réaction de Sonogashira sans cuivre (aussi appelé couplage de Heck Cassar) décrits dans la littérature.

De plus, l'équipe de Buchwald a montré que l'utilisation du cuivre pouvait réduire l'efficacité de la réaction (Figure 53).⁸⁹

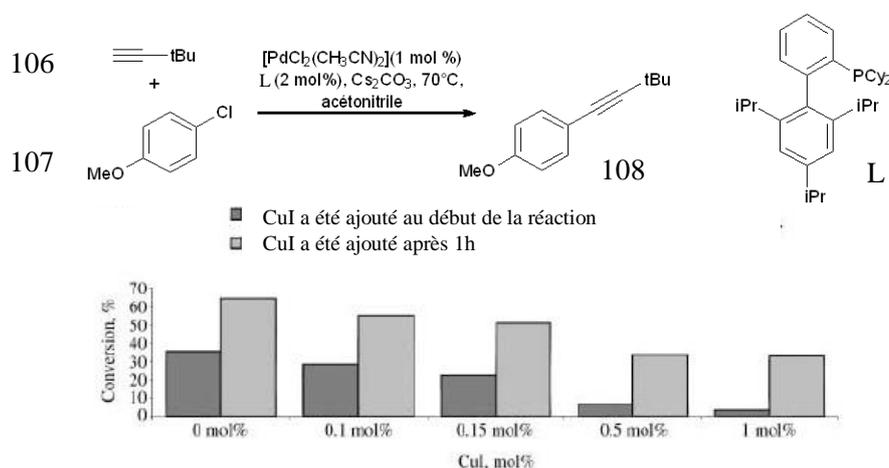


Figure 53 : effet du cuivre sur l'efficacité du couplage

En absence de cuivre, le mécanisme n'est pas parfaitement connu. Cependant, une récente publication décrit un mécanisme mettant en jeu une transmétallation palladium-palladium.⁹⁰ Le mécanisme décrit est très similaire à celui avec le cuivre (Figure 54b) mais le rôle du cuivre est effectué par un complexe de palladium (Figure 54d) alors que le précédent mécanisme proposé pour la réaction de Sonogashira sans cuivre ne fait pas intervenir de second cycle catalytique (Figure 54c).

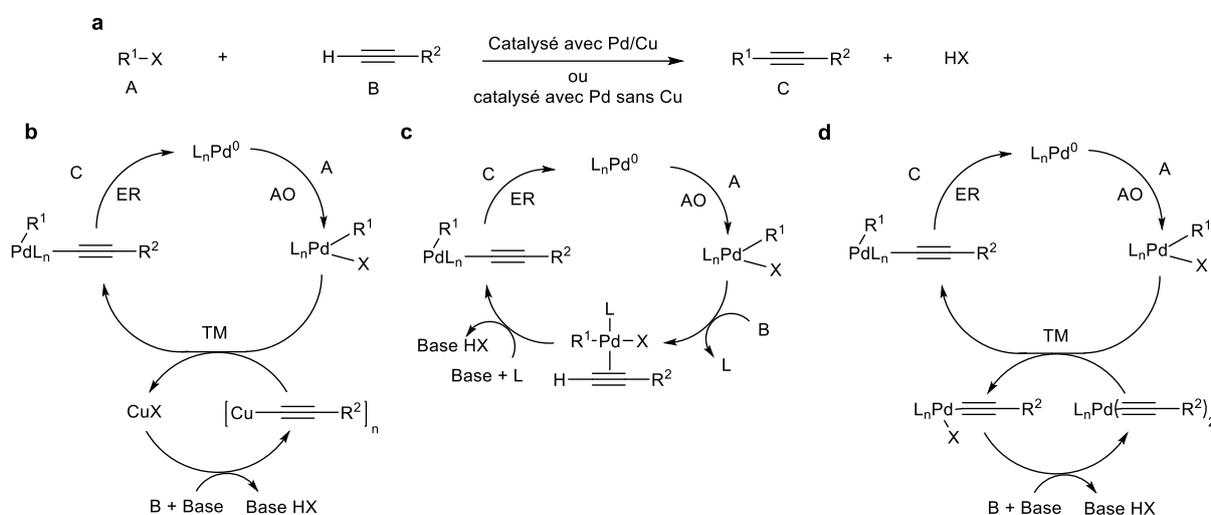
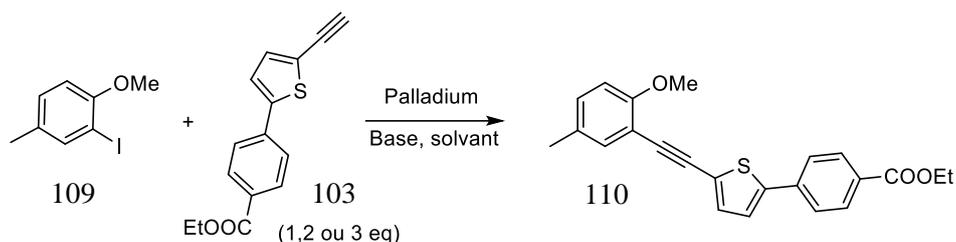


Figure 54 : nouveau mécanisme pour la réaction de Sonogashira effectuée en absence de cuivre

⁸⁹ D. Gelman, S. L. Buchwald, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, 5993–5996

⁹⁰ M. Gazvoda, M. Virant, B. Pintar, J. Košmrlj, *Nature Commun.*, **2018**, 9, 4814

Nous avons donc essayé sur un substrat modèle différentes conditions décrites dans la littérature pour effectuer des couplages de Sonogashira sans cuivre. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous (Figure 55) :



Réaction	Base (3 eq)	Palladium/Ligand (0,2 eq)	Solvant	Temp.	Ratio RMN composé 109/110/homocouplage	Ref.
1	Piperidine	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	-	40°C	1/1/1	91
2	DABCO	(AllylPdCl) ₂ /Xphos	DMF	t.a	0,75/1,75/1	92
3	Triethylamine	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	THF	40°C	0,13/0,74/1	93
4	Triethylamine	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	Toluène	40°C	0,2/0,2/1	Non décrit
5	Triethylamine	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ +CuI	Toluène	40°C	0/0,5/1	76
6	Triethylamine	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ +CuI	Toluène	80°C	0,3/0/1	Non décrit

Figure 55 : conditions de Sonogashira sans cuivre testées

Malgré l'absence de cuivre, ces réactions n'ont pas permis d'obtenir le composé souhaité sans produit d'homocouplage. Ceci peut être dû à la présence d'oxygène dans le milieu, malgré un dégazage des solvants. De plus, avec ces conditions, la réaction n'est pas totale et il nous reste encore beaucoup de produit iodé de départ.

En faisant la réaction avec du cuivre, la conversion du produit de départ est totale. Ceci montre que la réaction est faisable sur ce type de composé mais que les conditions utilisées ne sont pas bonnes. Nous avons donc abandonné cette voie.

⁹¹ N. E. Leadbeater, B. J. Tominack, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 8653-8656

⁹² A. Soheili, J. Albaneze-Walker, J. A. Murry, P. G. Dormer, D. L. Hughes, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 22, 4191-4194

⁹³ B. M. Kobilka, A. V. Dubrovskiy, M. D. Ewan, A. L. Tomlinson, R. C. Larock, S. Chaudhary, M. Jeffries-EL *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 8919-8921

La réaction de Glaser se faisant entre deux alcynes vrais, nous avons inversé la molécule halogénée et la molécule portant l'alcyne vrai. Le produit d'homocouplage entre deux CTV sera plus difficile à s'effectuer et celui-ci sera plus facile à éliminer lors de la purification.

Nous avons donc synthétisé le CTV portant les fonctions alcynes en suivant le mode opératoire précédemment mis en place au laboratoire (schéma 10). Cependant, de moins bons rendements ont été obtenus (13% au lieu de 73%). Du produit a été perdu lors de la purification par colonne de gel de silice à cause d'une élution insuffisante.

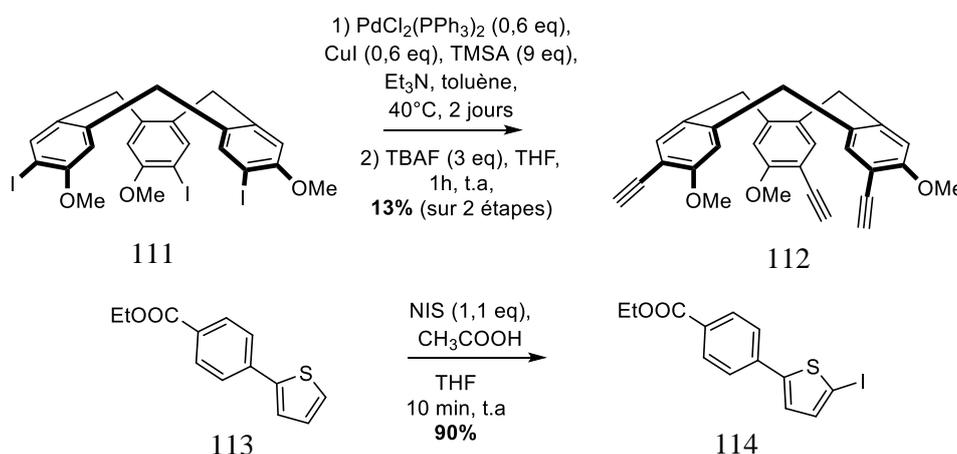


Schéma 10 : synthèse du CTV-alcyne et du groupement thiophène halogéné

Une fois les deux fragments synthétisés, nous avons réalisé un couplage de Sonogashira entre l'espèce halogénée **87** portant le groupement attracteur (ce qui va favoriser l'addition oxydante) et l'alcyne vrai **85** substitué par un groupement donneur (schéma 11). Cette substitution va avoir pour effet de diminuer l'énergie de la HOMO du composé halogéné et d'augmenter l'énergie de la LUMO de l'alcyne et donc de favoriser la réaction.

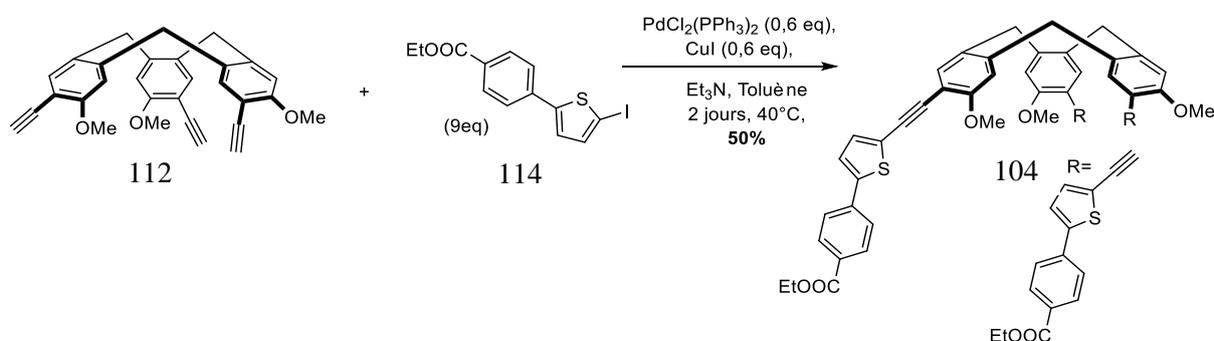


Schéma 11 : synthèse du composé **104**

Cependant, même en inversant les groupements, nous n'avons pu obtenir le composé souhaité de façon pur. Nous avons récupéré une grande partie de CTV-alcyne de départ, ce qui indique que le fluorophore n'a pas réussi à être greffé dessus.

Pour finir, le mélange CTV-thiophène avec l'homocouplage a été envoyé à la plateforme de chimie analytique de l'ism₂ de Marseille. Ils ont réussi à purifier le produit par HPLC chirale, en utilisant des colonnes Whelk-O1 et en utilisant comme phase mobile un mélange 20/40/40 heptane/ethanol/DCM, séparant par la même occasion les deux énantiomères (Figure 56). Sur le chromatogramme, le pic du produit d'homocouplage apparaît à 6,5 min puis les deux énantiomères du CTV **104** 8,28 et 9,59 min).

Lors de la séparation des deux énantiomères, un complexe hétérochiral (dimère formé par les deux énantiomères) a été observé. Une solution d'un seul des énantiomères a été préparée et laissée à température ambiante pendant 7 jours. Après cette durée, la solution a été injectée en HPLC. Il a été observé trois pics : un pour chaque énantiomère (le CTV ayant racémisé) et un troisième pic qui correspondrait à un dimère composé de chaque énantiomère. Ce travail a été effectué par Nicolas Vanthuyne et Marion Jean. La formation de ce dimère peut expliquer les difficultés rencontrées lors de la purification du produit. Le produit d'homocouplage pourrait être piégé entre les deux énantiomères du CTV, ce qui rendrait sa séparation impossible.

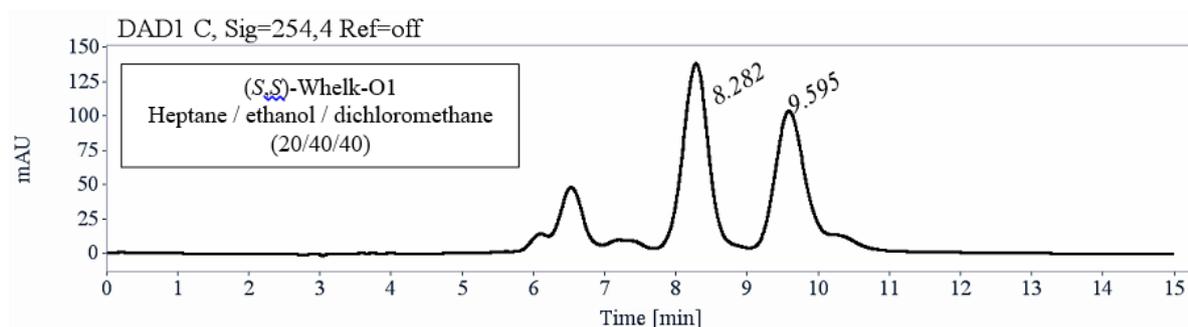


Figure 56 : chromatogramme du CTV-thiophène avant purification par HPLC

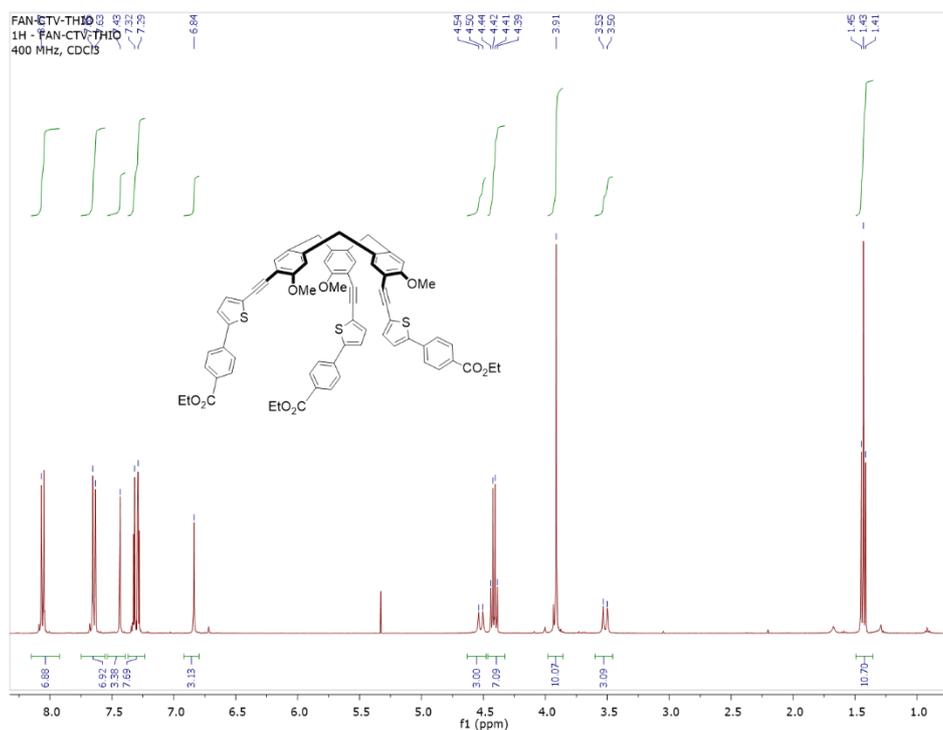


Figure 57 : RMN ¹H du composé **104** dans le chloroforme à 600 MHz

On peut voir sur le spectre RMN ^1H (Figure 57) le système AB caractéristique des méthylènes du CTV (deux doublets à 3,5 et 4,5 ppm), le signal du méthoxy à 3,91 ppm, ceux des aromatiques du CTV (singulets à 6,84 et 7,43 ppm), les signaux des protons aromatiques du thiophène (doublets à 7,29 et 7,32 ppm) et les aromatiques du fluorophore (doublets à 7,63 et 8,02 ppm). Pour finir, le triplet et le quadruplet de l'ester d'éthyle apparaissent à 1,43 ppm et à 4,42 ppm.

Une fois le CTV **104** obtenu, celui-ci a été saponifié pour le rendre soluble en milieu aqueux. Pour cela, les conditions développées précédemment aux laboratoires ont été reprises. De la soude à 5M dans un mélange THF/eau a été utilisée (schéma 12).

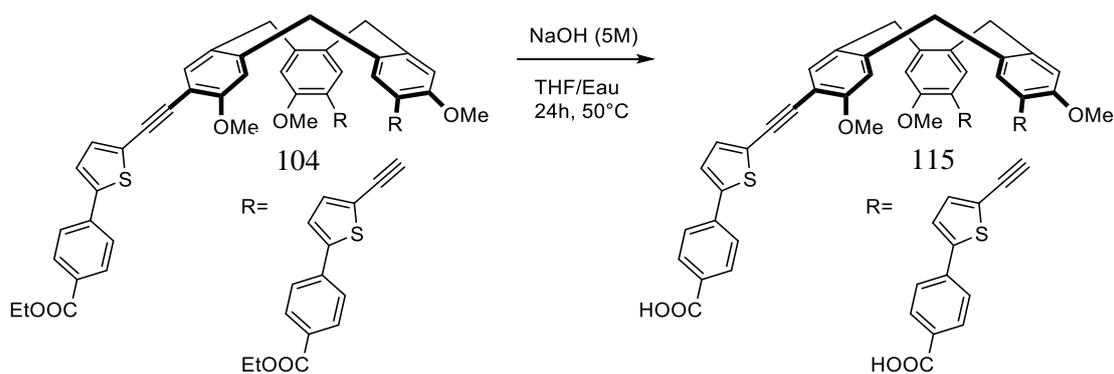


Schéma 12 : saponification du CTV 80

Après la réaction, nous avons pu voir par RMN ^1H la disparition des esters d'éthyle ainsi que l'apparition d'un pic à 13 ppm, caractéristique des acides carboxyliques. Cependant, nous avons également pu voir par RMN ^1H la formation de petits pics dans la région des aromatiques, notre produit n'était donc pas pur (Figure 58). La réaction a été effectuée plusieurs fois afin de vérifier que ces pics ne venaient pas d'une impureté introduite dans le milieu. Nous avons obtenu les mêmes résultats à plusieurs reprises, nous confirmant que les impuretés venaient de la réaction. L'apparition de ces pics pourrait également être attribuée à la formation de dimère hétérochiraux ou encore à une différence de protonation.

Le produit possédant 3 acides carboxyliques, est trop polaire pour être purifié par colonne de gel de silice. Nous avons cherché des conditions afin de le purifier par HPLC mais le produit étant soluble uniquement en présence d'une base, celui-ci n'a pas été retenu par la colonne, ce qui a empêché de le purifier.

Après de nombreux essais avec différentes conditions de solvants, ce produit a été mis de côté étant donné qu'il n'était pas pur.

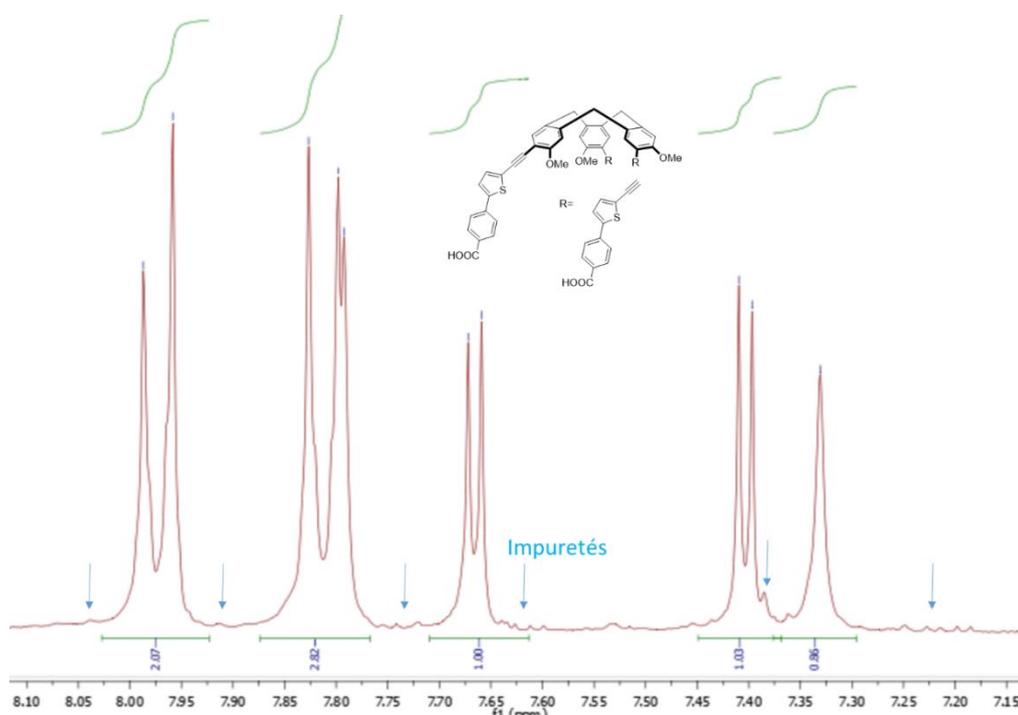


Figure 58 : RMN ^1H du CTV **115** avec les impuretés dans le DMSO à 300 MHz

2) Conjugaison avec des alcènes

- Réaction de Heck

Toujours dans le but d'augmenter les longueurs d'ondes de la sonde, l'introduction d'un alcène à la place d'un alcyne a été envisagée.⁹⁴ Pour cela, différentes réactions sont possibles comme le couplage de Heck, la réaction de Wittig ou la réduction d'alcyne par hydrogénation. Ceci permettrait d'augmenter d'environ 20 nm les longueurs d'ondes obtenues avec la sonde **76** possédant un alcyne.⁹⁵

Le couplage de Heck (Figure 59) est un couplage au palladium entre un composé halogéné et un alcène. Le cycle catalytique comporte quatre étapes : addition oxydante, insertion, β -élimination et élimination réductrice.

⁹⁴ Mongin, O. Charlot, M. Katan, C. Porre, L. Parat, M. Pions, T. Mertz, J. Blanchard-Desce, M. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **2004**, 9, 5516.

⁹⁵ Charlot, M. Izard, N. Mongin, O. Riehl, D. Blanchard-Desce, M. *Chem. Phys. Lett.*, **2006**, 417, 297.

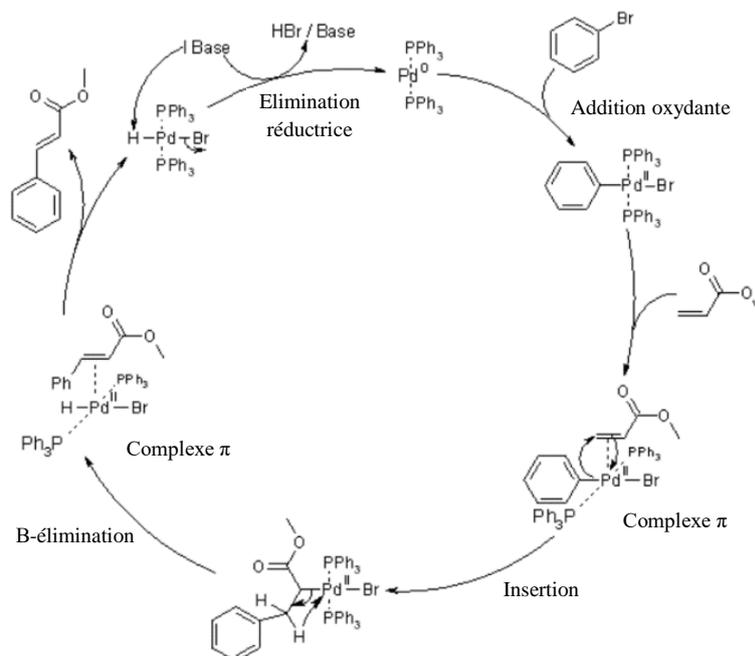
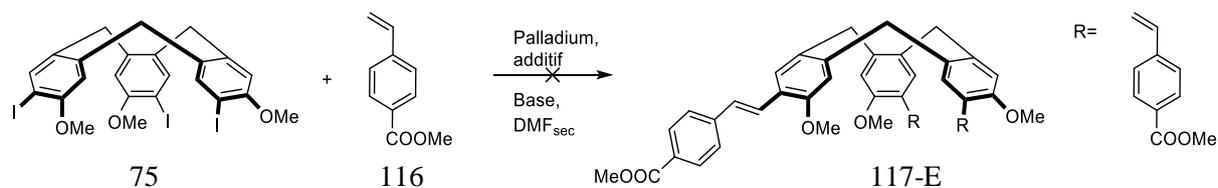


Figure 59 : mécanisme du couplage de Heck

Nous avons tout d'abord voulu effectuer une réaction de Heck entre le CTV triodé **75** et un styrène commercial **116** (Figure 60).

Nous avons essayé différentes méthodes en faisant varier la source de palladium, la base et en rajoutant des additifs. Le solvant a été gardé constant, le CTV triodé **75** étant moins soluble dans les solvants autres que le DMF. Les différentes conditions provenant de la littérature qui ont été testées sont répertoriées dans le tableau ci-dessous :



Réaction	Palladium	Additifs	Base	Temp.	Molécule 75 / Molécule 117-E	Ref.
1	Pd(dba) ₂	P(OPh) ₃	K ₂ CO ₃	85°C	100%/0%	⁹⁶
2	Pd(dba) ₂	P(OPh) ₃	Et ₃ N	85°C	100%/0%	Non décrit
3	Pd(dba) ₂	P(OPh) ₃	Et ₃ N	M.O 140°C	100%/0%	⁹⁷
4	Pd(OAc) ₂	LiCl/TBAC	NaHCO ₃	130°C	100%/0%	⁹⁸

Figure 60 : conditions de Heck testées pour l'insertion d'un alcène

⁹⁶ T. R. Carvajal, S. M. Kuebler, C. A. Sierra, *Synthetic Metals*, **2015**, 209, 183-187

⁹⁷ H. Wang, H. Cheng, F. Zhao, *Green and Sustainable Chemistry*, **2014**, 4, 1-6

⁹⁸ T. Jeffery, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 10113

Cependant, aucune de ces conditions n'a permis d'obtenir le produit souhaité. En analysant les spectres RMN des bruts on peut voir que le CTV triiodé **75** est toujours présent et que l'addition oxydante du palladium dans la liaison C-X ne se fait pas dans ces conditions. Notre système étant riche en électrons, l'addition oxydante n'est pas favorisée. Ceci pourrait être la raison du manque de réactivité.

Les conditions 4 ont été développées par Jeffery.¹⁵ Des sels d'ammoniums quaternaires ont été ajoutés au milieu réactionnel pour générer des nanoparticules de palladium et rendre la réaction plus efficace. Mais même en utilisant ces conditions nous n'avons pu obtenir le composé souhaité et seul le produit de départ est observé en RMN ¹H.

- Réaction de Wittig

Une autre voie de synthèse que nous avons étudiée pour accéder à cet alcène passe par une réaction de Wittig, entre un aldéhyde et un sel de phosphonium.

Il avait été précédemment décrit au laboratoire le passage du CTV triiodé **75** à un CTV tri aldéhyde **120** et il a été facile de synthétiser le sel de phosphonium **119** à partir d'une méthode de la littérature⁹⁹ (schéma 13).

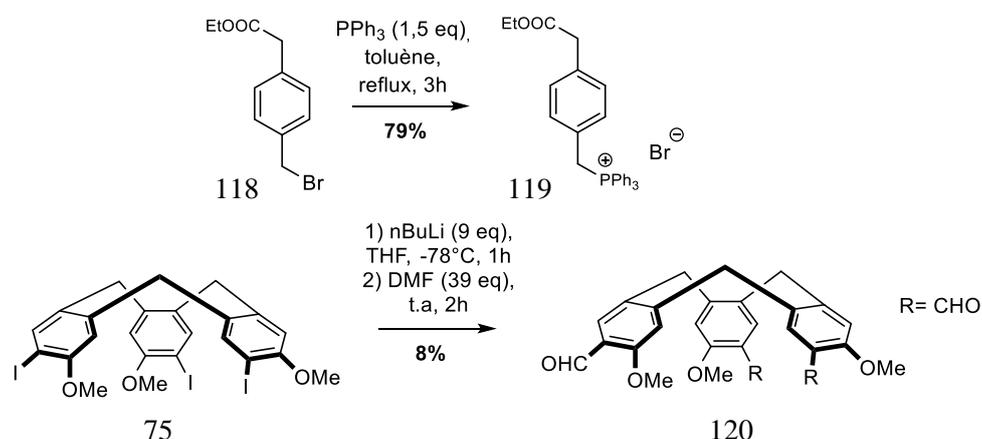


Schéma 13 : synthèse des précurseurs pour la réaction de Wittig

Le sel de phosphonium est synthétisé en substituant le brome par de la triphénylphosphine. Le produit précipite et est récupéré par simple filtration avec un rendement de 87%.

Le CTV aldéhyde **120** s'obtient en faisant un échange halogène/lithium suivi d'une addition du lithien sur le diméthylformamide. Le produit a été obtenu pur avec un faible rendement de 8%. En analysant le spectre RMN ¹H du brut de la réaction, on voit que le produit **120** est majoritaire. Ce faible rendement peut donc s'expliquer par des problèmes de purification par chromatographie sur gel de silice. En effet, des sous-produits qui n'ont pas été identifiés et dont

⁹⁹ R. N., McDonald, T. W. Campbell, *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 1969–1975

la polarité est proche du composé **120** étaient présents. Leurs signatures RMN ^1H présentent des signaux dans la zone des aldéhydes ainsi que des signaux dans la zone des méthylènes du CTV, ces sous-produits pourraient donc être des CTV mono fonctionnalisés et di fonctionnalisés.

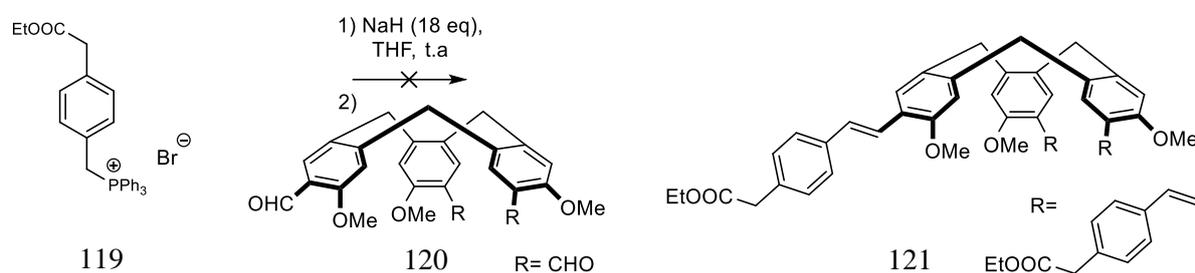


Schéma 14 : réaction de Wittig avec un CTV

La réaction de Wittig a donc été effectuée entre le CTV aldéhyde et le sel de phosphonium (schéma 14). Cependant, le produit désiré n'a pas été observé en RMN ^1H . On observe un blindage des signaux du composé **119**, nous indiquant que l'on forme bien l'ylure (disparition d'un proton benzylique en α du phosphore). Cependant, même après 3 jours de réaction, les signaux du CTV **120** n'ont pas bougés. Le CTV **120** n'a donc pas réagi avec l'ylure. Il aurait pu être intéressant de chauffer la réaction. Le CTV aldéhyde étant difficile à obtenir, un seul essai de cette réaction a été fait.

- Réduction d'un alcyne

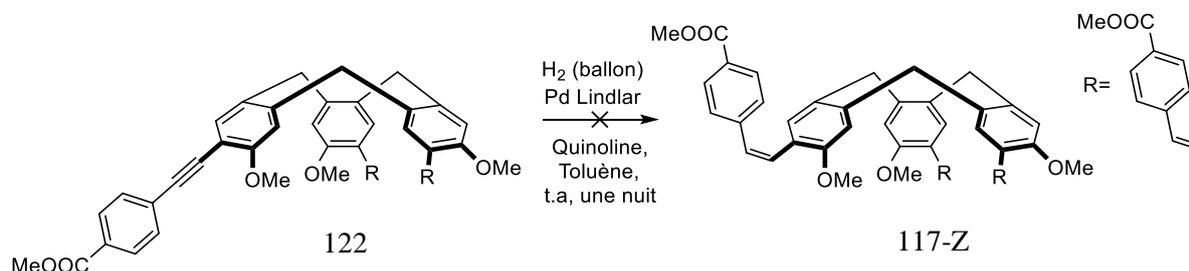


Schéma 15 : réduction de l'alcyne par le catalyseur de Lindlar

Une étudiante de master 1 a fait pendant son stage plusieurs CTVs avec des R différents, dont la synthèse du composé **122**. Avec le produit obtenu, nous avons fait un essai de réduction de l'alcyne en alcène par une réaction d'hydrogénation en présence de palladium empoisonné (schéma 15). Après une nuit dans ces conditions, aucune présence d'alcène n'a été observée par RMN ^1H . Seulement le produit de départ était présent. La quantité de produit de départ étant faible, il n'a été possible de réaliser qu'un seul essai pour cette réaction. Il aurait pu être intéressant de forcer les conditions (utiliser du Pd/C ou augmenter la pression de H_2) afin de voir s'il était possible d'obtenir le produit souhaité, même si l'utilisation d'hydrogène dans un

système riche en aromatiques n'est pas forcément la meilleure solution. Une autre méthode utilisant du nickel et permettant d'obtenir le stéréoisomère E (dont les propriétés spectroscopiques devraient être meilleures que celles du stéréoisomère Z) aurait pu être envisagée.¹⁰⁰

Devant la difficulté pour obtenir un CTV-alcène, nous avons décidé d'envisager d'autres méthodes pour augmenter les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission.

d) En greffant des fluorophores coumarine, BODIPY, benzothiadiazole

1) Synthèse du CTV 130

Nous nous sommes intéressés aux coumarines. Les coumarines sont des fluorophores qui ont beaucoup été utilisés en tant que marqueurs fluorescents étant donné que ce sont des molécules avec une fluorescence importante.¹⁰¹ Les caractéristiques de la coumarine typique, la 4-méthyl-7-hydroxycoumarine, sont les suivantes ($\lambda_{\text{abs}} = 360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 450 \text{ nm}$, $\epsilon = 1,7 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, $\Phi = 0,63$). Ce fluorophore se fait facilement en une étape souvent par condensation de Pechmann¹⁰² avec de bons rendements (schéma 16).

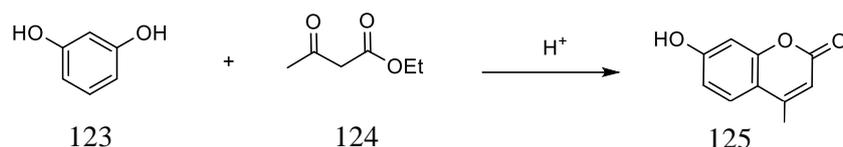


Schéma 16 : formation d'une coumarine par condensation de Pechmann

Dans le cadre d'une collaboration avec le Dr. Emilie Genin, la coumarine **130** synthétisée dans son laboratoire, a été utilisée (schéma 17). Cette coumarine est fonctionnalisée par un alcyne vrai, permettant de la greffer sur le CTV triiodé par réaction de Sonogashira. Elle est également substituée par un ester d'éthyle, qui une fois saponifié pourrait permettre de rendre le composé hydrosoluble.

Voici la synthèse de cette coumarine dont seule la première étape n'a pas été refaite au laboratoire (schéma 17). Le composé **126** est obtenu par une condensation de Knoevenagel. Le phénol est ensuite transformé en triflate **127** avec un rendement de 58% puis une réaction de Sonogashira est effectuée pour obtenir le composé **128** avec un rendement de 55%. Le

¹⁰⁰ E. Richmond, J. Moran, *J. Org. Chem.*, **2015**, *80*, 6922–6929

¹⁰¹ L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chem. Biol.*, **2014**, *9*, 855–866

¹⁰² Von Pechmann, H., and Duisberg, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1883**, *16*, 2119–2128

groupe silyle est enlevé grâce à du K_2CO_3 dans l'éthanol absolu avec un rendement de 87%, la réaction avec le fluorure de tetrabutylammonium n'ayant pas fonctionnée.

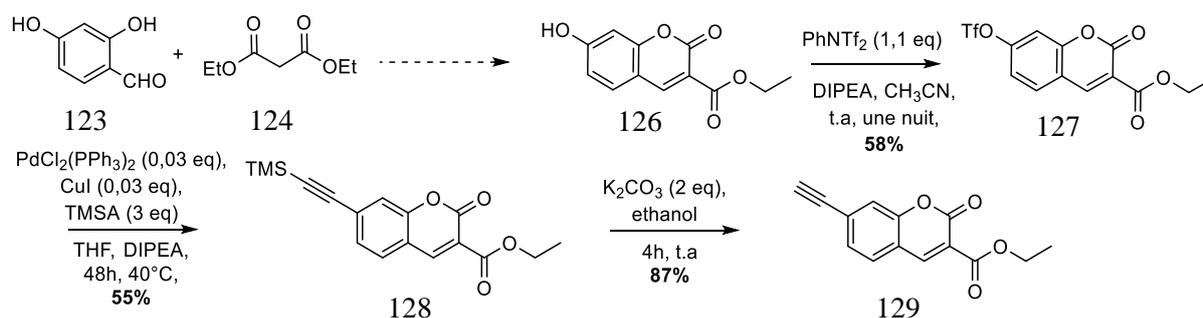


Schéma 17 : synthèse de la coumarine

Le CTV **130** a été synthétisé de manière analogue à partir du CTV triiodé **75** (schéma 18). La réaction a d'abord été effectuée dans les conditions précédentes, avec le toluène comme solvant. Cependant, le produit désiré n'a pas pu être obtenu, sûrement à cause d'un problème de solubilité. Les coumarines étant bien solubles dans le THF, celui-ci a été utilisé. En suivant la réaction par RMN 1H , nous avons pu voir des différences de déplacement chimiques des pics des produits de départ. Les protons du pont méthylène du CTV ainsi que celui du méthoxy sont déblindés d'environ 0,14 ppm. Ceci nous indique que le produit de départ **75** a bien réagi avec la coumarine. De plus, le CTV **75** a été entièrement converti en produit. Afin de purifier le produit, des colonnes de gel de silice ont été faites mais cela n'a pas permis d'obtenir le produit pur. De plus, nous perdions beaucoup de produit à chaque colonne (éluant : DCM/MeOH 99/1 ou DCM/AcOEt 80/20), malgré les rinçages au méthanol en fin de colonne. Ceci est sûrement dû au manque de solubilité du produit.

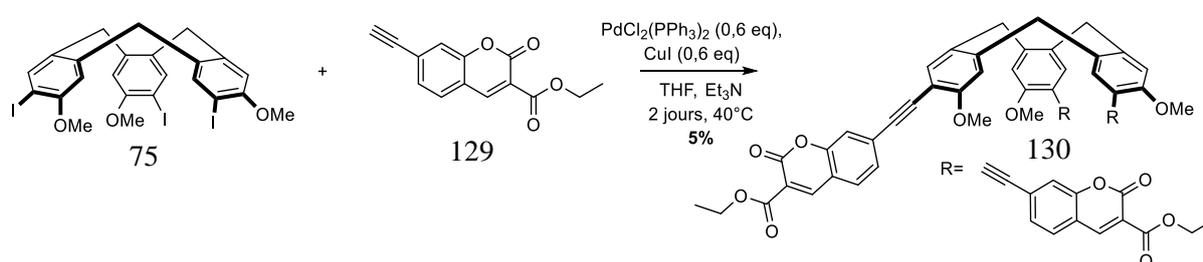


Schéma 18 : synthèse du CTV-coumarine

Le composé **130** s'est avéré très peu soluble dans des solvants tels que le DCM, le THF, l'éthanol, l'acétone ou l'acétonitrile.

Afin de le rendre plus soluble en milieu organique, nous avons voulu augmenter la longueur de chaîne des esters (schéma 19). Pour cela, le CTV **130** est mis en suspension dans le butanol en présence d'APTS. Le ballon est chauffé et un appareil de distillation est placé sur le ballon pour

déplacer l'équilibre. Cependant cela n'a pas fonctionné et seulement le composé de départ a été obtenu.

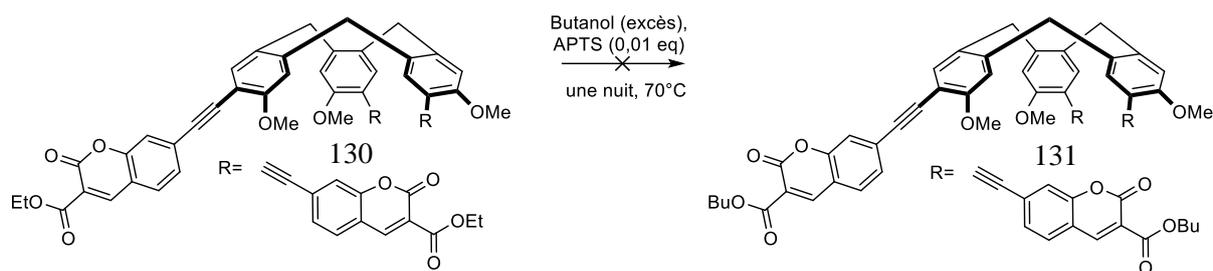


Schéma 19 : transestérification de l'éthyle du CTV-coumarine par un butyle

Le produit **130** a pu être purifié par HPLC chirale à Marseille en utilisant une colonne Chiralpak IF et une phase mobile Heptane/ethanol/DCM (20/40/40). Le produit d'homocouplage sort à 3,25 min et les deux énantiomères du CTV **130** à 6,345 et 8,133 min. (Figure 61).

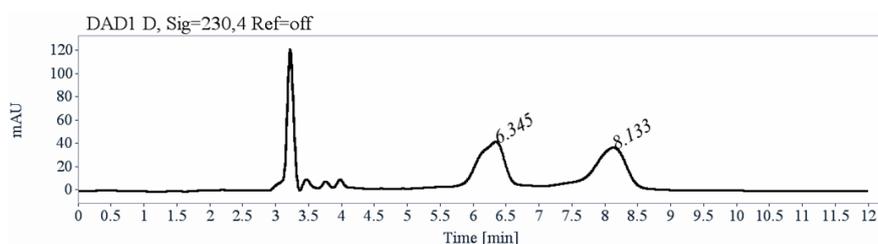


Figure 61 : chromatogramme du CTV-coumarine en HPLC analytique

6 mg de produit ont pu être obtenus purs (en partant de 80 mg de brut), ce qui nous a permis de caractériser le CTV **130** et de pouvoir déterminer ses propriétés spectroscopiques mais pas suffisamment pour tester la reconnaissance.

2) Synthèse du CTV **153**

Le 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene, abrégé BODIPY, est un fluorophore possédant de grandes longueurs d'ondes d'absorption et d'émission (autour de 500 nm) et un rendement quantique important (> 0,80 pour les meilleurs) (Figure 62).¹⁰³

Ils sont peu sensibles à la polarité et au pH et sont assez stables pour être utilisés en conditions physiologiques.¹⁰⁵

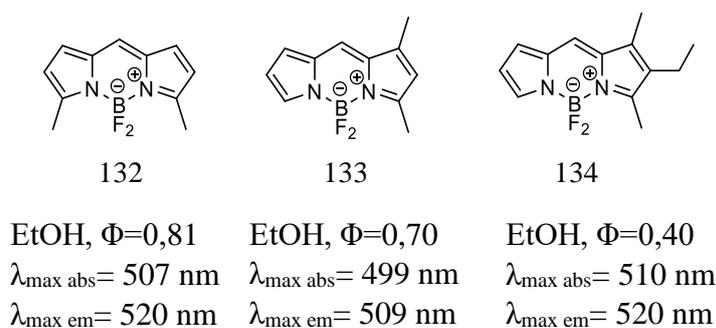


Figure 62 : BODIPY présents dans la littérature

¹⁰³ A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 4891-4932

La synthèse se fait en deux étapes dans le même ballon car le produit intermédiaire n'est pas stable (schéma 20). La première étape est une condensation du chlorure d'acyle avec le pyrrole puis une base (souvent une amine) est ajoutée dans le milieu et enfin le bore est inséré par addition de trifluorure de bore. La structure du BODIPY peut également être modifiée pour améliorer ses propriétés de fluorescence ou bien le rendre soluble en milieu aqueux.

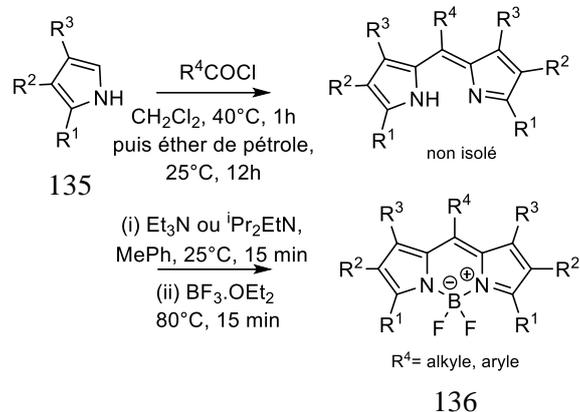


Schéma 20 : synthèse d'un BODIPY

Nous avons dans un premier temps cherché une synthèse efficace et simple pour synthétiser un BODIPY. De nombreuses synthèses sont décrites dans la littérature, cependant il est parfois difficile d'atteindre les rendements annoncés. C'est pour cela que nous avons testé différents modes opératoires.

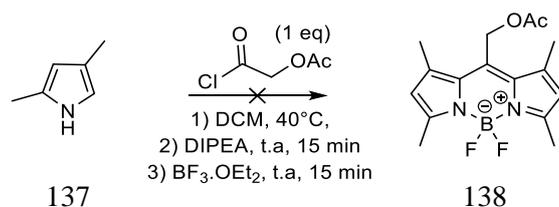


Schéma 21 : essai de synthèse d'un BODIPY

Ce premier essai, utilisant un chlorure d'acyle pour former un BODIPY avec deux pyrroles identiques, n'a pas permis d'obtenir le produit désiré, nous n'avons observé aucune formation du BODIPY (schéma 21). La réaction a été faite une deuxième fois mais nous avons également obtenu 0% de rendement alors que cette synthèse était décrite dans la littérature avec 79% de rendement. C'est pour cela que nous nous sommes tournés vers une autre méthode.

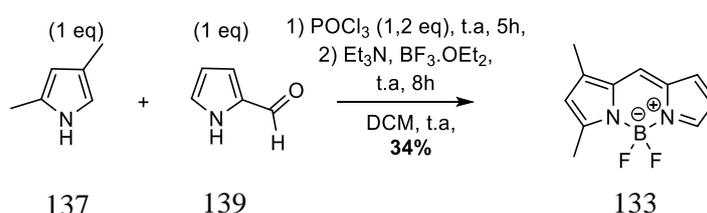
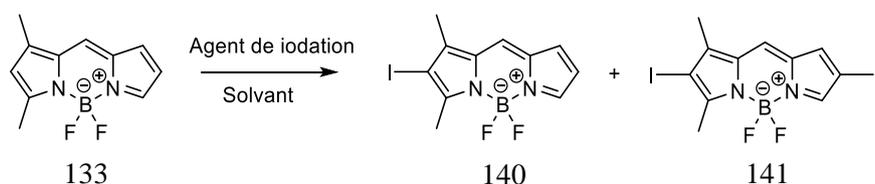


Schéma 22 : synthèse d'un CTV dissymétrique

En utilisant une méthode avec du 1H-pyrrole-2-carbaldehyde et du trichlorure de phosphoryle, nous avons pu obtenir un cœur BODIPY dissymétrique avec un rendement de 34% (schéma 22).

Nous avons ensuite voulu effectuer une monoiodation du BODIPY (Figure 63). Pour cela, différents agents d'iodation ont été testés et les temps de réaction ont été modifiés afin de n'introduire qu'un seul atome d'iode sur la molécule.



Réaction	Agent d'iodation	Solvant	Temps	Temp.	Composé 133/140/141	Ref.
1	NIS (1 eq)	DCM	4h	t.a	20%/0%/80%	104
2	ICl (1 eq)	DCM/MeOH	0.5h/1h	Reflux	40%/30%/30%	105
3	ICl (1,2 eq)	DMF/MeOH	1h	t.a	70%/30%/0%	106

Figure 63 : essais de monoiodation du BODIPY

Selon l'agent d'iodation, nous avons obtenu des quantités différentes de composé monoiodé, diiodé et de produit de départ. L'agent d'iodation a toujours été ajouté à la solution lentement afin de favoriser la monoiodation. Le produit monoiodé n'a pas pu être obtenu de façon pure par purification sur colonne de gel de silice. La polarité des 3 composés étant trop proche, il n'a pas été possible de les séparer. La réaction n'étant que partielle et l'augmentation des quantités d'agent d'iodation favorisant la diiodation, il n'a pas été possible de former seulement le composé monoiodé. C'est pour cela qu'une nouvelle stratégie a été envisagée.

Nous avons pensé qu'avec un BODIPY symétrique il serait plus facile de faire une monoiodation et nous nous sommes tournés vers la méthode de Kevin Burgess qui a décrit en 2008 la synthèse du BODIPY tétraméthylé suivant (schéma 23).¹⁰⁷

¹⁰⁴ W. Wu, H. Guo, W. Wu., S. Ji, J. Zhao, *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 7056-7064

¹⁰⁵ M. J. Ortiz, A. R. Agarrabeitia, G. Duran-Sampedro, J. B. Prieto, T. A. Lopez, W. A. Massad, H. A. Montejano, N. A. Garcia, I. L. Arbeloa, *Tetrahedron*, **2012**, 68, 1153-1162

¹⁰⁶ L. Bonardi, G. Ulrich, R. Ziessel, *Org. Lett.*, **2008**, 10, 11, 2183-2186

¹⁰⁷ L. Wu, K. Burgess, *Chem. Commun.*, **2008**, 4933-4935

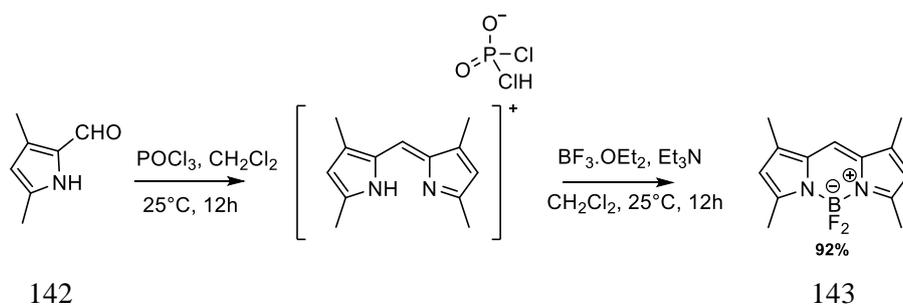


Schéma 23 : synthèse développée par l'équipe de Burgess

La synthèse du BODIPY passe par un intermédiaire dipyrrométhène. Le mécanisme possible est décrit ci-dessous (schéma 24).¹⁰⁹

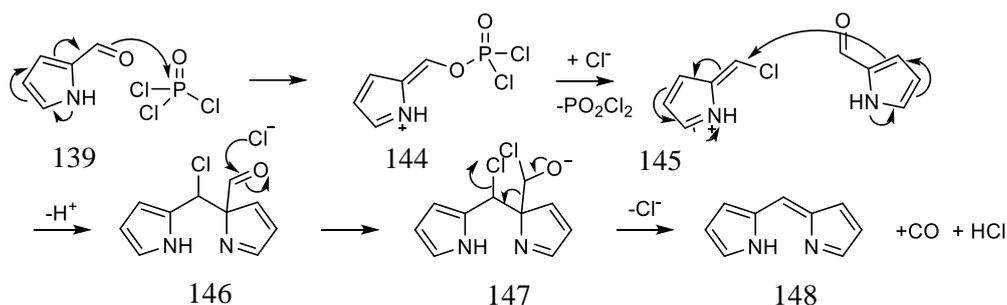


Schéma 24 : mécanisme possible de formation du dipyrrométhène

En effet, l'approche traditionnelle se fait par condensation de deux pyrroles et passe par un intermédiaire dipyrrométhène. Ici, la condensation se fait avec deux pyrrole-2-carboxaldehydes et permet d'obtenir de très bons résultats. Nous avons donc décidé d'utiliser cette méthode (schéma 25).

Il faut dans un premier temps synthétiser le pyrrole-2-carboxaldehyde ce qui a été fait par une réaction de Vilsmeier-Haack avec un bon rendement de 70%. Celui-ci a ensuite été mis dans des conditions classiques pour former le BODIPY tétraméthylé symétrique avec un bon rendement de 76%.

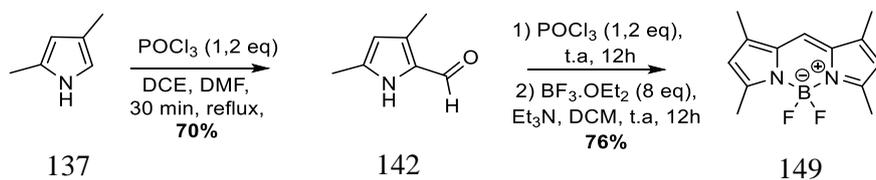


Schéma 25 : synthèse d'un BODIPY symétrique

Nous avons ensuite iodé régiosélectivement le BODIPY en utilisant du NIS dans le DCM avec un bon rendement de 72% (schéma 26). La monoiodation est caractéristique en RMN du proton. En effet, le produit monoiodé dissymétrisé **150** comporte quatre méthyles non équivalents, distincts en RMN et deux protons aromatiques. Une réaction de Sonogashira a ensuite été effectuée pour introduire ce fluorophore sur l'alcyne protégé avec un rendement de 85%.

La déprotection de l'alcyne en présence de fluorure de tetrabutylammonium dans du THF sec conduit à l'alcyne souhaité avec un rendement assez faible de 28% (contre 50% dans la

littérature)¹⁰⁸ car le cœur BODIPY n'est pas stable en présence d'ions fluorures.¹⁰⁸ La désilylation a également été testée en présence de carbonate de potassium dans le méthanol mais ceci n'a pas permis d'améliorer le rendement et le produit obtenu était moins propre.

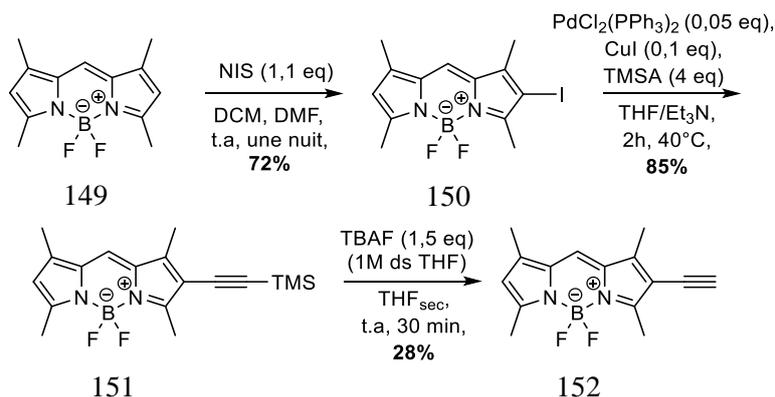


Schéma 26 : synthèse du BODIPY 60 fonctionnalisé par un alcyne

Ayant réussi à synthétiser l'alcyne fluorescent **152**, nous avons essayé de le greffer sur le CTV **75** (schéma 27).

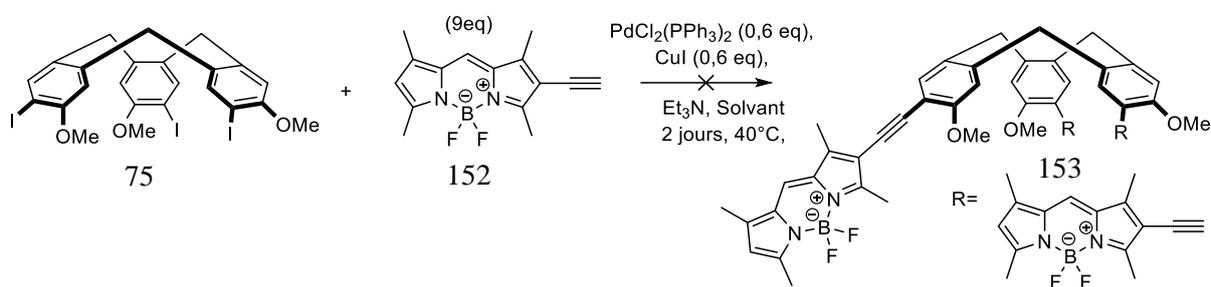


Schéma 27 : réaction de Sonogashira entre le CTV-triiodé et le BODIPY

Le premier essai a été effectué dans les conditions classiquement utilisées au laboratoire, c'est-à-dire avec le toluène comme solvant. Au bout de deux jours de réaction, un mélange noir extrêmement visqueux a été obtenu. La RMN ¹H du milieu réactionnel n'a pas permis d'observer le composé souhaité et a montré des signaux larges et masquant les signaux correspondants aux protons des méthylènes du CTV. La réaction réalisée dans le DMF n'a pas conduit à de meilleurs résultats.

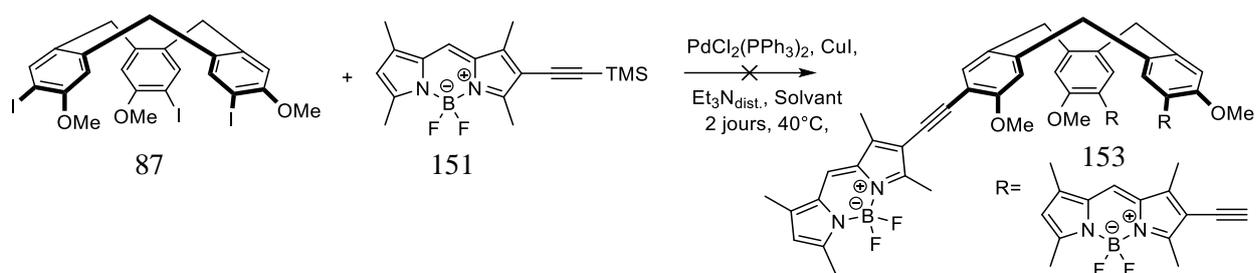
L'étape de désilylation ne permet pas d'obtenir l'alcyne vrai avec un bon rendement. Par ailleurs, il semble que le BODIPY réagisse avec lui-même lors du couplage de Sonogashira. Lors de l'analyse par RMN ¹H du brut réactionnel, seuls les signaux du BODIPY sont observés. Nous avons donc essayé de réaliser le couplage de Sonogashira entre le CTV-triiodé et l'alcyne protégé (Figure 64).

En effet, il a été décrit dans la littérature des réactions de Sonogashira entre un composé halogéné et un alcyne protégé par un groupement silylé.^{109, 110}

¹⁰⁸ C.-W. Wan, A. Burghart, J. Chen, F. Bergström, L. B.-A. Johansson, M. F. Wolford, T. GyumKim, M. R. Topp, R. M. Hochstrasser, K. Burgess, *Chem. Eur. J.*, **2003**, *9*, 4430-4441

¹⁰⁹ Y. Nishihara, E. Inoue, S. Noyori, D. Ogawa, Y. Okada, M. Iwasaki, K. Takagi, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 4869

¹¹⁰ A. Barattucci, E. Deni, P. Bonaccorsi, M. G. Ceraolo, T. Papalia, A. Santoro, M. T. Sciortino, F. Puntoriero, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 5113-5120



Réaction	Palladium	cuivre	additif	solvant	Ref.
1	Pd(PPh ₃) ₄	-	Ag ₂ O	DMF/THF	111
2	Pd(PPh ₃) ₄	CuCl	-	DMF	112
3	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	CuI	TBAF, Et ₃ N	THF	113

Figure 64 : Conditions de Sonogashira avec le BODIPY protégé

Cependant, en analysant les spectres RMN protons de la réaction, cette stratégie ne nous a pas permis d'obtenir le produit de couplage. Un mélange noir et épais a encore été obtenu. Ces difficultés pour mettre le BODIPY sur le CTV peuvent provenir d'un encombrement trop important étant donné que le BODIPY est plus gros que les autres fluorophores greffés sur le CTV. Nous nous sommes intéressés à un autre fluorophore plus petit appelé benzothiadiazole.

3) Synthèse du CTV 161

Le 2,1,3-benzothiadiazole (BTD) est un petit fluorophore qui possède de bonnes propriétés spectrales et qui peut être utilisé pour l'imagerie (schéma 28).^{114,115} Il est photostable, possède une émission de fluorescence supérieure à 400 nm, facile à manipuler, stable en solution et permet d'obtenir des images claires.

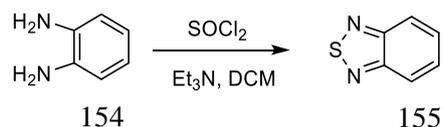


Schéma 28 : synthèse du BTD

¹¹¹ A. Barattucci, E. Deni, P. Bonaccorsi, M. G. Ceraolo, T. Papalia, A. Santoro, M. T. Sciortino, F. Puntoriero, *J. Org. Chem.*, **2014**, *79*, 5113-5120

¹¹² Y. Nishihara, E. Inoue, S. Noyori, D. Ogawa, Y. Okada, M. Iwasaki, K. Takagi, *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 4869-4881

¹¹³ R. Stezycki, M. Grzybowski, G. Clermont, M. Blanchard-Desce, D. T. Gryko, *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, 5198-5203

¹¹⁴ B. A. D. Neto, A. A. M. Lapis, E. N. da Silva Júnior, J. Dupont, *Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, 228-255

¹¹⁵ B. A. D. Neto, P. H. P. R. Carvalho, J. R. Correa, *Acc. Chem. Res.*, **2015**, *48*, 1560-1569

Il est synthétisé à partir de l'*ortho*-phenylènediamine, disponible commercialement, par condensation sur le chlorure de thionyle en présence d'une base. Cette réaction est faisable à l'échelle du gramme avec de bons rendements.

La 3-méthylbenzène-1,2-diamine commerciale a été utilisée comme produit de départ car le méthyle présent sur le BTD permet d'introduire différentes fonctions comme un phosphonate ou un ester (décrits dans la littérature). Par réaction avec le chlorure de thionyle, l'hétérocycle à 5 chaînons a été obtenu avec 71% de rendement (schéma 29).¹¹⁶ Une réaction de bromation a ensuite été réalisée¹¹⁷ avec un rendement de 84% afin d'introduire ensuite l'alcyne protégé, avec un rendement de 81%, grâce à une réaction de Sonogashira.¹¹⁸ L'alcyne est enfin déprotégé par des ions fluorures dans un mélange THF/MeOH avec un rendement de 66% en suivant la procédure décrite par l'équipe d'Avarvari.¹¹⁹

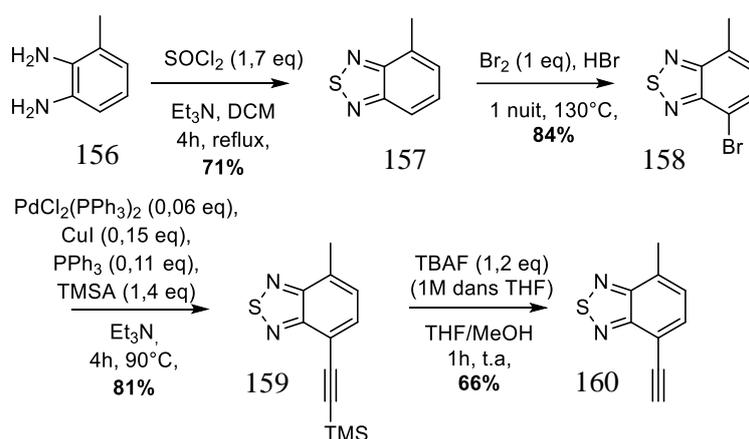


Schéma 29 : synthèse du fluorophore BTD-méthyle

Une fois le fluorophore synthétisé, nous l'avons introduit sur le CTV triiodé **75** par une réaction de Sonogashira (schéma 30). Nous avons pu obtenir le composé souhaité **161** pur avec un rendement correct de 44%. La molécule a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice puis par précipitation du produit avec du chloroforme et de l'éther diéthylique. Le produit d'homocouplage, présent dans le surnageant, a pu être éliminé par centrifugation.

¹¹⁶ S. Zhang, G. R. Hutchison, T. Y. Meyer, *Macromol. Rapid Commun.*, **2016**, 37, 882-887

¹¹⁷ S. Holliday, R. S. Ashraf, C. B. Nielsen, M. Kirkus, J. A. Röhr, C-H. Tan, E. Collado-Fregoso, A-C. Knall, J. R. Durrant, J. Nelson, I. McCulloch, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137, 898-904

¹¹⁸ A. V.Moro, P. C.Ferreira, P. Migowski, F. S.Rodembusch, J. Dupont, D. S.Lüdtke, *Tetrahedron*, **2013**, 69, 1, 201-206

¹¹⁹ F. Pop, S. Seifert, J. Hankache, J. Ding, A. Hauser, N. Avarvari, *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13, 1040

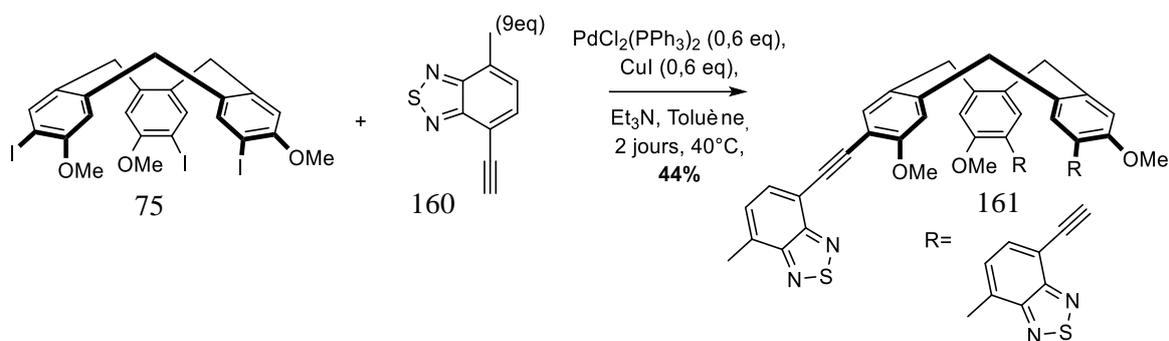


Schéma 30 : synthèse du CTV-BTD méthyle

Nous avons synthétisé un CTV possédant 3 groupements BTD, le rendant fluorescent mais soluble uniquement en milieu organique (chloroforme). Cette méthodologie va donc être appliquée à la synthèse d'un CTV substitué par un BTD fonctionnalisé par des groupes hydrosolubles.

4) Synthèse du CTV 166

Le groupement phosphonate a été choisi comme groupe hydrosoluble. Nous avons décidé de l'introduire sur le BTD, au niveau du méthyle (réaction décrite dans la littérature).¹²⁰ Le phosphonate ne sera pas conjugué mais l'introduction de celui-ci servira à l'hydrosolubilité du produit. Dans un premier temps, le méthyle est bromé avec un rendement de 68% (schéma 31). Puis le phosphonate est ajouté avec un rendement de 90% grâce à une réaction d'Arbuzov. L'alcyne est inséré comme auparavant par une réaction de Sonogashira avec un rendement de 78% puis déprotégé par des ions fluorures avec un rendement de 93%. L'alcyne vrai **165** est obtenu en 4 étapes avec un rendement global de 44 %.

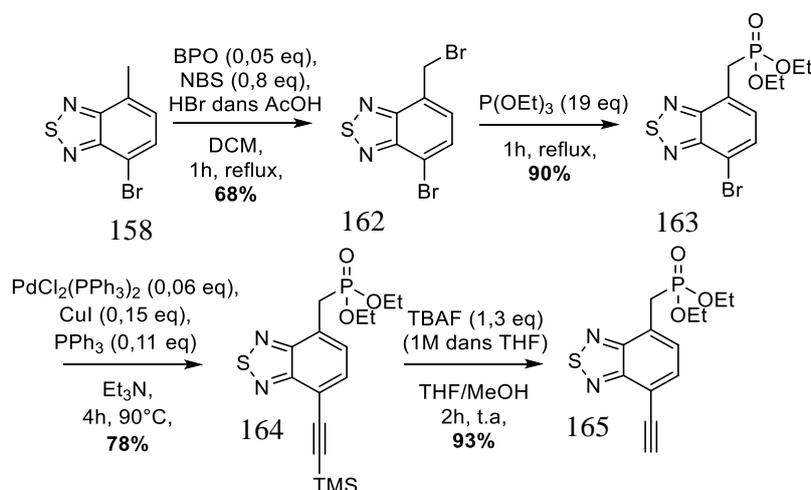


Schéma 31 : synthèse du BTD-phosphonate

¹²⁰ M. Jørgensen, F. C. Krebs, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 6004-6017

Le fluorophore a été greffé au CTV-triiodé dans les mêmes conditions que précédemment (schéma 32). Cependant, le rendement est moins bon, ce qui peut être dû à une gêne stérique, le groupement phosphonate étant plus volumineux que le méthyle.

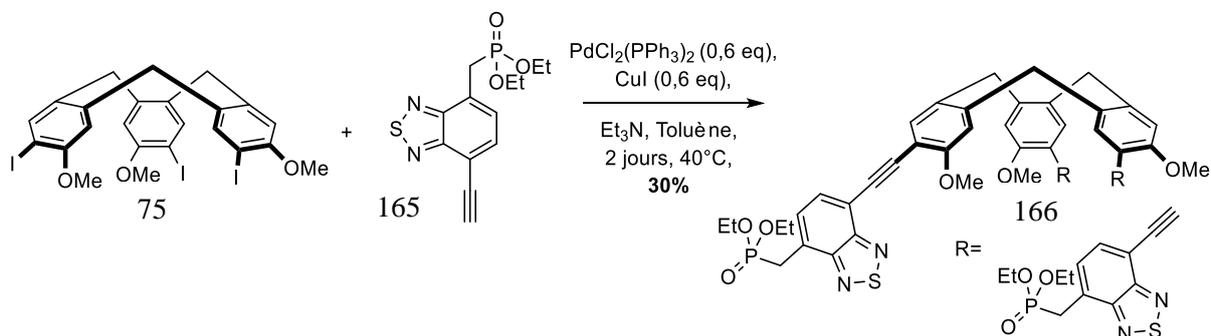


Schéma 32 : synthèse du CTV-BTD phosphonate

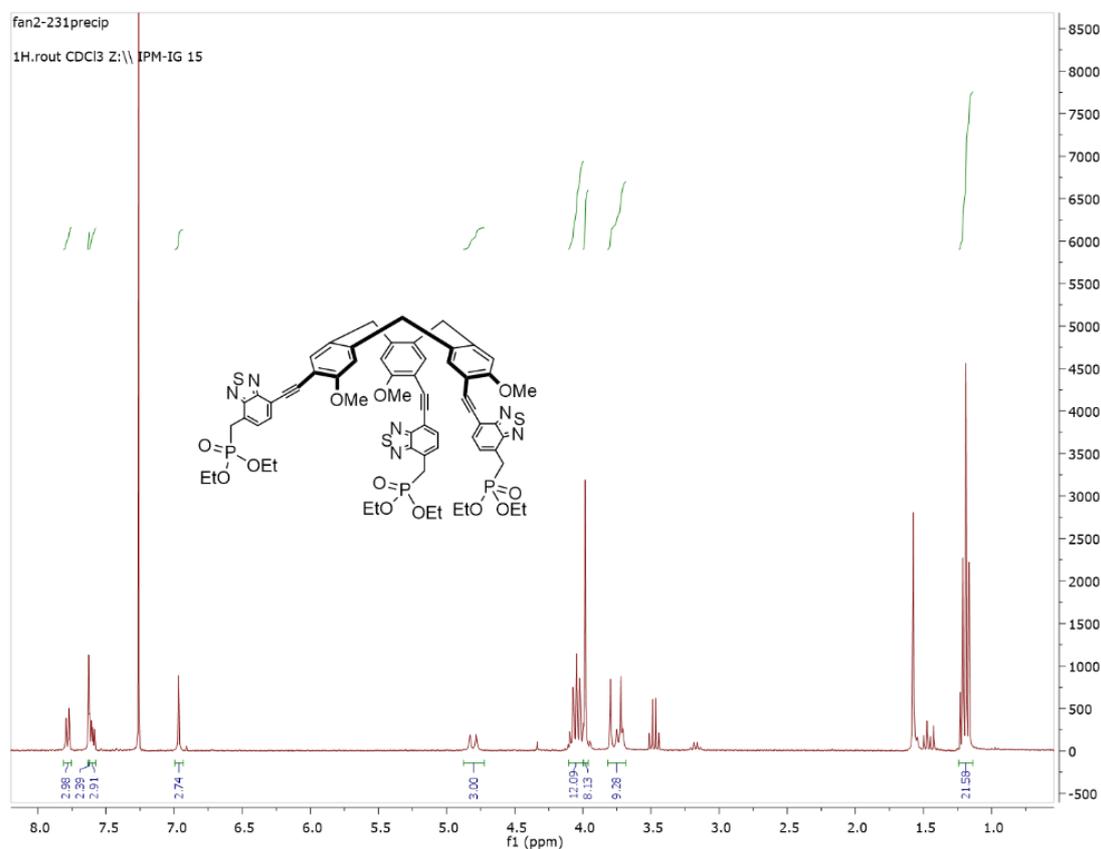


Figure 65 : RMN ^1H du composé **166** dans le chloroforme à 300 MHz

Ce CTV n'est soluble qu'en milieu organique (chloroforme), il est donc nécessaire de le saponifier pour le rendre soluble en milieu aqueux. Pour cela, les conditions précédemment développées ont été utilisées (schéma 33).

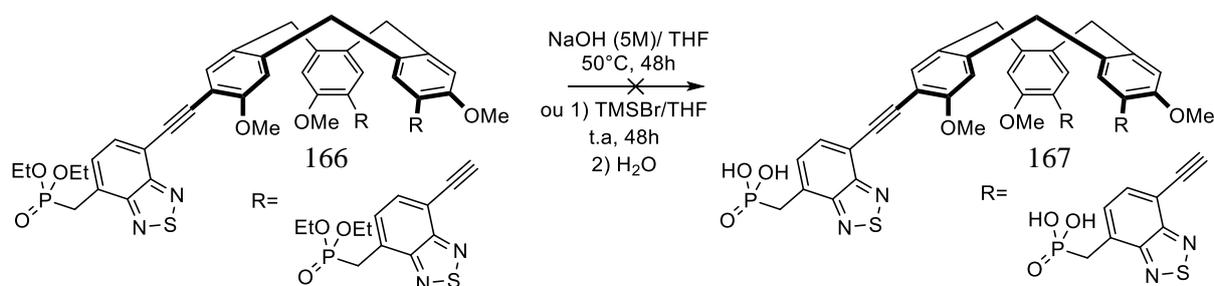
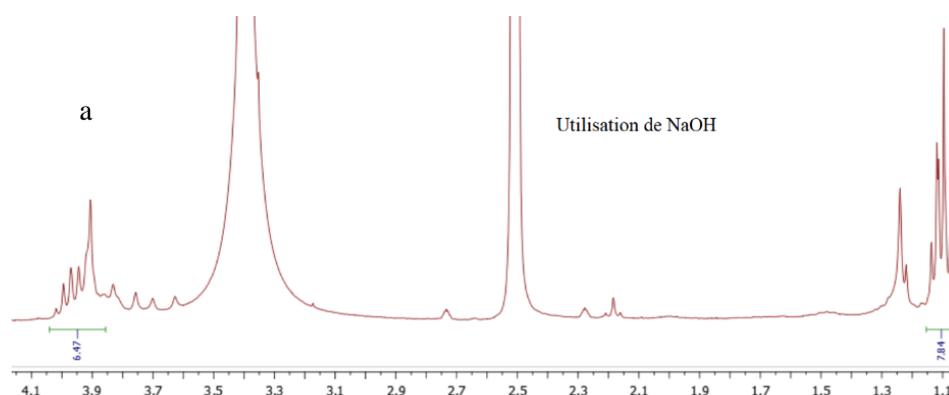


Schéma 33 : saponification du CTV-BTD phosphonate

Le produit précipite au cours de la réaction et est récupéré par filtration. Cependant, ces conditions n'ont permis qu'une déprotection partielle des éthyles du phosphonate, l'empêchant d'être hydrosoluble. La quantité de NaOH a été augmentée ainsi que le temps de réaction mais cela n'a pas permis d'hydrolyser totalement les phosphonates.

Un autre réactif permettant d'hydrolyser les phosphonates, le bromure de triméthylsilyle,¹²¹ a été testé. Ce réactif permet de former l'ester silylé qui est ensuite hydrolysé pour donner l'acide correspondant. En utilisant le TMSBr, les signaux RMN des éthoxy portés par le phosphore disparaissent entièrement (figure 66). Le CTV n'est, dans les deux cas, pas soluble en milieu aqueux (neutre et basique) et reste soluble uniquement dans le chloroforme.

On peut voir sur les spectres RMN des produits après traitement (dans le CDCl₃ pour la réaction avec NaOH et dans le DMSO pour la réaction avec TMSBr) que selon le réactif utilisé, les signaux des aromatiques sont différents (Figure 67). Les signaux des aromatiques après utilisation du TMSBr sont plus larges et moins bien définis, ce qui pourrait être le signe d'une dégradation du produit.



¹²¹ H-L. Yip, H. Ma, A. K.-Y. Jen, J. Dong, B. A. Parviz, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 5672-5679

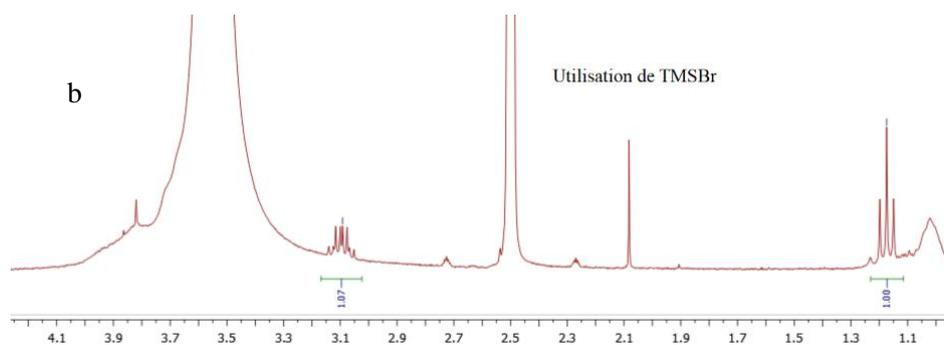


Figure 66 : RMN ^1H de la région correspondant aux éthoxy du composé **167** à 300 MHz.
 a : (spectre dans le chloroforme) et b : (spectre dans le DMSO)

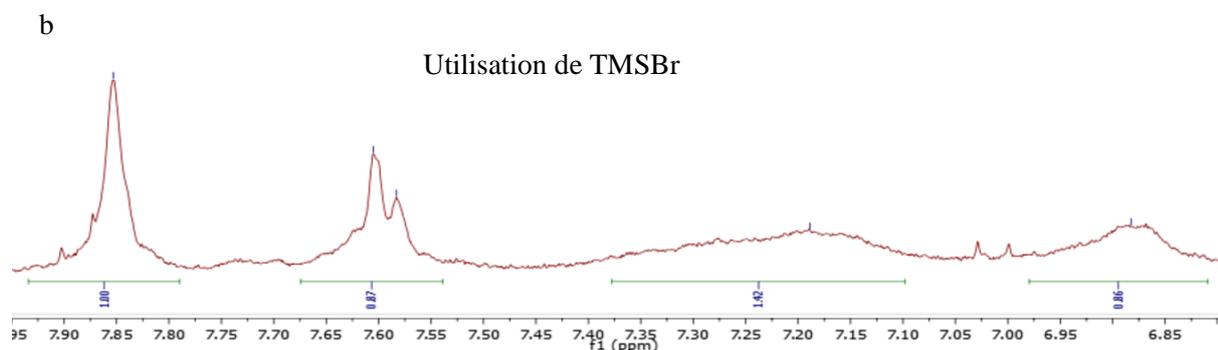
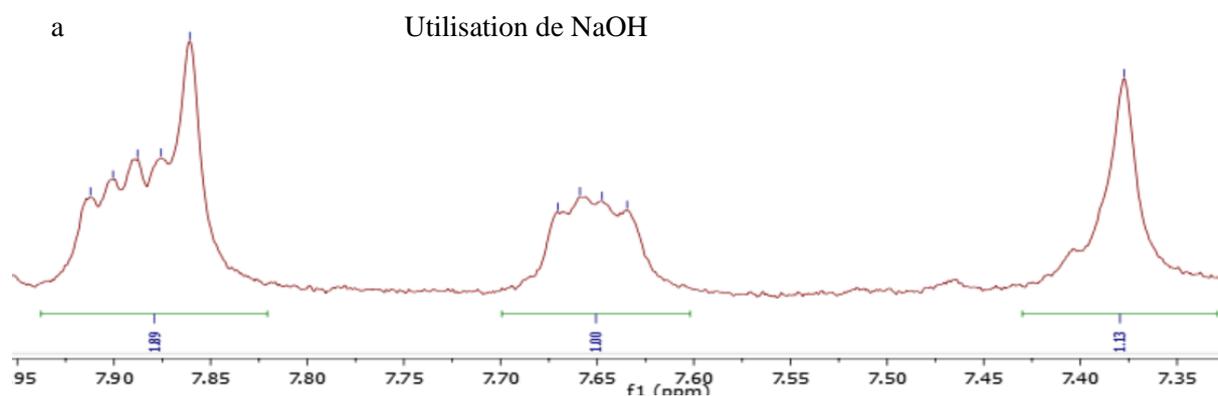


Figure 67 : RMN ^1H de la région correspondant aux aromatiques du composé **167** à 300 MHz.
 a : (spectre dans le chloroforme) et b : (spectre dans le DMSO)

Lorsqu'on enlève un éthyle, on fait apparaître une charge négative. L'apparition d'une deuxième charge négative lors de l'enlèvement du deuxième éthyle est fortement défavorisée. Ceci peut expliquer les difficultés que nous avons rencontrées avec le NaOH.

La synthèse de ce composé étant longue, nous n'avons obtenu qu'une faible quantité du produit **166** et donc pu faire que peu de tests de saponification. Les phosphonates présents sur la molécule ne s'hydrolysant pas facilement et ne garantissant pas la solubilité en milieu aqueux, d'autres groupements solubilisant ont été envisagés.

5) Synthèse du CTV **173**

L'équipe de Céline Olivier a utilisé un BTD possédant deux groupements attracteurs, un groupement cyano et un acide carboxylique.¹²² Ce fluorophore permettrait de rendre le CTV soluble en milieu aqueux après greffage, grâce aux acides carboxyliques, et améliorerait ses propriétés spectroscopiques grâce aux groupements attracteurs, en augmentant l'effet « push-pull » au sein de la sonde.

Nous avons donc synthétisé dans un premier temps un BTD contenant un groupement aldéhyde pour pouvoir le fonctionnaliser par une réaction de Knoevenagel (schéma 34).

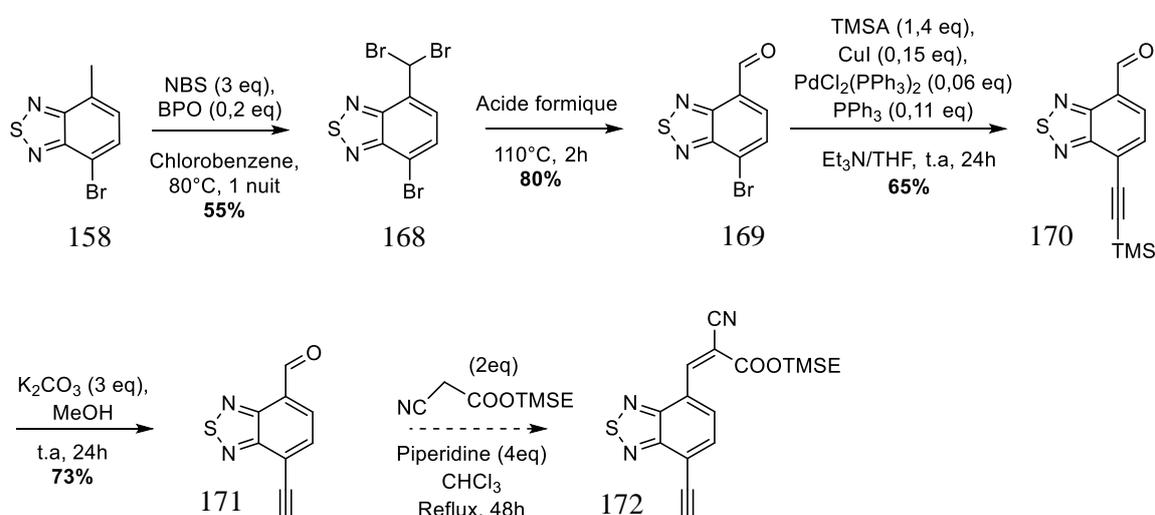


Schéma 34 : synthèse du BTD-aldéhyde

Le 4-bromo-7-méthylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole **158** est tout d'abord dibromé en présence de NBS avec un rendement de 55%. Puis une réaction de réduction de **168** est effectuée dans l'acide formique pour obtenir l'aldéhyde avec un rendement de 80%. La réaction de Sonogashira est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment avec un rendement de 65%. Le triméthylsilylène est déprotégé en utilisant du carbonate de potassium dans le méthanol avec un rendement de 73%.

Afin d'avoir à effectuer le moins d'étapes possible sur le CTV, nous avons voulu faire la réaction de Knoevenagel sur le fluorophore avant de le greffer. Nous avons utilisé les conditions

¹²² S. De Sousa, S. Lyu, L. Ducasse, T. Toupance, C. Olivier, *J. Mater. Chem. A*, **2015**, 3, 18256

décrites dans la littérature. Il a été observé par RMN la présence du composé souhaité dans le milieu réactionnel brut (observation de la présence du pic à 8,1 ppm caractéristique de l'alcène présent sur la molécule ainsi que la disparition de l'aldéhyde présent sur la molécule de départ). Cependant, il n'a pas été possible de purifier cette molécule par chromatographie sur gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 90/10). Après la colonne, un mélange de produits est récupéré. La molécule se dégrade sur la colonne.

Nous avons donc voulu greffer l'alcyne **171** directement sur le CTV triiodé **75** avec les conditions précédemment utilisées pour les autres BTD (schéma 35). Mais cette réaction n'a pas fonctionné à cause de la présence de l'aldéhyde sur le fluorophore. Sur la RMN du brut, on peut voir que le pic de l'aldéhyde du BTD a disparu et de nombreux pics dans la région des aromatiques sont présents. Le CTV triiodé **75** étant toujours présent, le BTD aldéhyde semble avoir réagi avec lui-même.

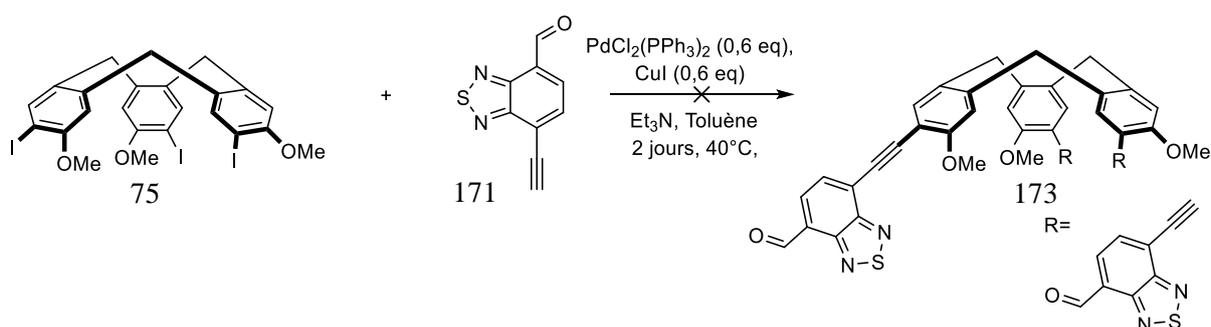


Schéma 35 : synthèse du CTV-BTD aldéhyde

6) Synthèse du CTV **177**

Nous avons donc décidé de protéger l'aldéhyde afin qu'il ne puisse pas réagir durant la réaction.

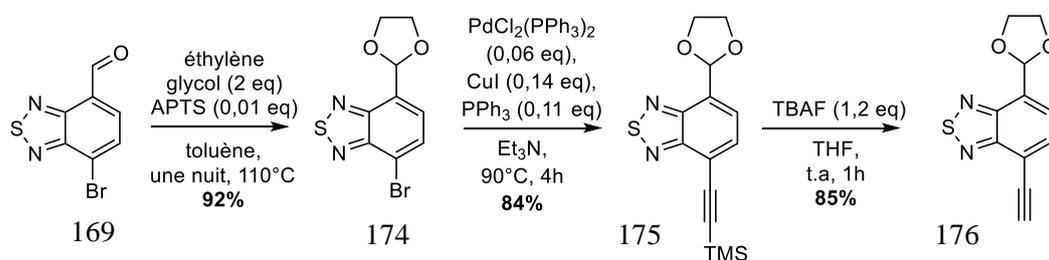


Schéma 36 : protection de l'aldéhyde

Ce travail a été réalisé avec une étudiante de première année d'école d'ingénieur. La protection de l'aldéhyde a été effectuée en utilisant de l'éthylène glycol en présence d'APTS et en utilisant un montage de Dean-Stark (schéma 36). Nous avons obtenu le produit souhaité avec un bon rendement. L'alcène est ensuite inséré sur la molécule avec les conditions précédemment utilisées. Le composé **176** a été ensuite greffé sur le CTV triiodé **75** (schéma 37), ce qui a permis d'obtenir le composé **177** avec un bon rendement de 63%.

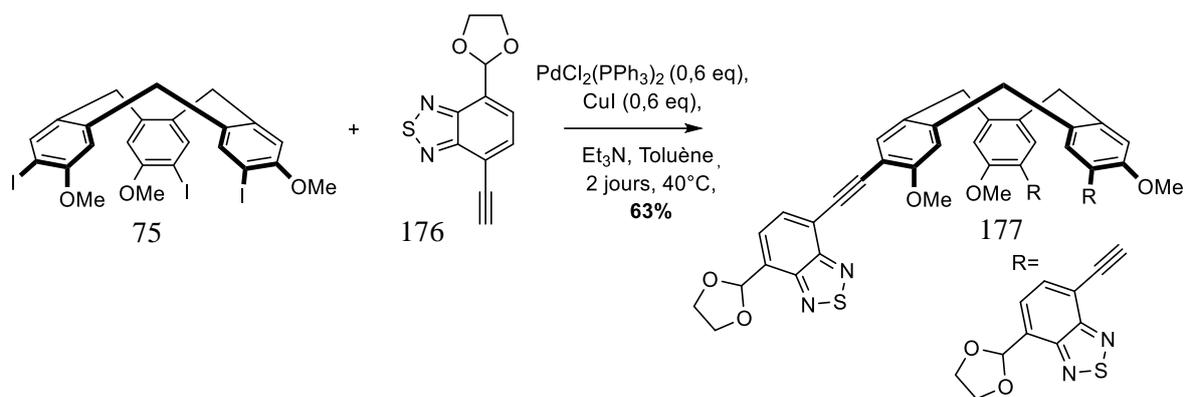
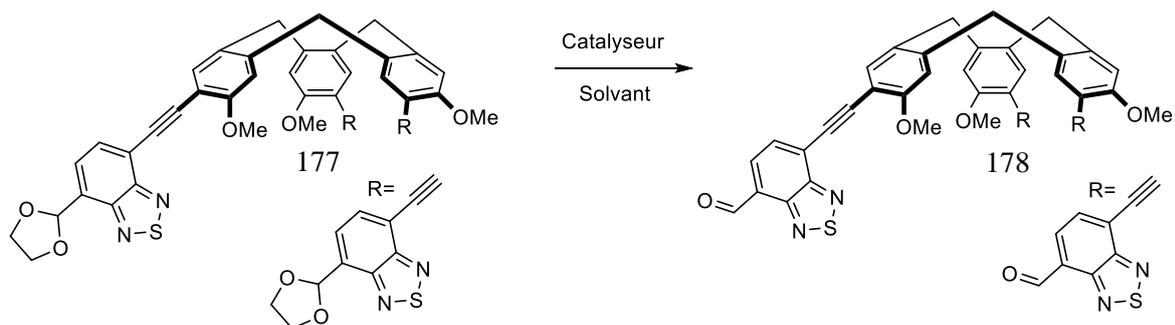


Schéma 37 : couplage du CTV 75 avec l'alcyne 176

Pour déprotéger l'aldéhyde, nous avons dans un premier temps utilisé des conditions classiques de déprotection en utilisant de l'APTS dans un mélange eau/THF (Figure 68). Cependant, seule une déprotection partielle de l'acétal a été observée, et ce même en chauffant ou en laissant la réaction pendant 48h.

Différentes conditions décrites dans la littérature ont donc été essayées afin d'obtenir une déprotection totale. Celle-ci a été possible en utilisant du fer (III) ou du PPTS mais des impuretés, en faible quantités, ont été observées dans le milieu. Les signaux RMN des impuretés se situent dans la zone des aromatiques. Pour des raisons de solubilité, le produit n'a pu être purifié.



Réaction	catalyseur	solvant	température	Ratio composé 177/178
1	APTS	THF/H ₂ O	t.a/Reflux	80/20
2	-	H ₂ O	M.O 80°C	100/0
3	I ₂ (0.1eq)	acétone	Reflux	Disparition OMe du CTV
4	FeCl ₃	DCM	t.a	0/100

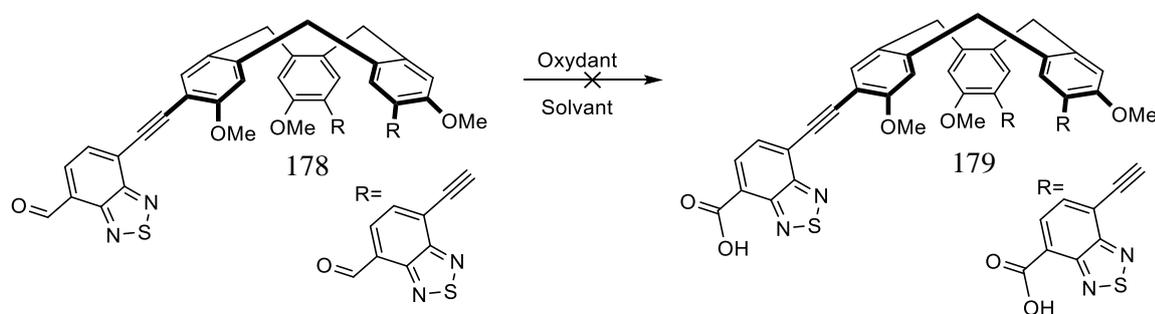
5	TFA	Chloroforme	t.a	60/40
6	HCl (3M)		t.a	100/0
7	CAN (7.5eq)	CH ₃ CN/H ₂ O	70°C	50/50
8	PPTS	Acétone/H ₂ O	M.O 80°C	0/100

Figure 68 : conditions de déprotection de l'acétal

Le produit de déprotection étant presque propre, nous avons continué la synthèse avec le brut de la réaction. L'étape suivante était l'oxydation de l'aldéhyde en acide carboxylique pour rendre la molécule soluble en milieu aqueux (Figure 69).

Différents oxydants ont été essayés mais aucun n'a permis d'obtenir le composé souhaité. Il est possible que le soufre du BTB ait été oxydé (oxydation décrite dans la littérature avec de l'acide métachloroperbenzoïque).¹²³

L'oxydation de Pinnick, qui est une oxydation douce, aurait pu être envisagée. Il aurait également pu être intéressant de faire réagir le composé **178** avec une diamine afin de former un cryptophane.¹²⁴



Réaction	Oxydant	Solvant	Temp.
1	Oxone	DMF	t.a
2	TBHP, t-BuOK	H ₂ O	60°C
3	KMnO ₄	Acétone/eau	Reflux
4	K ₂ S ₂ O ₈	DMF	t.a
5	MnO ₂ , KCN	DCM, MeOH, AcOH	40°C

Figure 69 : conditions d'oxydation de l'aldéhyde

¹²³ T. Linder, E. Badiola, T. Baumgartner, T. C. Sutherland, *Org. Lett.*, **2010**, *20*, 4520

¹²⁴ T. Brotin and J.-P. Dutasta, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 88.

Devant la difficulté à déprotéger l'acétal ainsi qu'à oxyder l'aldéhyde, nous avons décidé d'introduire l'acide carboxylique sous forme d'ester, sur le BTD avant de le greffer sur le CTV.

7) Synthèse du CTV 190

Ayant comme intermédiaire le BTD aldéhyde, nous avons voulu le transformer en une étape en ester. Différentes méthodes existent, notamment l'utilisation de I_2 , reportée en 1992 par l'équipe de Yamada,¹²⁵ qui a été utilisée sur des molécules complexes et possède une bonne compatibilité chimique (compatible avec les groupements nitro, esters, acetyl, MOM, méthoxy). En effet, en utilisant de l'iode dans un alcool, en présence de KOH, il est possible de convertir des aldéhydes en esters avec de très bons rendements (schéma 38).

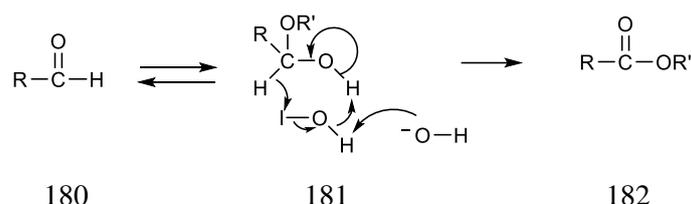


Schéma 38 : mécanisme possible de transformation d'aldéhyde en ester par I_2

Mais des conditions différentes, ayant été utilisées sur un composé dont la structure est plus proche du composé **187**, ont été choisies.¹²⁶ Ces conditions sont celles de la réaction de Corey-Gilman-Ganem (schéma 39).¹²⁷

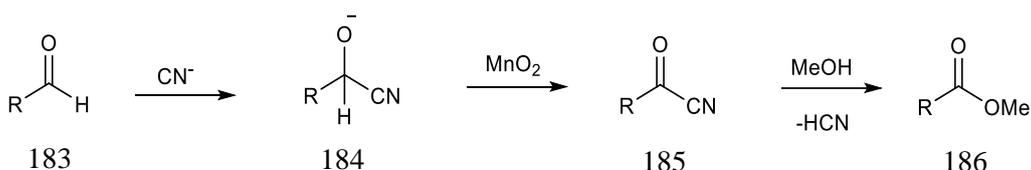


Schéma 39 : étapes de formation de l'ester par la réaction de Corey-Gilman-Ganem

Le groupement cyano va s'ajouter sur l'aldéhyde, puis le dioxyde de manganèse va oxyder la cyanhydrine. L'alcool va ensuite attaquer le carbonyle pour former l'ester correspondant en libérant du HCN. Ces conditions ont permis de transformer l'aldéhyde du BTD **73** facilement en ester et avec un rendement de 76% (schéma 40).

¹²⁵ S. Yamada, D. Morizono, K. Yamamoto, *Tetrahedron letters*, **1992**, 33, 30, 4329-4332

¹²⁶ N. Due Kjeldsen, E. Daa Funder, K. V. Gothelf, *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, 12, 3679

¹²⁷ Corey, E. J.; Gilman, N. W.; Ganem, B. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 5616

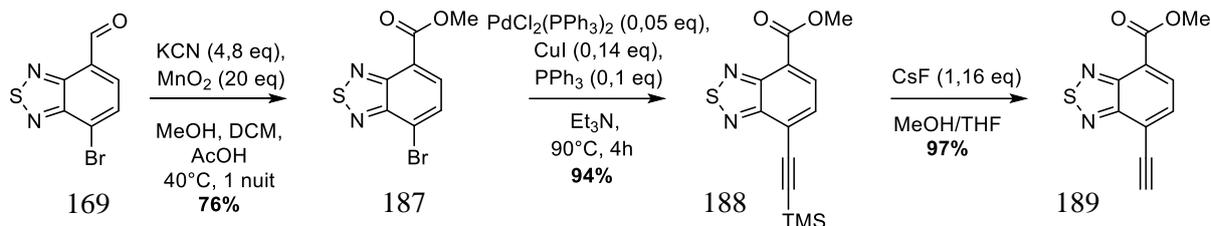


Schéma 40 : synthèse du BTD 189

On effectue ensuite une réaction de Sonogashira pour introduire l'alcyne protégé avec un rendement de 94%. La déprotection est effectuée avec du fluorure de césium avec un rendement de 97%.

Une fois le fluorophore synthétisé, nous avons voulu le greffer sur le CTV-triiodé **75** (schéma 41). Après deux jours de réaction, un mélange de substrat et de produit dans des proportions 50/50 a été obtenu. Les réactifs étant peu solubles, la quantité de toluène a été doublée, sans succès et le toluène a été substitué par du DMF.

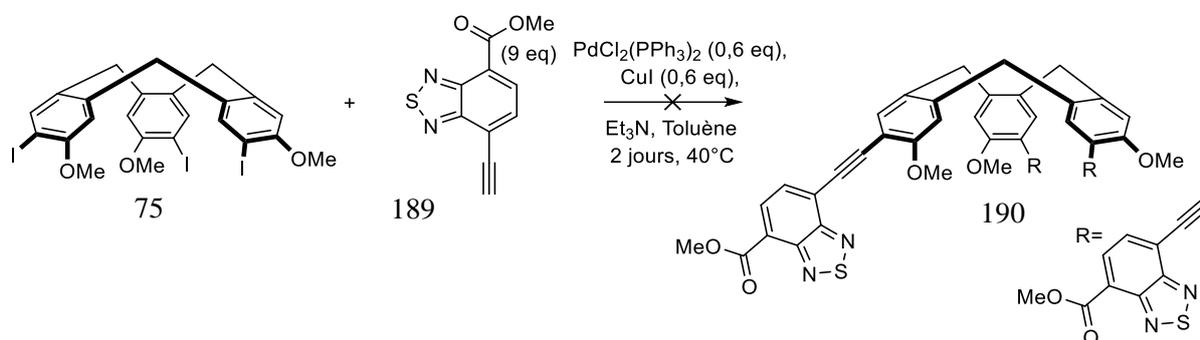


Schéma 41 : synthèse du CTV-BTD ester 190

Dans les deux cas, il semblerait que nous ayons obtenu un mélange entre le CTV tri fonctionnalisé et de CTV di fonctionnalisé (deux pics correspondant aux méthoxy sont observés en RMN du proton avec un ratio 66/34; les pics n'ont pu être attribués). Ces deux molécules ayant une polarité extrêmement proche, il n'a pas été possible de les séparer, cela même en utilisant l'HPLC chirale de la plateforme analytique de Marseille.

Afin de rendre la réaction totale, nous avons rajouté dans le milieu après 2 jours de réactions, 3 équivalents de fluorophore, 0,6 équivalent de palladium et de cuivre mais cela n'a pas changé le ratio entre les CTV qui semblent être di fonctionnalisé et tri fonctionnalisé.

Etant donné que nous n'avons pu obtenir le produit désiré pur, nous avons laissé la synthèse de ce composé de côté.

Nous avons pu réaliser le couplage entre le CTV triiodé **75** et les BTD (**161**, **166**, **177**) ce qui nous a décidé à les garder et à essayer de les insérer sur d'autres molécules plus solubles.

e) Synthèse du CTV 201

Les couplages au palladium étant parfois difficiles sur les CTV, nous avons voulu étudier une autre voie de couplage avec le CTV. En partant du CTV-triiodé **75**, nous avons voulu substituer les iodes par des fonctions diazo afin d'effectuer des couplages diazoïques. Nous avons également voulu former des azobenzènes afin de pouvoir faire du piégeage et du relargage de molécule en fonction de l'isomérisation de la double liaison entre les azotes.

En 2003, il a été reporté par l'équipe de Cho une méthode directe pour former un azobenzène en faisant un couplage entre une hydrazine et un aryle halogéné (schéma 42).¹²⁸

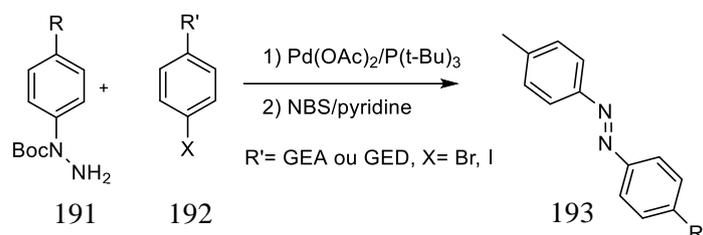


Schéma 42 : couplage pour former l'azobenzène

La N-Boc-aryldiazohydrogène **28** réagit avec l'aryle halogéné en présence d'un catalyseur au palladium pour donner la N-Bocdiaryl-hydrazine avec des très bons rendements. L'hydrazine résultante est immédiatement oxydée avec le NBS en présence de pyridine dans du dichlorométhane à température ambiante pour donner l'azobenzène.

Il est nécessaire de synthétiser l'hydrazine au préalable (schéma 43) :

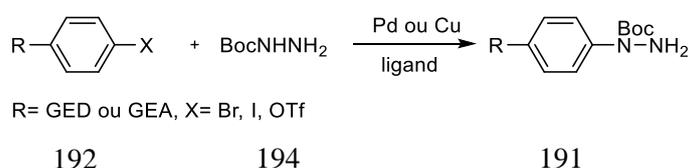


Schéma 43 : méthode d'arylation de BocNHNH2¹²⁹

Une méthode de couplage au cuivre entre un aryle halogéné et une alkylamine a été décrite en 2002 par l'équipe de Buchwald.¹³⁰ Une méthode similaire, utilisant du palladium, avait été décrite en 1999 par l'équipe de Bridger.¹³¹ Ces deux méthodes ont été testées sur l'intermédiaire triiodé **75** (schéma 44).

¹²⁸ Y-K. Lim, K-S. Lee, C-G. Cho, *Org. Lett.*, 2003, 5, 7,

¹²⁹ Y-K. Lim, K-S. Lee, C-G. Cho, *Org. Lett.*, 2003, 5, 7,

¹³⁰ Kwong, F. Y.; Klapars, A.; Buchwald, S. L. *Org. Lett.*, 2002, 4, 581

¹³¹ Wang, Z.; Skerlj, R. T.; Bridger, G. J. *Tetrahedron Lett.*, 1999, 40, 3543

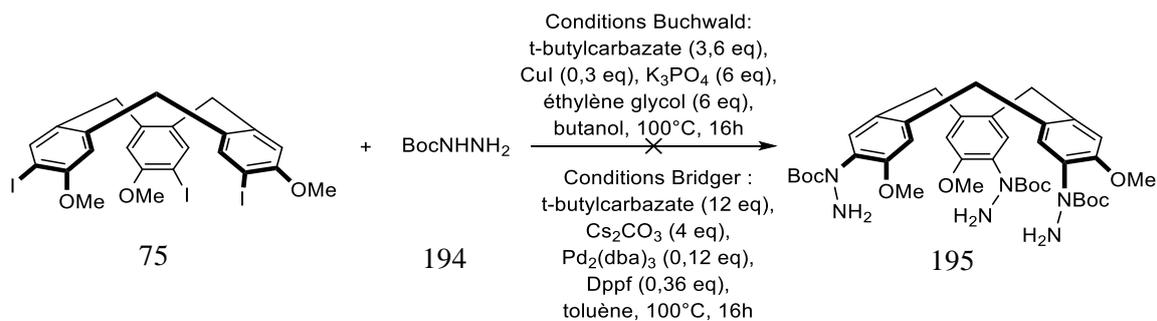


Schéma 44 : couplage de l'hydrazine avec le CTV

Cependant, aucune de ces deux conditions n'a permis d'obtenir le composé souhaité. Dans les conditions de Buchwald, le butanol n'a pas permis la solubilisation du produit, même au cours de la réaction.

Dans les conditions de Bridger, le CTV **75** est soluble et on récupère entièrement le produit de départ, l'addition du palladium n'a donc pas pu avoir lieu.

Il avait été décrit au laboratoire le passage du CTV triiodé **75** au CTV-triamine **196** en utilisant du cuivre et de la L-proline avec un rendement de 50% (schéma 45).

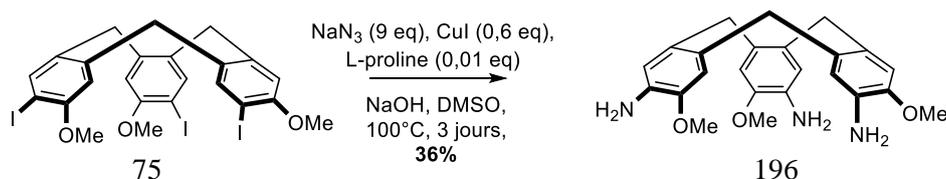


Schéma 45 : substitution des iodes par des amines

Cependant, ces conditions n'ont permis d'obtenir le CTV-triamine qu'en faible quantité avec un rendement de 36% (obtention de 10 mg de produit à partir de 50 mg de produit de départ). Le reste du produit étant du produit de départ.

Devant la difficulté d'introduire directement une fonction azobenzène sur le CTV, nous avons décidé de greffer un groupement portant déjà une fonction azobenzène sur l'alcyne vrai.

Pour cela, nous avons d'abord effectué la synthèse de l'azobenzène en suivant la procédure décrite par l'équipe de Frank Glorius en 2017 (schéma 46).¹³² Une réaction de Sonogashira est effectuée sur le composé **197** avec le triméthylsilyléthynyle pour donner le composé **198** avec un

¹³² N. Möller, A. Rügling, S. Lamping, T. Hellwig, C. Fallnich, B. J. Ravoo, F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 4356–4360

rendement de 93%. Puis le composé **199** est obtenu avec un rendement de 57% en faisant réagir le composé **198** avec le nitrosobenzène dans l'acide acétique. L'azobenzène **199** est purifié par chromatographie sur gel de silice et à l'abri de la lumière afin d'éviter une éventuelle isomérisation. Le composé **200** est enfin obtenu avec un rendement de 71% après déprotection du groupement silylé.

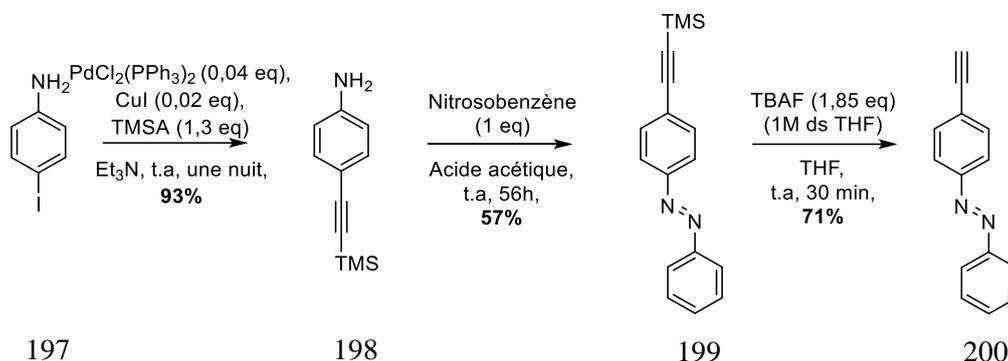


Schéma 46 : synthèse de l'azobenzène

Une fois l'alcyne fonctionnalisé **200** obtenu, nous avons effectué le couplage de Sonogashira sur le CTV triiodé **75** avec les conditions précédentes (schéma 47). Nous avons pu voir par RMN du proton que nous avons bien obtenu le produit désiré. Il a été purifié par colonne de silice mais le produit n'a pu être obtenu parfaitement pur, il a toujours été obtenu en mélange avec 20% de produit d'homocouplage de l'azobenzène.

Il a donc été envoyé à Marseille et purifié par HPLC chirale par l'équipe de la plateforme analytique. Une colonne Chiralpak ID et une phase mobile Hexane/ethanol/DCM (45/5/50) ont été utilisées, ce qui a permis d'obtenir le produit **201** pur.

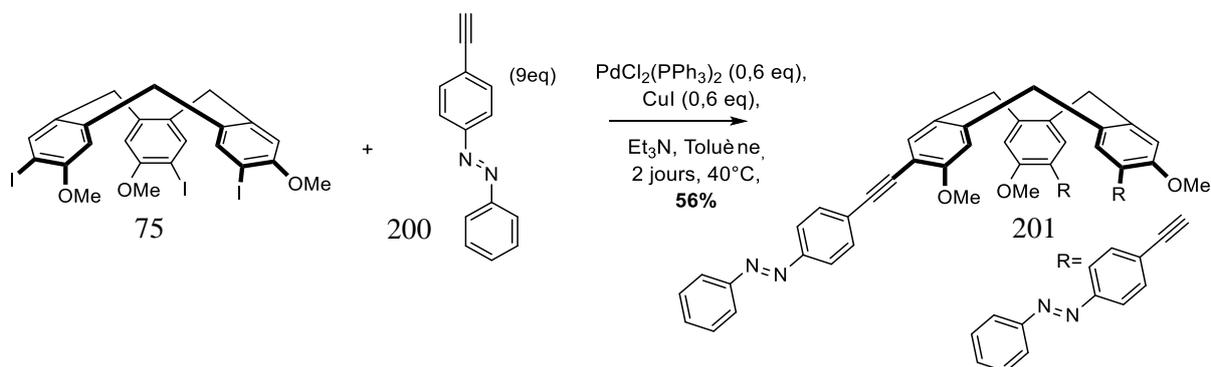


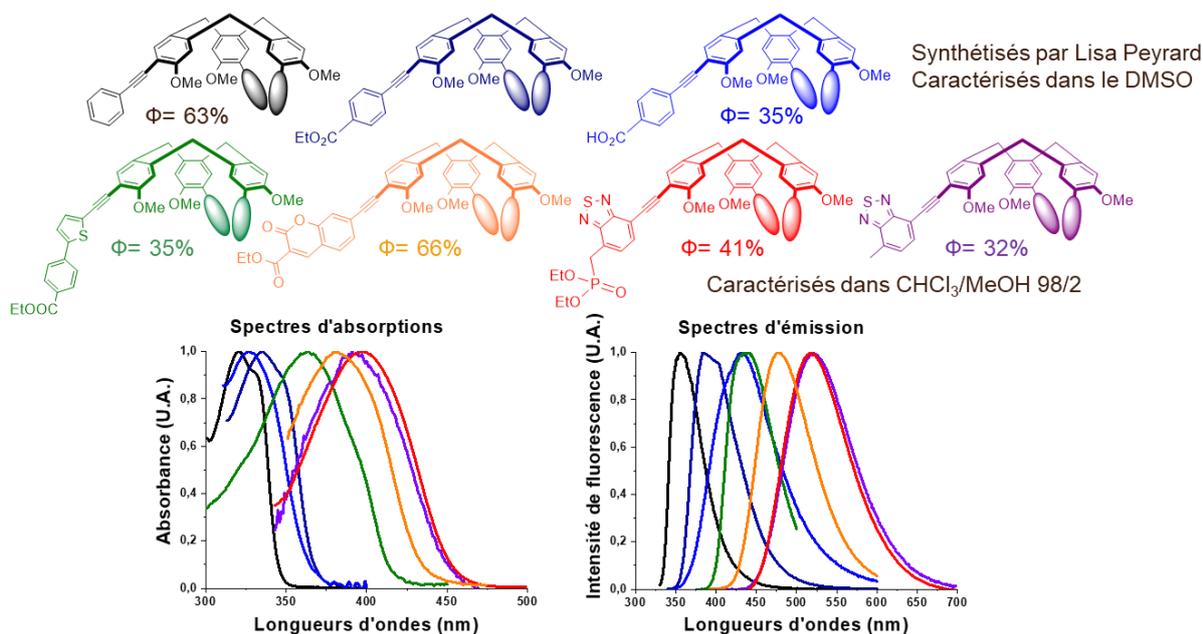
Schéma 47 : couplage de l'azobenzène

B- Caractérisations et études de titration des cyclotrivératrylènes fluorescents

a) Caractéristiques spectroscopiques des CTV

Les propriétés spectroscopiques d'absorption et d'émission des CTV synthétisés ont été étudiées et comparées dans le chloroforme afin de déterminer le fluorophore le plus intéressant à greffer sur les hémicyptophanes.

- Récapitulatif des différents CTV :



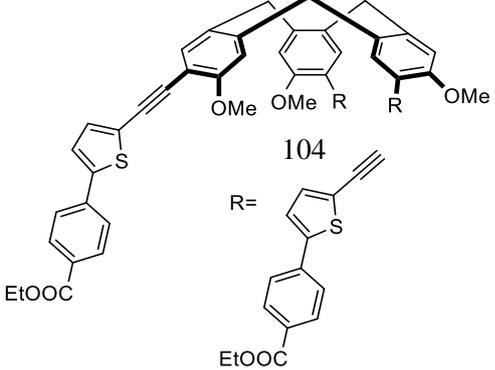
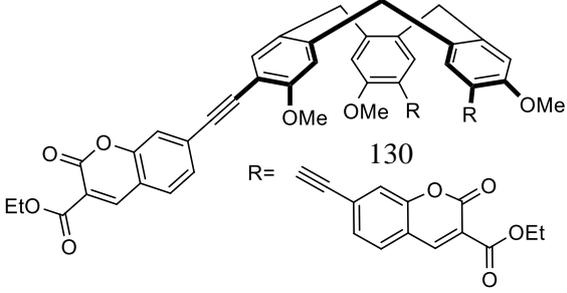
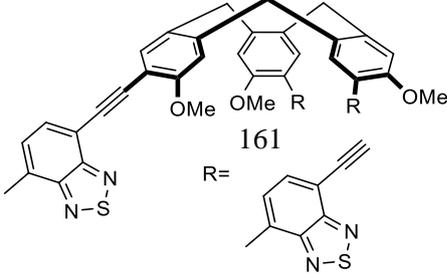
Ces différentes sondes présentent des rendements quantiques comparables à ceux décrits dans la littérature pour des sondes fluorescentes pour la détection d'ammonium (24%-34%).^{133,134}

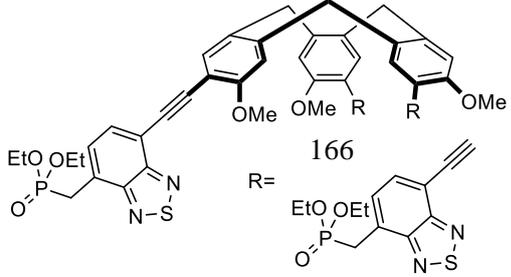
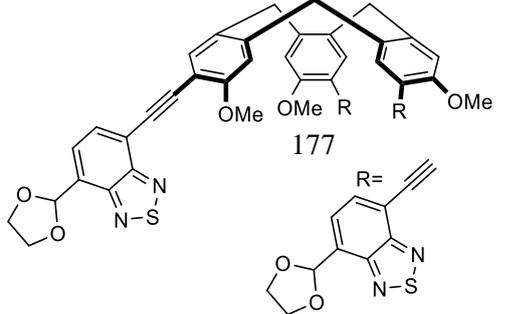
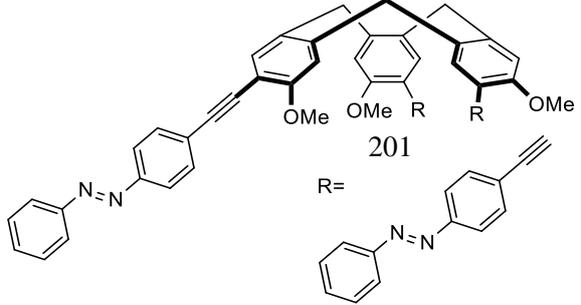
Dans le cas du composé **130**, un très bon rendement quantique dû à la présence de coumarines a été observé.

Structure	Caractéristiques	Commentaires
<p>76</p> <p>R = </p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 338 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 422 \text{ nm}$ $\epsilon = 5,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $\Phi = 35\%$ (par rapport à la quinine) $\tau = 3,1 \text{ ns}$ $\Delta = 84 \text{ nm}$ Dans le DMSO	La fluorescence de cette sonde a permis d'étudier ses propriétés de reconnaissance envers diverses espèces et notamment pour la détection de neurotransmetteurs. Cependant, ses longueurs d'ondes sont trop faibles pour pouvoir faire de la détection en milieu biologique.

¹³³ Y. Kubo, K. Tsuruzoe, S. Okuyama, R. Nishiyabua, T. Fujihara, *Chem. Commun.*, **2010**, 46, 3604–3606

¹³⁴ O. B. Berryman, A. C. Sather, J. Rebek Jr., *Org. Lett.*, **2011**, 13, 5232-5235

 <p>104</p> <p>R=</p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 365 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 441 \text{ nm}$ $\epsilon = 1,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $\Phi = 35\%$ (par rapport au diphenylantracène) $\tau_1 = 0,10 \text{ ns}$ $\tau_2 = 0,7 \text{ ns}$ $\Delta = 76 \text{ nm}$ Dans le chloroforme	<p>Lors de l'analyse d'un échantillon dont l'excès énantiomérique est de 98%, on obtient $\tau_1 = 4,88 \times 10^{-10} \text{ s}$ (98%) et $\tau_2 = 2,57 \times 10^{-9} \text{ s}$ (2%). Ceci confirme la présence de deux espèces dans le milieu, le CTV 104 et une deuxième espèce probablement le dimère hétérochiral.</p> <p>Grâce à l'ajout d'un motif thiophène sur le bras du CTV, les longueurs d'ondes ont pu être augmentées de 20 nm. Ceci a permis de valider notre idée de départ et l'extension de conjugaison par introduction d'un motif thiophène.</p>
 <p>130</p> <p>R=</p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 382 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 477 \text{ nm}$ $\epsilon = 5,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $\Phi = 66\%$ (par rapport au pérylène) $\Delta = 95 \text{ nm}$ Dans le chloroforme	<p>Les longueurs d'ondes de ce CTV sont légèrement plus élevées que celles du CTV 104 et possède un rendement quantique bien plus élevé, ce qui en fait un meilleur chromophore.</p>
 <p>161</p> <p>R=</p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 395 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 525 \text{ nm}$ $\epsilon = 4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $\Phi = 32\%$ (par rapport au pérylène) $\tau = 11,1 \text{ ns}$ $\Delta = 130 \text{ nm}$ Dans le chloroforme	

 <p>166</p> <p>R=</p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 395 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 525 \text{ nm}$ $\epsilon = 4,7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ $\Phi = 41\%$ (par rapport au pérylène) $\tau = 9,2 \text{ ns}$ $\Delta = 130 \text{ nm}$ Dans le chloroforme	L'ajout d'un groupement phosphonate non conjugué au système n'a pas eu d'effet sur les valeurs des longueurs d'ondes de la sonde. Ce sont les mêmes que le CTV 161 par contre, le rendement quantique est meilleur dans le cas de la sonde 166 .
 <p>177</p> <p>R=</p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 393 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 508 \text{ nm}$ $\tau = 7,9 \text{ ns}$ $\Delta = 115 \text{ nm}$ Dans le chloroforme	
 <p>201</p> <p>R=</p>	$\lambda_{\text{abs max}} = 368 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em max}} = 404 \text{ nm}$ $\tau = 0,42 \text{ ns}$ $\Delta = 36 \text{ nm}$ Dans le chloroforme	

λ = Longueur d'onde, ϵ = Coefficient d'absorption molaire, Φ = Rendement quantique de fluorescence, τ = Durées de vie, Δ = Déplacement de Stokes

- Le CTV-azobenzène

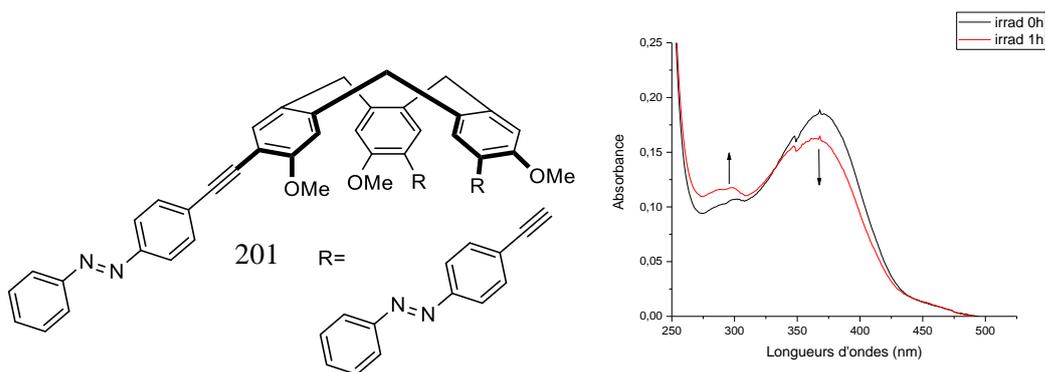


Figure 70 : Courbes d'absorbance du CTV 201 dans le chloroforme avant irradiation (courbe noir) et après 1h d'irradiation à 365 nm (courbe rouge)

Nous l'avons irradié pendant une heure à 365 nm avec une lampe UV et nous avons pu observer sur la courbe UV une augmentation de la bande à 300 nm et une diminution de la bande à 365 nm. Ceci pourrait provenir de l'isomérisation de la double liaison de l'azobenzène. D'autres études devront être menées afin de mieux comprendre son fonctionnement, notamment par des études RMN.

En résumé, on a pu augmenter les longueurs d'ondes par rapport aux précédents CTV développés au laboratoire (CTV noir et bleus). Le BTD a été identifié comme un fluorophore intéressant.

b) Reconnaissance des ammoniums

Il a été montré que le CTV 76 développé précédemment au laboratoire avait des propriétés de reconnaissances pour les ammoniums et notamment l'acétylcholine et la choline avec des constantes d'associations de $K_{\text{ass ACh}} = 512 \text{ M}^{-1}$ et de $K_{\text{ass Ch}} = 240 \text{ M}^{-1}$. Ce CTV a donc une sélectivité de 2,2 en faveur de l'acétylcholine.

Afin de tester la reconnaissance envers les ammoniums des CTV développés, nous avons effectué des titrations que nous avons suivies par fluorescence.

Pour cela, des solutions de CTV à $2 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$ ont été préparées dans un mélange chloroforme/méthanol 98/2. A cette solution, de petites quantités d'ammoniums dans le même solvant ont été ajoutées et à chaque ajout, l'intensité de fluorescence a été mesurée.

Le CTV 104 est excité à 365 nm, le CTV 161 et le CTV 166 ont été excités à 395 nm.

1) Reconnaissance du chlorure d'acétylcholine

Le premier ammonium à avoir été testé est l'acétylcholine. Ces sondes en milieu organique ont montré une faible augmentation de l'intensité de fluorescence au cours des ajouts (< 10%). Ces faibles variations d'intensité de fluorescence n'ont pas permis de déterminer, avec une stoechiométrie 1 :1, les constantes d'associations des CTV pour l'acétylcholine. Ces sondes ne permettent qu'une faible reconnaissance pour l'acétylcholine en milieu organique.

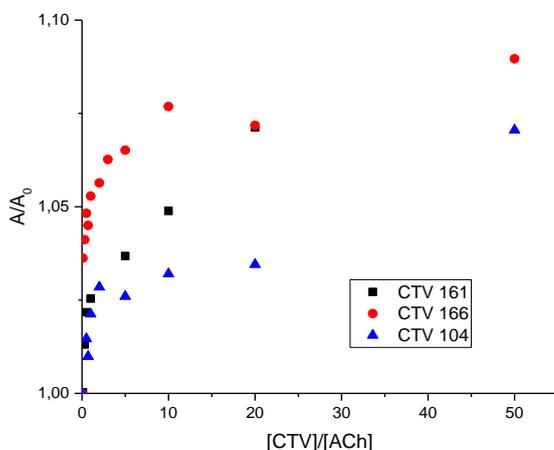


Figure 71 : Titration de CTVs avec de l'ACH à une concentration de $2 \times 10^{-5} M$ dans un mélange de solvants 98/2 $CHCl_3/MeOH$ avec A_0 l'aire sous la courbe d'émission de fluorescence ($\lambda_{ex\ CTV\ 104} = 365\ nm$ et $\lambda_{ex\ CTV\ 161,166} = 365\ nm$)

2) Reconnaissance du chlorure d'hydrogène de noréphédrine

La noréphédrine a également été testée. Une faible augmentation de l'intensité de fluorescence est aussi observée pour cet ammonium. De plus, lors des titrations avec la noréphédrine, des diminutions d'intensité de fluorescence ont été observées. Ceci pourrait être dû à la présence d'acide en solution, provenant de la noréphédrine utilisée sous sa forme chlorhydrate.

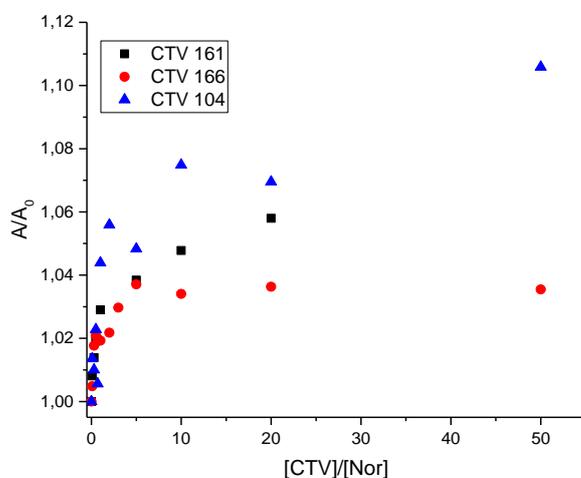


Figure 72 : Titration de CTVs avec de la noréphédrine à une concentration de $2 \cdot 10^{-5} M$ dans un mélange de solvants 98/2 $CHCl_3/MeOH$ avec A_0 l'aire sous la courbe d'émission de fluorescence ($\lambda_{ex\ CTV\ 104} = 365\ nm$ et $\lambda_{ex\ CTV\ 161,166} = 365\ nm$)

D'après les titrations effectuées, les sondes **104**, **161** et **166** ne reconnaissent que très faiblement l'acétylcholine et la noréphédrine en milieu organique. Les constantes d'associations n'ont pu être déterminées car une stœchiométrie différente de 1 :1 a été observée. Afin d'améliorer les constantes d'associations pour ces cibles, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'hémicryptophanes fluorescents.

IV. Synthèses et caractérisations d'hémicryptophanes fluorescents

Afin d'améliorer les propriétés de reconnaissance et la sélectivité de l'hôte envers les neurotransmetteurs, nous avons décidé de synthétiser des hémicryptophanes (HC).

En effet, les HC composés d'un motif tris(2-aminoéthyl)amine sont capables de reconnaître la dopamine¹³⁵ ou la choline.¹³⁶

En utilisant le travail pour rendre les CTV fluorescents, nous souhaitons utiliser la même stratégie pour développer des HC fluorescents.

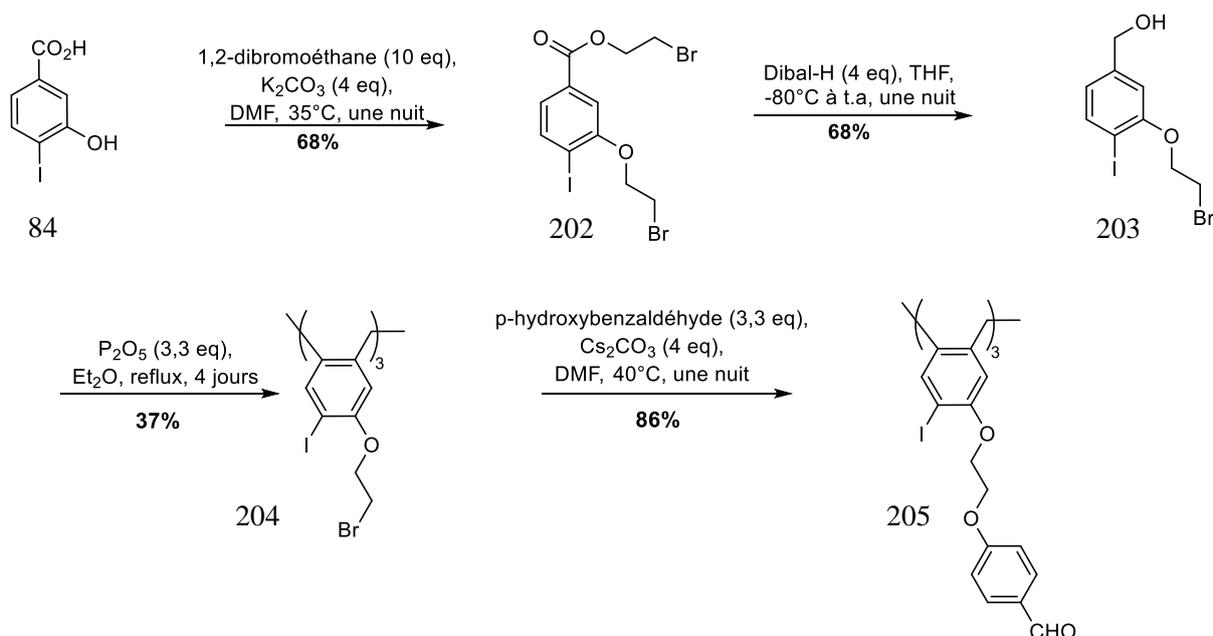
Les synthèses des HC obtenus seront présentées dans ce chapitre. Leurs propriétés spectroscopiques ainsi que leurs propriétés de reconnaissance seront étudiées.

A- Synthèses d'hémicryptophanes fluorescents solubles en milieu organique et aqueux

a) Synthèse d'un hémicryptophane fluorescent soluble en milieu organique

En partenariat avec notre laboratoire, la synthèse de l'HC **207** rendu fluorescent par extension de conjugaison, avait été développée par Sara Lefevre pendant sa thèse.¹³⁷

Afin d'étudier ses propriétés de reconnaissance, la synthèse de cet HC a été reproduite (schéma 48).



¹³⁵ O. Perraud, S. Lefevre, V. Robert, A. Martinez, J-P. Dutasta, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 1056

¹³⁶ A. Schmitt, V. Robert, J-P. Dutasta, A. Martinez, *Org. Lett.*, 2014, **16**, 2374–2377

¹³⁷ Synthèse de récepteurs cyclotribenzylènes et hémicryptophanes : propriétés chiroptiques, reconnaissance moléculaire et fluorescence. Thèse de Sara Lefèvre soutenue à l'ENS de Lyon en 2016.

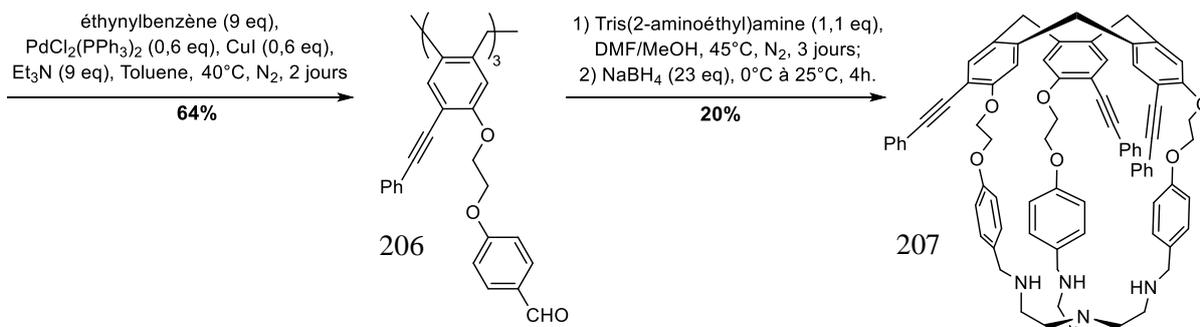


Schéma 48 : synthèse de l'HC 207

L'HC **207** est obtenu en 6 étapes à partir de l'acide 3-hydroxy-4-iodobenzoique avec un rendement global de 3%. Ce rendement faible est dû notamment à l'étape de trimérisation effectué avec un rendement de seulement 37%. Le rendement de la dernière étape est également faible (20%).

La première étape de la synthèse est une réaction d'alkylation et d'estérification avec du 1,2-dibromoéthane avec un rendement de 68%. L'ester est ensuite réduit en alcool benzylique **203** par de l'hydru de diisobutylaluminium avec un rendement de 68% puis la trimérisation est effectuée pour obtenir le CTV **204** avec un rendement de 37%. Le rendement est plus faible que celui obtenu dans le cas de la synthèse du CTV **75** ayant un méthoxy en *ortho* de l'iode. Ici la chaîne alkyle est plus longue ce qui peut provoquer une gêne au moment de la trimérisation.

Ensuite, une alkylation de Williamson est effectuée avec le p-hydroxybenzaldéhyde pour donner le CTV **205** avec un rendement de 86%. L'éthynylbenzène est greffé sur la molécule par une réaction de Sonogashira avec un rendement de 64% puis la cage est fermée par une réaction d'amination réductrice avec un rendement de 20%.

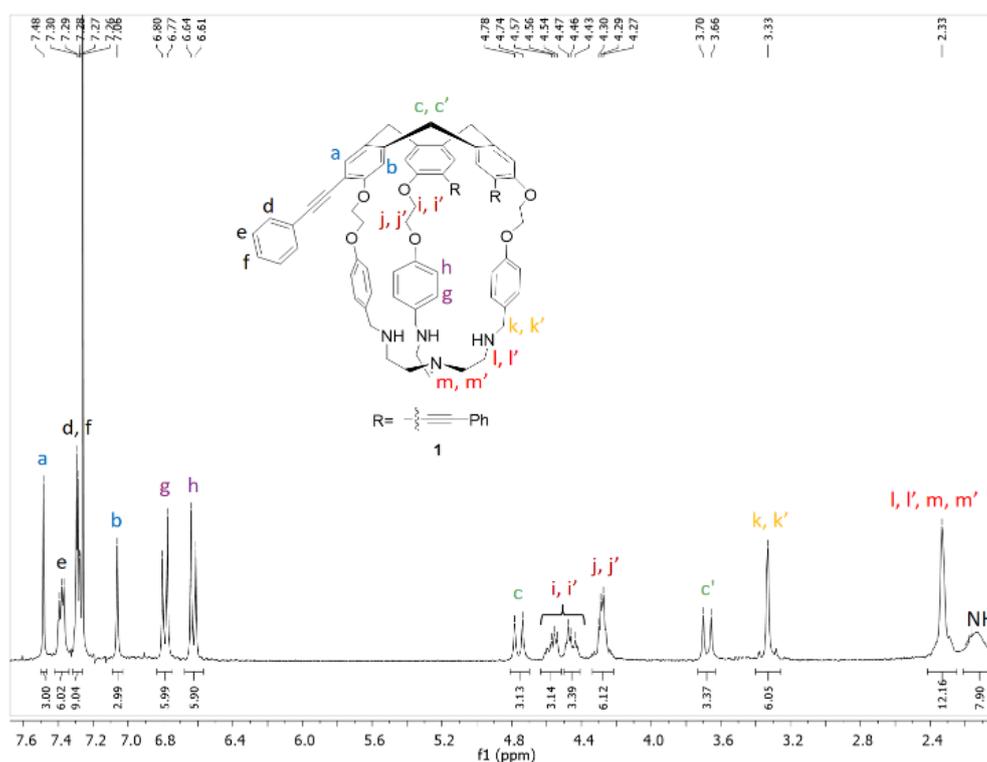


Figure 73 : RMN ¹H 600 MHz de l'HC 207 dans le CDCl₃

La RMN proton de l'HC **207** (figure 73) correspond au produit attendu. Les doublets caractéristiques des protons diastéréotopiques du motif CTV (protons c et c') à 3.70 et 4.78 ppm ainsi que les signaux des protons du motif tren à 2.33 ppm indiquent que la symétrie C_3 a été conservée et que l'amination réductrice a bien fonctionné (protons l, l', m, m' et NH).

b) Synthèse d'un hémicryptophane soluble en milieu aqueux

Afin de développer un HC hydrosoluble, nous reprenons la synthèse à partir de l'intermédiaire **205** (Schéma 49). Ce composé est commun aux deux synthèses celle de l'HC **207** et celle de l'HC **209**. Sur celui-ci est effectuée une réaction de Sonogashira afin d'introduire le 4-éthynylbenzoate de méthyle avec un rendement de 62%. L'HC est ensuite fermé par amination réductrice. Le produit de cette réaction a été observé par RMN après traitement (Figure 74).

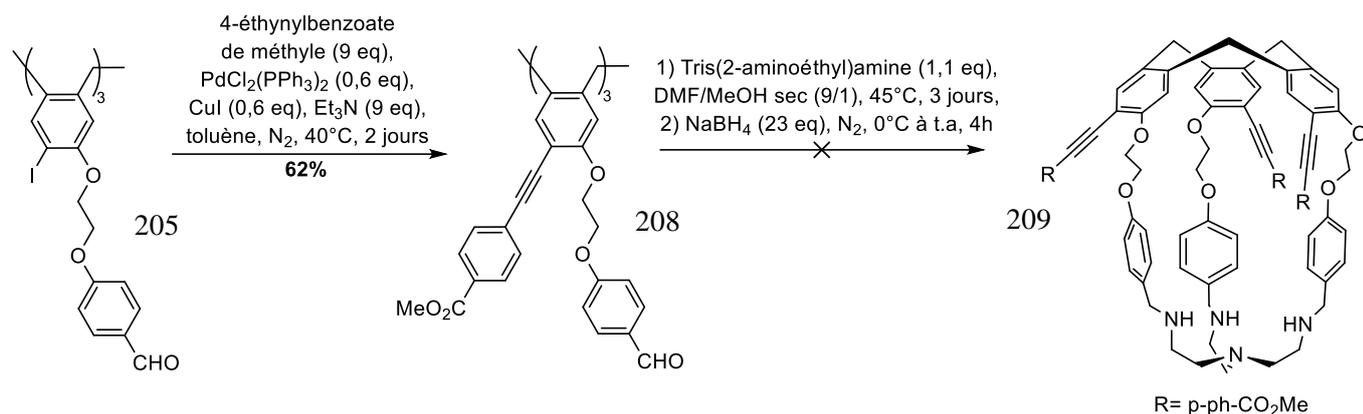


Schéma 49 : formation de l'HC **209**

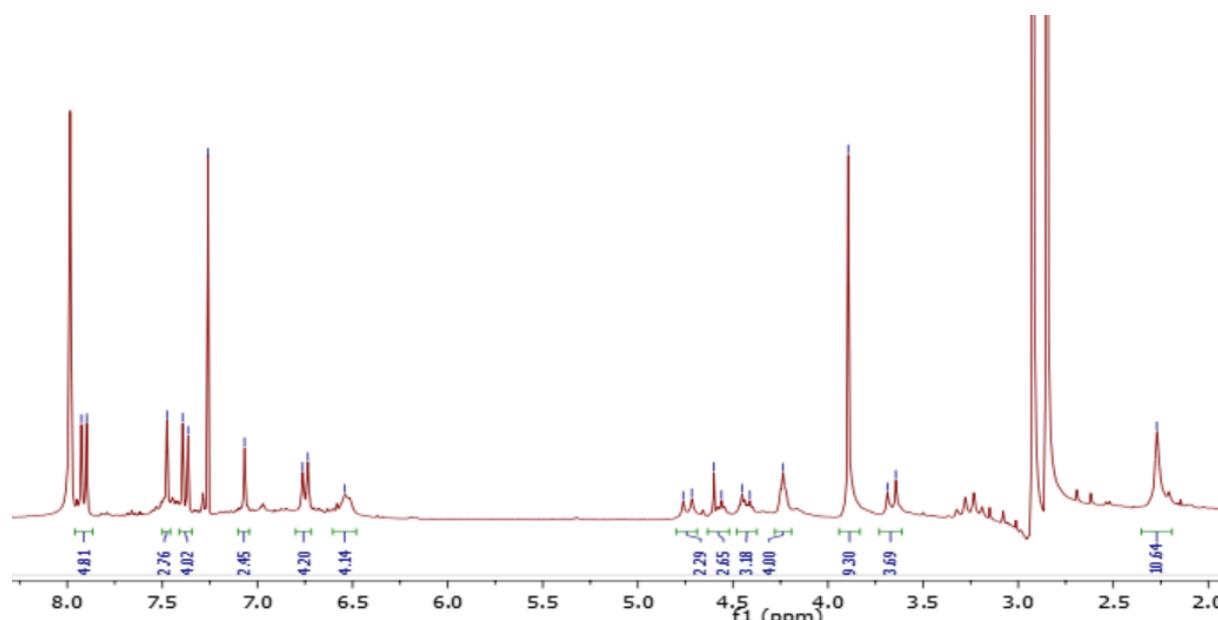


Figure 74 : RMN ¹H 300 MHz de l'HC **209** dans le CDCl₃ après traitement (avant colonne)

Cependant, lorsque l'on regarde les spectres RMN des différentes fractions récupérées (figure 75), on observe l'apparition de nombreux pics dans la région des aromatiques ainsi que l'élargissement de certains pics notamment ceux présents entre 4,25 et 5,25 ppm. L'HC **209** semble se dégrader sur la colonne de silice.

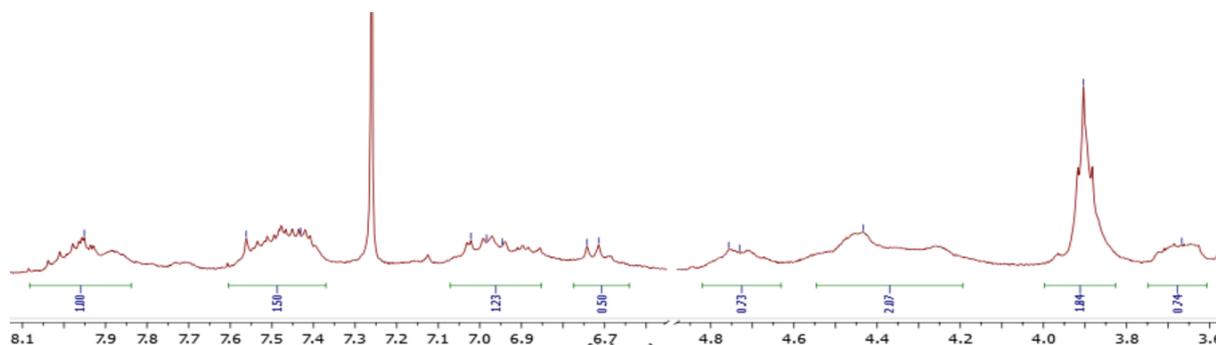


Figure 75 : RMN ^1H 300 MHz de l'HC **209** dans le CDCl_3 après colonne

La présence de l'ester sur la molécule pouvant être responsable des problèmes de purification, nous avons essayé de former l'amide, afin de masquer l'ester, sur l'HC **209** en utilisant de la propylamine mais l'amide souhaité n'a pas été obtenu et seul le produit de départ a été récupéré (Schéma 50).

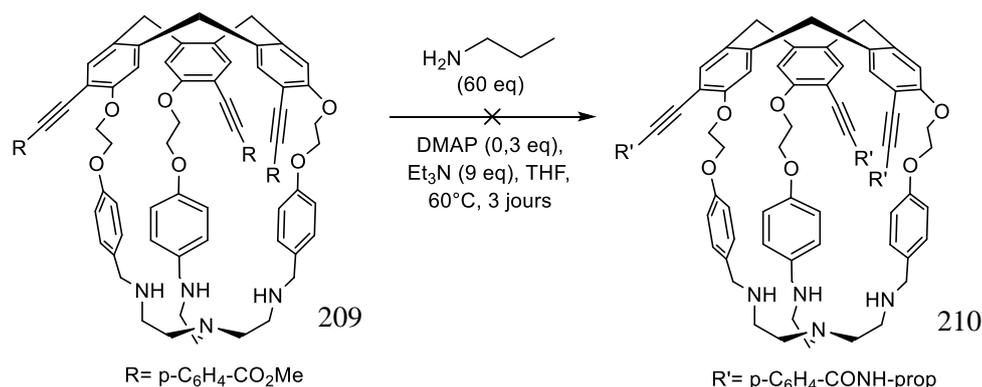


Schéma 50 : amidation de l'HC **209**

Afin de surmonter cette difficulté, nous n'avons pas purifié l'HC **209** et nous avons directement effectué la saponification (Schéma 51). L'HC **211** a finalement été obtenu de façon pure grâce à des lavages au méthanol.

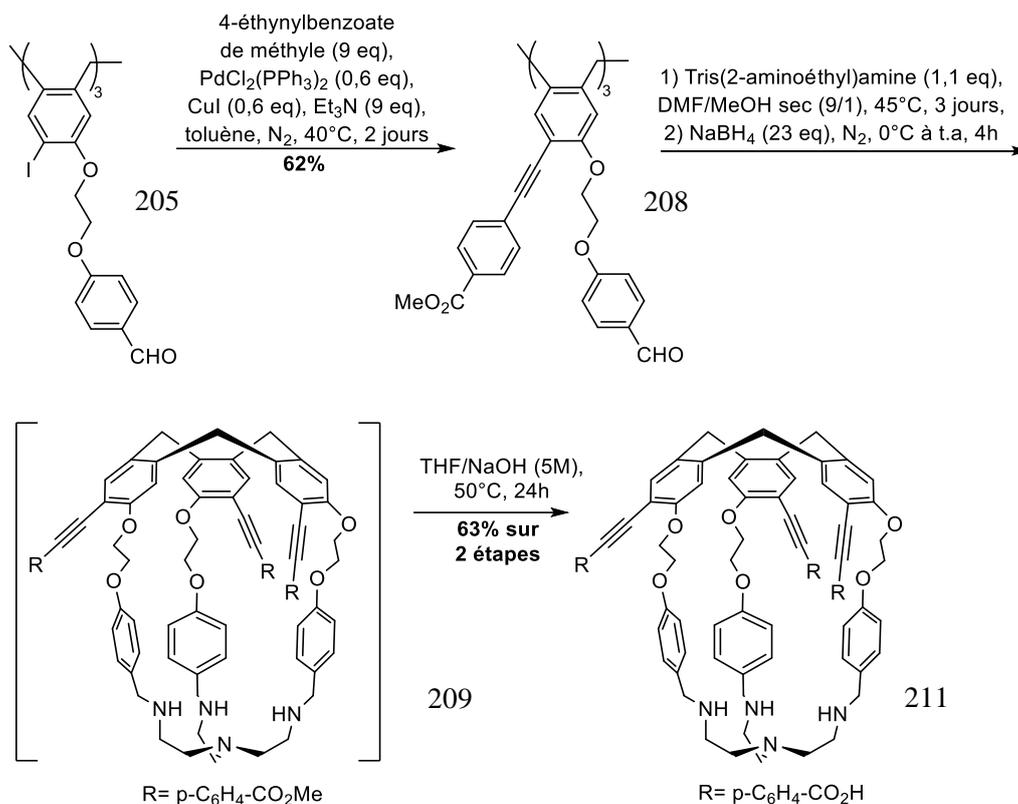


Schéma 51 : synthèse de l'HC 211

Sur le spectre de RMN ¹H, les signaux des protons aromatiques sont observés entre 6,75 et 8 ppm, les signaux des méthylènes du CTV ainsi que les liaisons OCH₂CH₂O et les protons n se situent entre 3,5 et 5 ppm et pour finir, les protons des éthyles du tren sont positionnés entre 2,5 et 3 ppm, montrant que l'amination réductrice a bien été effectuée (Figure 76).

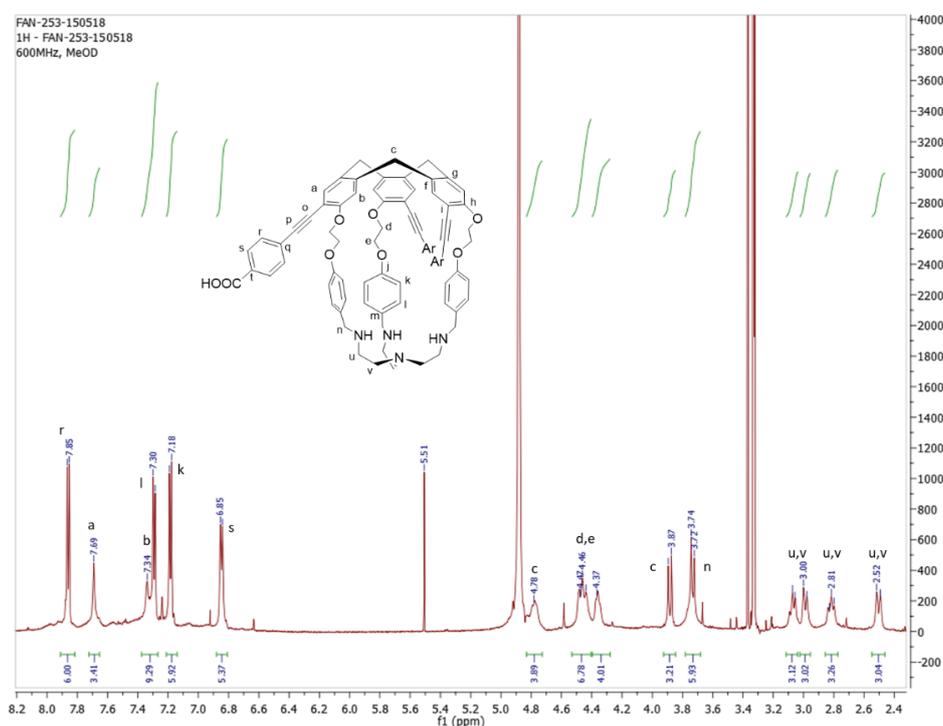


Figure 76 : RMN ¹H 600 MHz de l'HC 211 dans le CD₃OD

c) Propriétés spectroscopiques des HC 207 et 211

Il a été observé pour l'HC **207** une longueur d'onde d'absorption maximale de 318 nm et une longueur d'onde d'émission maximale de 354 nm dans un mélange 98/2 chloroforme/méthanol (Figure 77). Il a un coefficient d'absorption molaire de $5,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, un rendement quantique de 11% déterminé en prenant comme référence la quinine et un temps de vie de 2,4 ns.

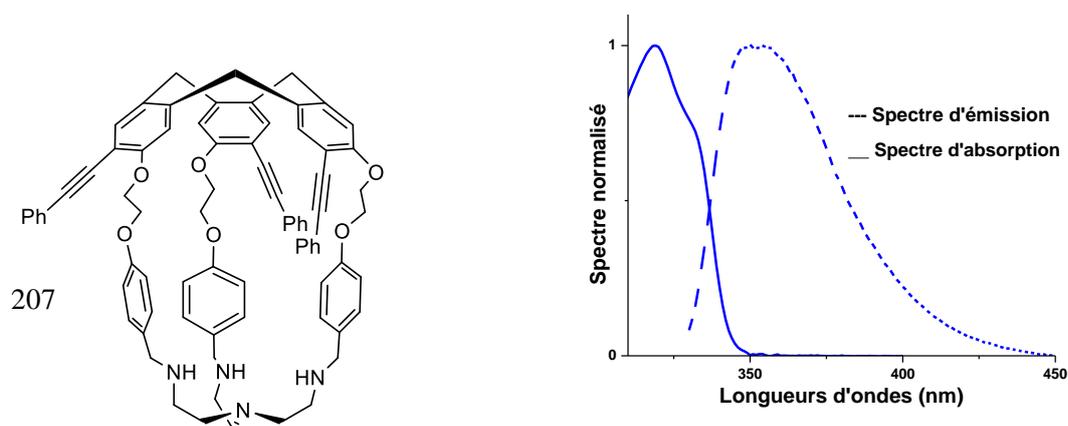


Figure 77 : spectres d'absorption et d'émission de l'HC 207

Pour l'HC **211** il a été observé une longueur d'onde d'absorption de 330 nm et une longueur d'onde d'émission de 425 nm dans un mélange 98/2 PBS (pH=7,4, 140 mM)/DMSO (Figure 78). Il a un coefficient d'absorption molaire de $3,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, un rendement quantique de 24% déterminé en prenant comme référence la quinine et un temps de vie de 4,7 ns.

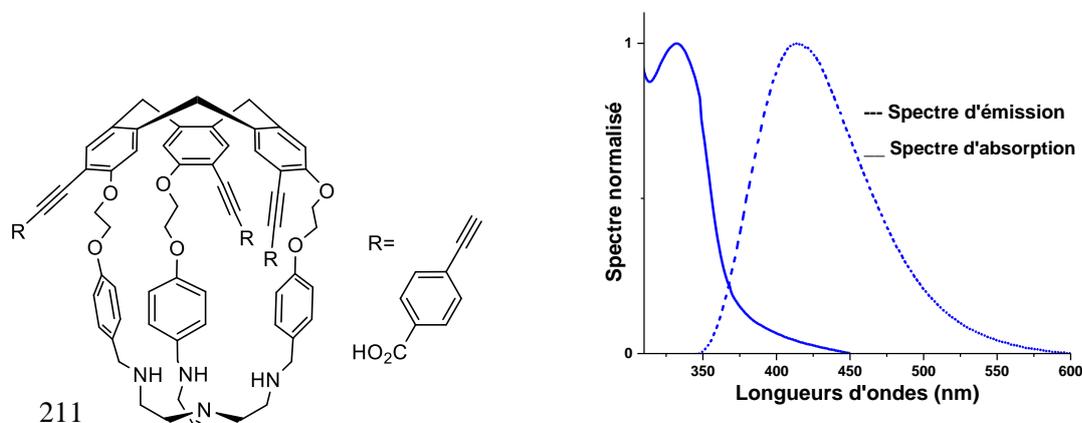
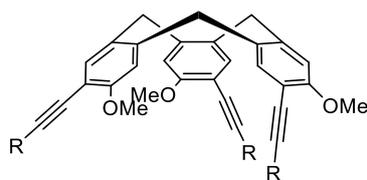


Figure 78 : spectres d'absorption et d'émission de l'HC 211



R= C₆H₅ (212) ou p-C₆H₄-CO₂H (76)

Molécule	Longueur d'onde d'absorption (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)	Solvant
CTV 212	320	355	DMSO
HC 207	318	354	CHCl ₃ /MeOH 99/1
CTV 76	338	422	DMSO
HC 211	330	425	PBS (pH=7,4, 140 mM)/DMSO 98/2

Figure 79 : Comparaison des longueurs d'ondes entre les CTV et les HC fonctionnalisés de façon similaires

En accord avec ce qui était attendu, les valeurs des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission des CTV et des HC fonctionnalisés par des fluorophores identiques, sont très similaires (figure 79). On peut s'attendre à ce que le fluorophore le plus intéressant pour les CTV soit le même pour les HC.

d) Synthèse de l'HC 214

La synthèse d'un premier HC soluble en milieu organique puis d'un second HC soluble en milieu aqueux, nous a permis de valider la méthode d'introduction de l'alcyne fluorescent sur le squelette CTV de l'HC. L'introduction de BTDF fonctionnalisé, sous unité fluorescente la plus prometteuse d'après l'étude préliminaire sur les CTV va maintenant être présentée.

Nous avons tout d'abord effectué une réaction de Sonogashira afin de greffer l'alcyne fonctionnalisé par un groupement BTDF sur le CTV **205** (Schéma 52). Cette réaction n'a pas fonctionné avec le CTV triodé **75** utilisé en première partie mais a fonctionné ici. Ceci peut s'expliquer par une meilleure solubilité du CTV **205**, permettant une réaction complète sur les trois bras iodés. Le composé **213** est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice puis par précipitation.

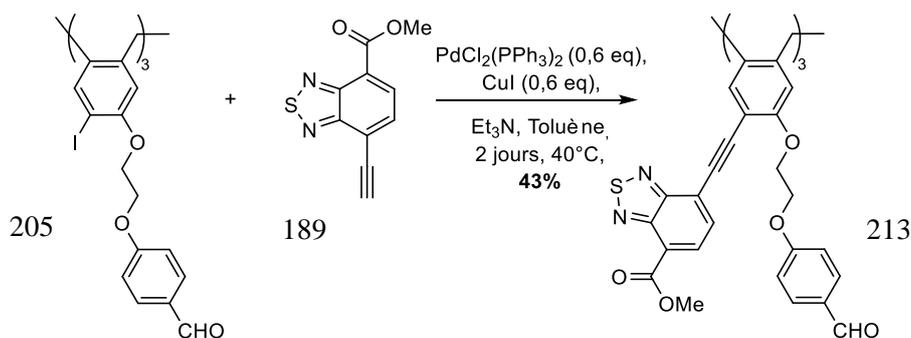


Schéma 52 : réaction de Sonogashira avec le BTM

Une fois le composé **213** obtenu, nous avons procédé à la fermeture de la cage. Dans les conditions d'amination réductrice précédemment utilisées (dans un mélange DMF/MeOH sec 9/1), l'HC **214** n'a pas été obtenu. Au cours de la réaction, des particules en suspension sont apparues dans le milieu. Ces particules sont solubles dans le DMSO. En RMN ^1H seuls des pics dans la région des aromatiques sont présents, indiquant que ces particules ne sont pas le produit attendu.

Nous avons donc changé de solvant et fait la réaction dans du chloroforme (schéma 53). L'analyse RMN du brut associée à la spectrométrie de masse montre que c'est l'HC **214'** qui a été obtenu et non l'HC **214** attendu (présence du pic caractéristique de l'imine à 7,76 ppm et une masse de 1504,41308 a été trouvée par rapport à une masse théorique de 1504,40). Ceci indique que la réduction avec le NaBH_4 dans le chloroforme n'a pas eu lieu.

Nous avons donc refait la réaction dans le chloroforme puis au moment de la réduction, nous avons ajouté le NaBH_4 en solution dans du méthanol. Après 4h de réaction, le solvant est évaporé et une RMN du brut est effectuée. De larges signaux ont été observés, correspondant ni au produit de départ, ni à l'HC **214** attendu. Le produit de départ semble s'être dégradé au cours de la réaction.

D'autres réducteurs (NaBH_3CN , $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$) compatibles avec l'ester présent sur le BTM ont été testés mais ils ont mené au même résultat qu'avec NaBH_4 .

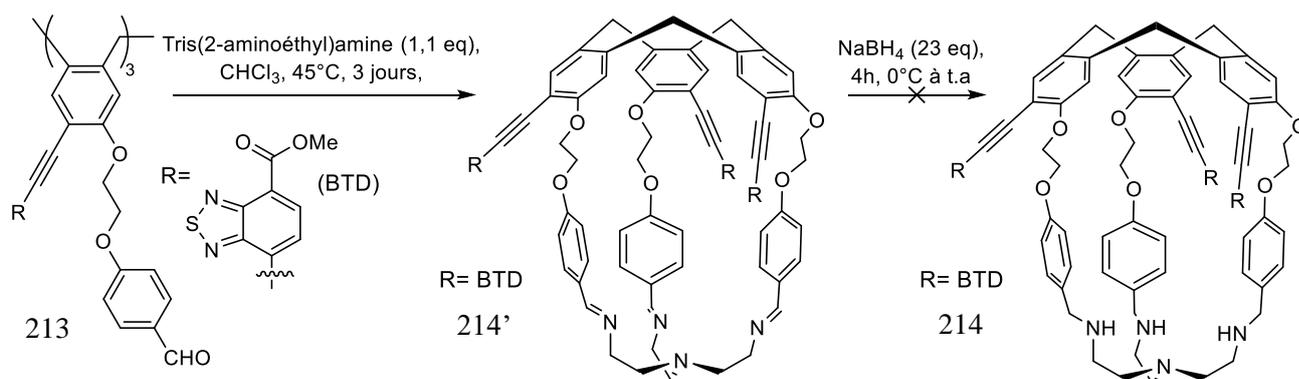


Schéma 53 : synthèse de l'HC **214**

Il est possible qu'en voulant réduire l'imine au niveau du tren nous ayons également ouvert le 1,2,5-thiadiazole du BTD (figure 80). En effet, il a été montré que le borohydride de sodium en présence d'une surface de cobalt pouvait extraire le soufre du BTD et régénérer la diamine,¹³⁸ ceci se produit également sans surface de cobalt en présence seulement de borohydride de sodium dans l'éthanol.¹³⁹

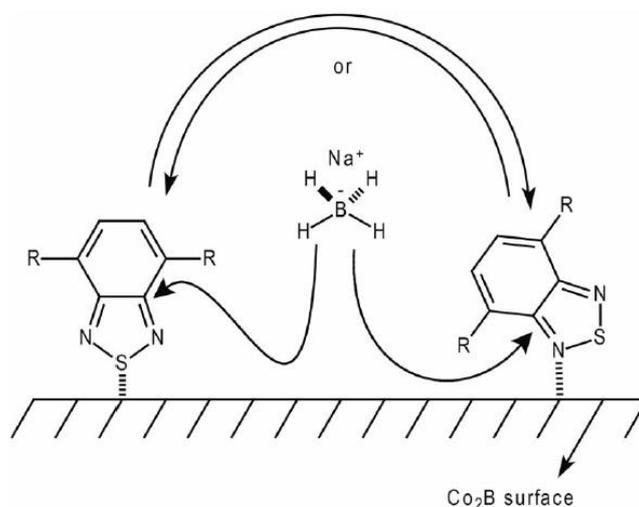


Figure 80 : première étape d'extraction du soufre du BTD par NaBH_4

Nous n'avons donc pas pu obtenir l'HC **214** souhaité de cette façon. L'hémicryptophane intermédiaire HC **214'** ne peut pas être purifié sur silice, l'imine s'hydrolysant. Il n'a pas pu être isolé pur.

Plusieurs solutions ont donc été envisagées : changer le groupement solubilisant afin d'en obtenir un compatible avec plus de réducteurs (phosphonate) ou bien fermer la cage et faire ensuite le couplage de Sonogashira. Cependant, le cuivre étant complexé par le groupement tren lors de la réaction de Sonogashira, celle-ci ne fonctionne pas. Afin de pouvoir effectuer cette réaction, il faut soit protéger les amines afin de rendre leur doublet indisponible (voie en cours de synthèse à Marseille par Alberto Insuasty dans le cadre d'une collaboration avec Alexandre Martinez de l'iSm2) ou bien réaliser un couplage de Sonogashira sans cuivre.

Nous avons donc dans un premier temps voulu mettre le BTD phosphonate sur le CTV aldéhyde pour former l'HC correspondant (schéma 54).

¹³⁸ J. O. Osby, S. W. Heinzman, B. J. Ganem, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 67–72

¹³⁹ Q. Peng, J. Xu and W. Zheng, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **2009**, *47*, 3399– 3408.

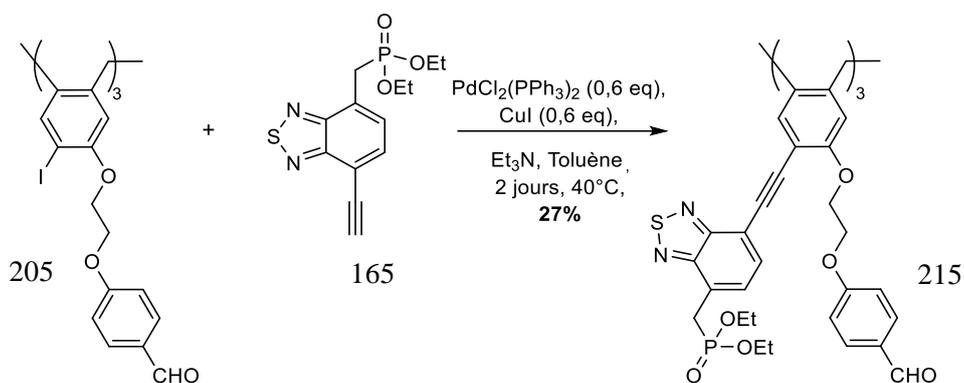
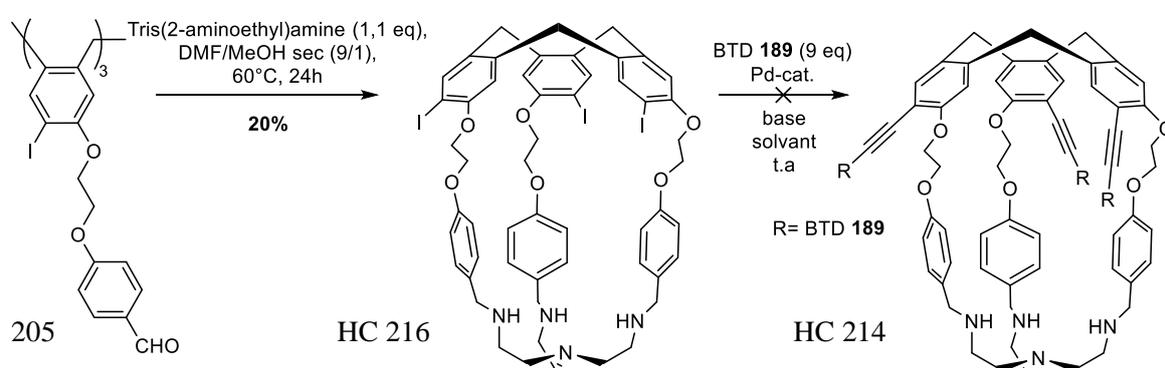


Schéma 54 : synthèse du composé **215**

En utilisant les mêmes conditions que précédemment, nous avons pu obtenir le composé **215**. Nous avons ensuite voulu fermer la cage. L'HC imine a pu être obtenu comme précédemment et nous avons testés deux réducteurs : le NaBH₄ et le Dibal-H. Cependant, aucune de ces deux méthodes n'a permis d'obtenir le composé souhaité. Avec le NaBH₄, de nombreux pics différents apparaissent dans la région des aromatiques tandis que les pics entre 3,6 et 4,6 ppm s'élargissent. Avec le Dibal-H, nous obtenons un résultat en RMN ¹H semblable à la réaction avec NaBH₄, ne permettant pas d'identifier les composés formés.

Nous avons donc abandonné cette voie pour nous concentrer sur la fermeture de la cage et la fonctionnalisation ultérieure des iodes.

Pour cela, il faut dans un premier temps synthétiser l'HC triiodé **216**, dont la synthèse avait déjà été effectuée à Marseille, et ensuite fonctionnaliser les iodes avec une réaction de Sonogashira sans cuivre (figure 81).



Réaction	Pd-cat (20 mol %)	base	solvant
Réaction a	[Pd(PPh ₃) ₄]	NaOMe, 1,1 equiv.	DMF
Réaction b	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	Pyrrolidine, 2,0 equiv.	CH ₂ Cl ₂

Figure 81 : voie de synthèse d'un HC avec une Sonogashira sans cuivre

Pour la réaction a, on voit en RMN du brut de nombreux pics dans la région des aromatiques mais les pics dans la région de 3,5 à 5 ppm ne sont plus visibles.

Pour la réaction b, on voit en RMN du brut les pics des aromatiques ainsi que le pic correspondant à l'ester du BTD mais les autres pics de la région 3,5 à 5 ppm ne sont également pas visibles. Le fait de ne pas observer ces pics pourrait s'expliquer par la faible solubilité de l'HC **216** ainsi que par la présence des 9 équivalents de BTD **189** qui peuvent masquer la présence de l'HC.

Une chromatographie sur gel de silice a donc été effectuée et 100% des produits de départ ont été récupérés. Ces conditions n'ont donc pas permis d'obtenir le composé souhaité. Il faudrait essayer de chauffer afin de faciliter l'addition oxydante du palladium dans la liaison carbone-iode.

B- Etudes de titration des hémicryptophanes fluorescents développés

Les propriétés de reconnaissance des HC **207** et **211** pour les ammoniums quaternaires ont ensuite été étudiées, d'abord par fluorescence, afin de déterminer les constantes d'associations puis par RMN afin de mettre en évidence les interactions mises en jeu.

Dans un premier temps, les études menées sur l'HC **207** dans un solvant organique seront exposées puis celles sur l'HC **211** dans une solution aqueuse seront présentées.

a) Etudes de titration d'hémicryptophane soluble en milieu organique

1) Titration de l'acétylcholine avec l'HC 207

Afin de déterminer la constante d'association pour l'acétylcholine par l'HC **207**, nous avons effectué une titration par fluorescence (figure 82). Une solution d'HC **207** à 2×10^{-5} M a été préparée dans un mélange 99/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ et des petites quantités d'ACh dans le même solvant ont été ajoutées. Lors des ajouts, on a pu observer une augmentation de l'intensité de fluorescence, nous avons donc une sonde de type « off-on », ceci est un avantage car cela permet de suivre la sonde plus facilement.

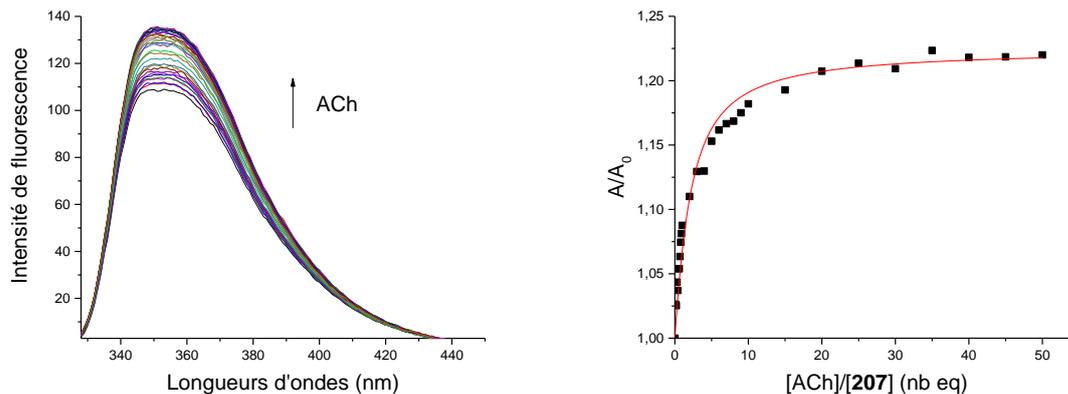


Figure 82 : Titration de l'HC 207 par l'ACh à une concentration de $2 \times 10^{-5} M$ dans un mélange de solvants 99/1 $CHCl_3/MeOH$ avec A_0 l'aire sous la courbe d'émission de fluorescence ($\lambda_{ex} = 318 \text{ nm}$)

2) Titration de la choline avec l'HC 207

La même procédure que pour l'ACh a été utilisée pour la titration de la choline par l'HC 207 (figure 83). Cette titration correspond également à une stœchiométrie 1:1 et on obtient une constante d'association $K_{ass} = 1,2 \times 10^3 M^{-1}$.

Cependant, ces résultats n'ont été obtenu qu'une fois et il n'a pas été possible de reproduire l'expérience. Il sera donc important d'obtenir des résultats reproductibles afin de valider ces données.

En comparant les constantes d'associations de l'ACh et de la Ch, on obtient une sélectivité de 25 entre les deux, ce qui est une valeur importante étant donné que la meilleure sélectivité en faveur de l'ACh était de $K_{ACh}/K_{Ch} = 4,2$.

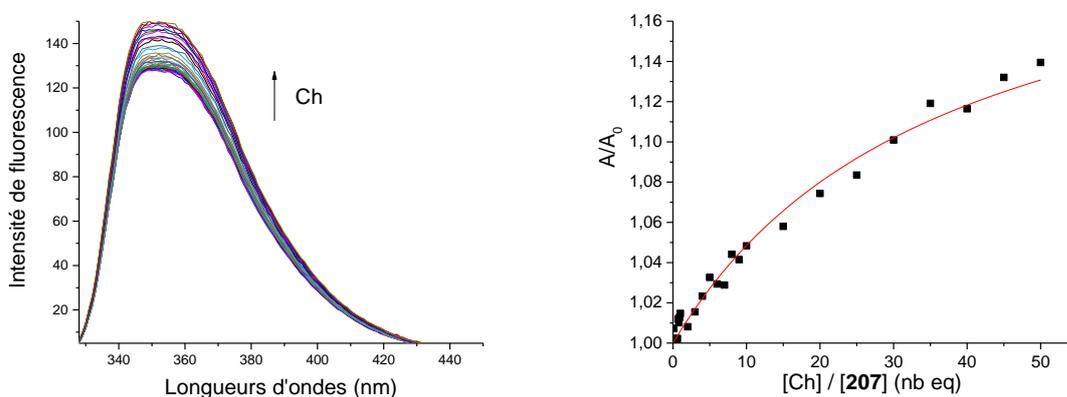


Figure 83 : Titration de l'HC 207 par la Ch à une concentration de $2 \times 10^{-5} M$ dans un mélange de solvants 99/1 $CHCl_3/MeOH$ avec A_0 l'aire sous la courbe d'émission de fluorescence ($\lambda_{ex} = 318 \text{ nm}$)

3) Titration du chlorure de tétraméthylammonium avec l'HC 207

Afin d'avoir une référence, le chlorure de tétraméthylammonium, un des plus petits ammoniums, a été utilisé pour faire une titration avec l'HC 207 (figure 84) et voir la sélectivité entre l'ACh, la Ch et le chlorure de tétraméthylammonium. Celui-ci a également montré une

augmentation de fluorescence au fur et à mesure des ajouts. Cependant, l'allure de sa courbe n'est pas similaire à celles de l'ACh et de la Ch et elle ne correspond pas à une stœchiométrie 1:1. Il est possible que, par sa petite taille, nous ayons un mélange de stœchiométrie 1:1 et 1:2.

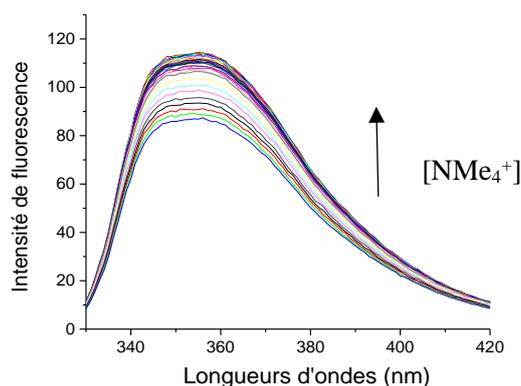


Figure 84 : Titration de l'HC 207 avec du chlorure de tétraméthylammonium à une concentration de $2 \times 10^{-5} M$ dans un mélange de solvants 99/1 $CHCl_3/MeOH$ avec A_0 l'aire sous la courbe d'émission de fluorescence ($\lambda_{ex} = 318 \text{ nm}$)

Afin de pouvoir visualiser facilement la sélectivité de l'HC 207 pour les différents ammoniums, nous avons rassemblés les courbes sur un seul et même graphique (figure 85).

Ceci nous permet d'observer la bonne sélectivité de l'HC 207 pour l'ACh par rapport à la Ch et par rapport au chlorure de tétraméthylammonium, nous avons observé un accroissement similaire à l'ACh jusqu'à 1 équivalent puis une différence en faveur de l'ACh est observée.

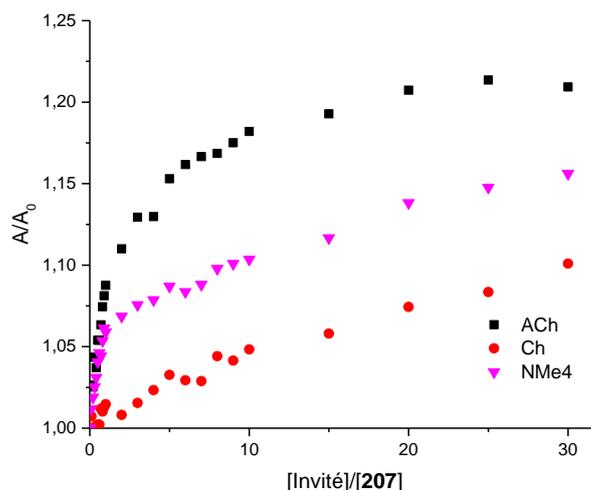


Figure 85 : titrations de l'HC 207 avec différents ammoniums à une concentration de $2 \times 10^{-5} M$ dans un mélange de solvants 99/1 $CHCl_3/MeOH$ avec A_0 l'aire sous la courbe d'émission de fluorescence ($\lambda_{ex} = 318 \text{ nm}$)

Ces résultats obtenus, les interactions mises en jeu entre l'ACh et l'HC 207 ont été étudiées par RMN.

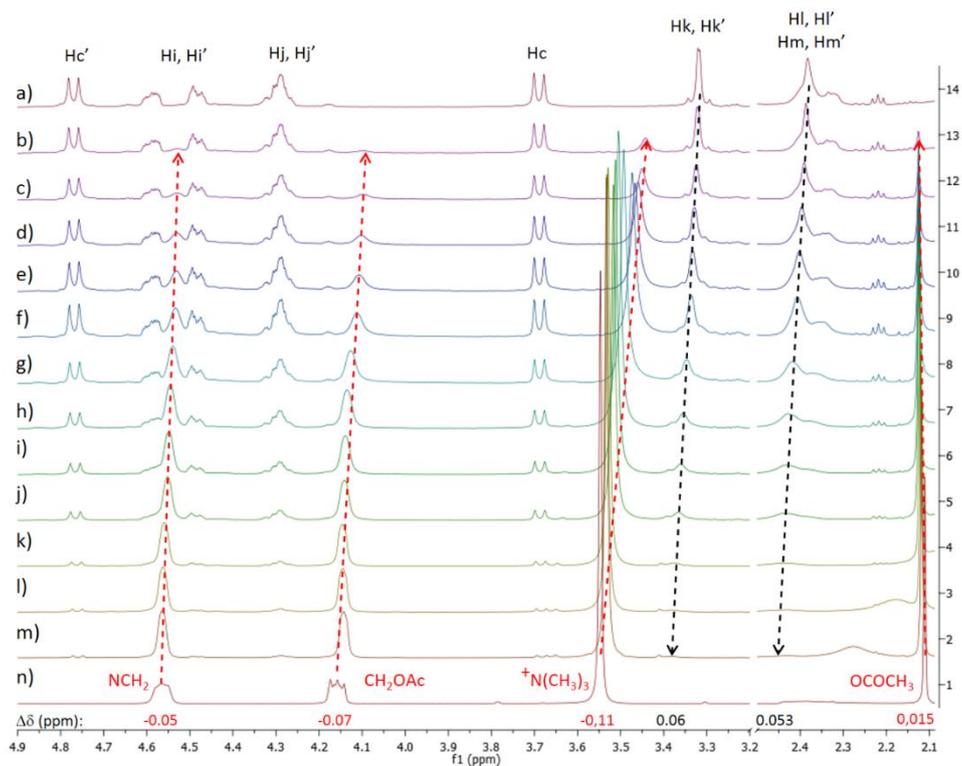


Figure 86 : titration RMN ^1H 600 MHz de l'HC **207** par l'ACh dans le CDCl_3

On peut voir sur ce spectre RMN ^1H (figure 86) que les signaux de l'ACh sont tous blindés sauf celui de l'acétate, ce qui nous laisse penser que l'ACh se situe bien à l'intérieur de la cavité.

Lorsqu'on regarde les signaux de l'HC **207**, on peut voir que les signaux des protons H_h et surtout H_g sont déblindés tandis que les protons H_a et H_b sont blindés. Ceci nous permet de penser que l'ammonium de l'ACh fait des interactions cation- π avec l'aromatique proche du motif tren et que l'ester de l'ACh fait des interactions n- π avec les aromatiques du motif CTV.

Une constante d'association entre l'acétylcholine et l'HC **207** de 188 M^{-1} a été déterminée par RMN ^1H . Cette constante d'association plus faible que celle déterminée par spectroscopie de fluorescence pourrait s'expliquer par une complexation différente de l'acétylcholine par l'HC **207** dans son état fondamental et dans son état excité.

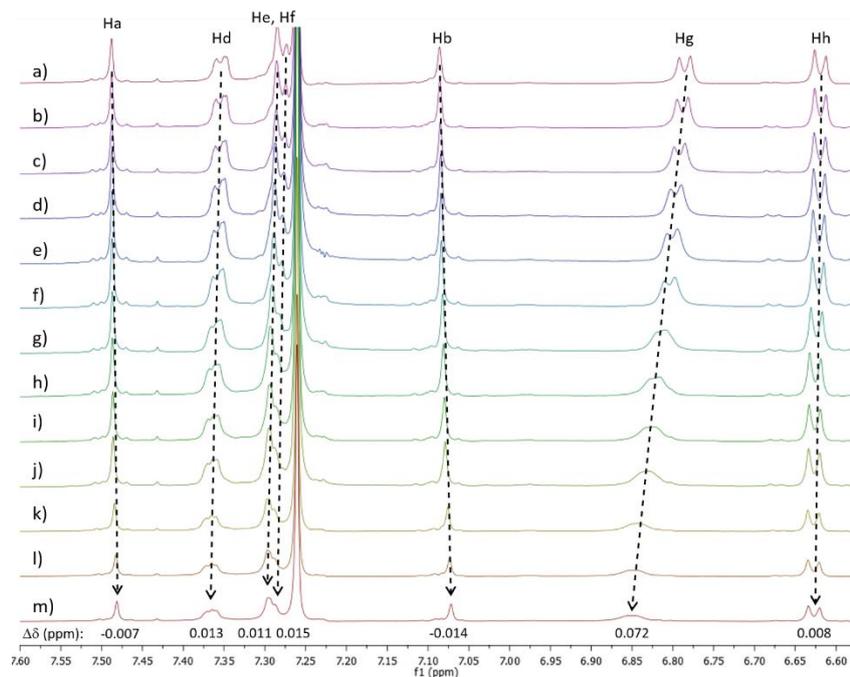


Figure 87 : titration RMN de l'HC 207 par l'ACh dans le $CDCl_3$

Ces résultats ont été corroborés par des études en dynamique moléculaire effectuées à l'IPREM à Pau par Rémy Pétuya et Didier Bégué. En effet, il a été trouvé un minimum d'énergie potentielle dans le calcul pour l'ACh dans l'HC 207 avec l'ammonium vers le bas et l'ester vers le haut (figure 88).

L'orientation de l'acétylcholine dans l'HC 207 semble être inversée par rapport à celle observée par l'équipe d'Alexandre Martinez.⁷¹ La présence de cycles aromatiques supplémentaires sur les bras du motif CTV pourrait expliquer cette différence.

Il a également été observé que lorsque la cage est vide (sans invité), les aromatiques dans les bras de l'HC et ceux présents sur le CTV (en bleu et jaune sur la figure), sont proches tandis que lors de l'ajout d'un invité dans la cavité, ceux-ci s'éloignent. Ceci pourrait expliquer l'augmentation de l'intensité de fluorescence observée lors de l'ajout d'ammoniums. En effet, l'éloignement des deux aromatiques pourrait empêcher un transfert d'électrons entre eux qui éteindrait la fluorescence.

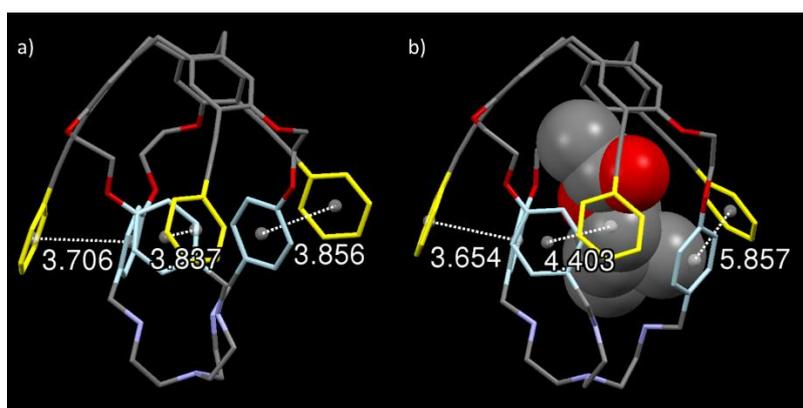


Figure 88 : Etudes DFT de l'HC 207 vide et avec un invité

b) Etudes de titration d'hémicryptophane soluble en milieu tampon

Les propriétés de reconnaissances de l'HC **211** pour les ammoniums quaternaires ont ensuite été étudiées, d'abord par fluorescence puis par RMN.

1) Titration par fluorescence de différentes espèces biologiques avec l'HC **211**

Nous avons préparé une solution à 2×10^{-5} M d'HC **211** dans un mélange 98/2 PBS (140 mM, pH 7,4)/DMSO. Grâce aux 3 acides présents sur la molécule, celle-ci est soluble en milieu tampon. A cette solution sont ajoutés de petits ajouts d'invités dans le même solvant.

Cette fois-ci nous observons une diminution de l'intensité de fluorescence au fur et à mesure des ajouts (figure 89). La courbe de titration n'est également plus la même que celle obtenue en milieu organique. Ici, la courbe correspondrait à un mélange de stœchiométrie 1:1 et 1:2.

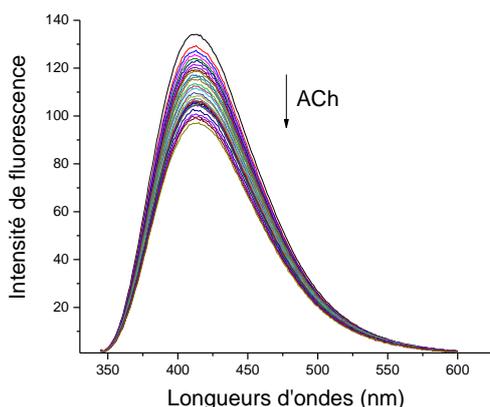


Figure 89 : spectres d'émissions de la titration de l'HC **211** par l'ACh à 2×10^{-5} M dans un mélange 98/2 PBS (140 mM, pH 7,4)/DMSO ($\lambda_{ex} = 330$ nm)

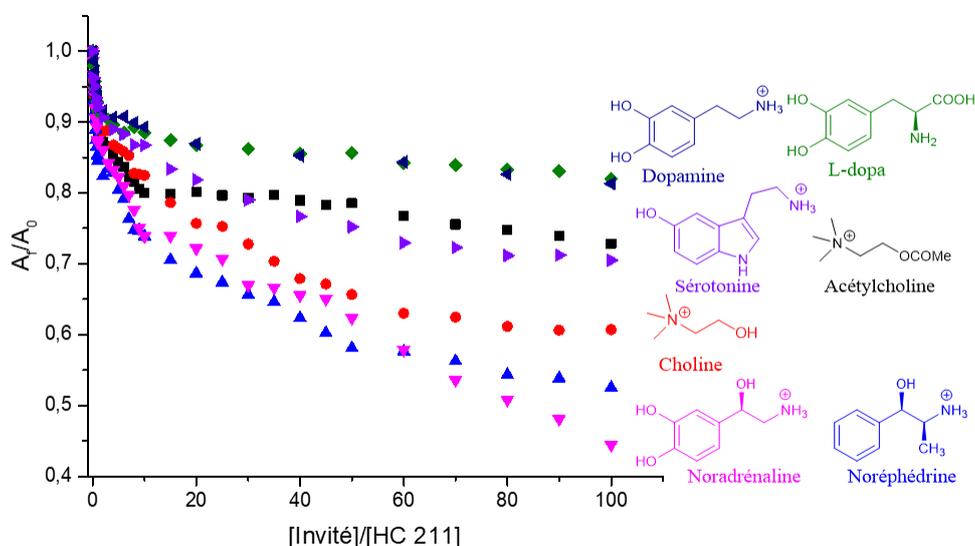


Figure 90 : titrations de l'HC **211** avec différents ammoniums à 2×10^{-5} M dans un mélange 98/2 PBS (140 mM, pH 7,4)/DMSO ($\lambda_{ex} = 330$ nm)

Nous avons également fait la titration de l'HC **211** avec la choline (figure 90). On peut voir que la choline (courbe en rouge) provoque une plus grande variation de l'intensité de fluorescence que l'acétylcholine (courbe en noir). En effet, on observe une diminution d'environ 25% avec l'ACh tandis qu'une diminution d'environ 40% avec la choline est obtenue.

Nous avons également étudié la sélectivité entre les catécholamines (L-dopa, dopamine et norépinéphrine). Si de nombreuses sondes sont capables de détecter les catécholamines, peu d'entre elles sont capables d'avoir une sélectivité pour une cible précise.

Ici nous n'observons pas de sélectivité entre la L-dopa et la dopamine (figure 90). Cependant, nous observons une grande différence d'intensité entre la courbe de la dopamine (en bleu foncé) et la courbe de la norépinéphrine (en rose). Avec la dopamine, une diminution de l'intensité de fluorescence d'environ 15% est observée tandis qu'une diminution d'environ 55% est obtenue avec la norépinéphrine.

Pour étudier les fonctions importantes à la reconnaissance et étudier l'étendue des molécules reconnues par l'HC **211**, nous avons testé la sérotonine et la noréphédrine.

On peut voir qu'avec la noréphédrine (en bleu clair) il y a une diminution de l'intensité de fluorescence de 50% et qu'avec la sérotonine (en violet), elle est de 25% (figure 90).

Invités	Constantes d'associations (M^{-1})
Dopamine	$10^{7,92}$
L-Dopa	$10^{6,10}$
Sérotonine	$10^{6,92}$
Acétylcholine	$10^{4,41}$
Choline	$10^{3,37}$
Noradrénaline	$10^{6,30}$
Noréphédrine	$10^{3,61}$

Figure 91: Tableau des constantes d'associations de l'HC **211** avec différents ammoniums à $2 \times 10^{-5} M$ dans un mélange 98/2 PBS (140 mM, pH 7,4)/DMSO ($\lambda_{ex} = 330 \text{ nm}$)

Lorsqu'on compare tous ces ammoniums entre eux, on peut voir que la choline, la noradrénaline et la noréphédrine sont les mieux reconnues. Cette sélectivité pourrait s'expliquer par la présence d'un hydroxyle non aromatique sur ces molécules.

1) Titration par RMN de l'HC **211** par la noréphédrine

Afin d'étudier les interactions mises en jeu et la position de l'invité dans la cage, nous avons effectué une titration par RMN dans le MeOD de l'HC **211** par la noréphédrine (figure 91).

On peut observer que les signaux du tren (protons $H_{u,v}$) sont déblindés tandis que les protons du cycle aromatique proches du tren (proton H_k) sont blindés. On peut donc penser que

l'ammonium de la noréphédrine fait des interactions avec les amines du tren tandis que l'ester fait des interactions avec le cycle aromatique proche du tren.

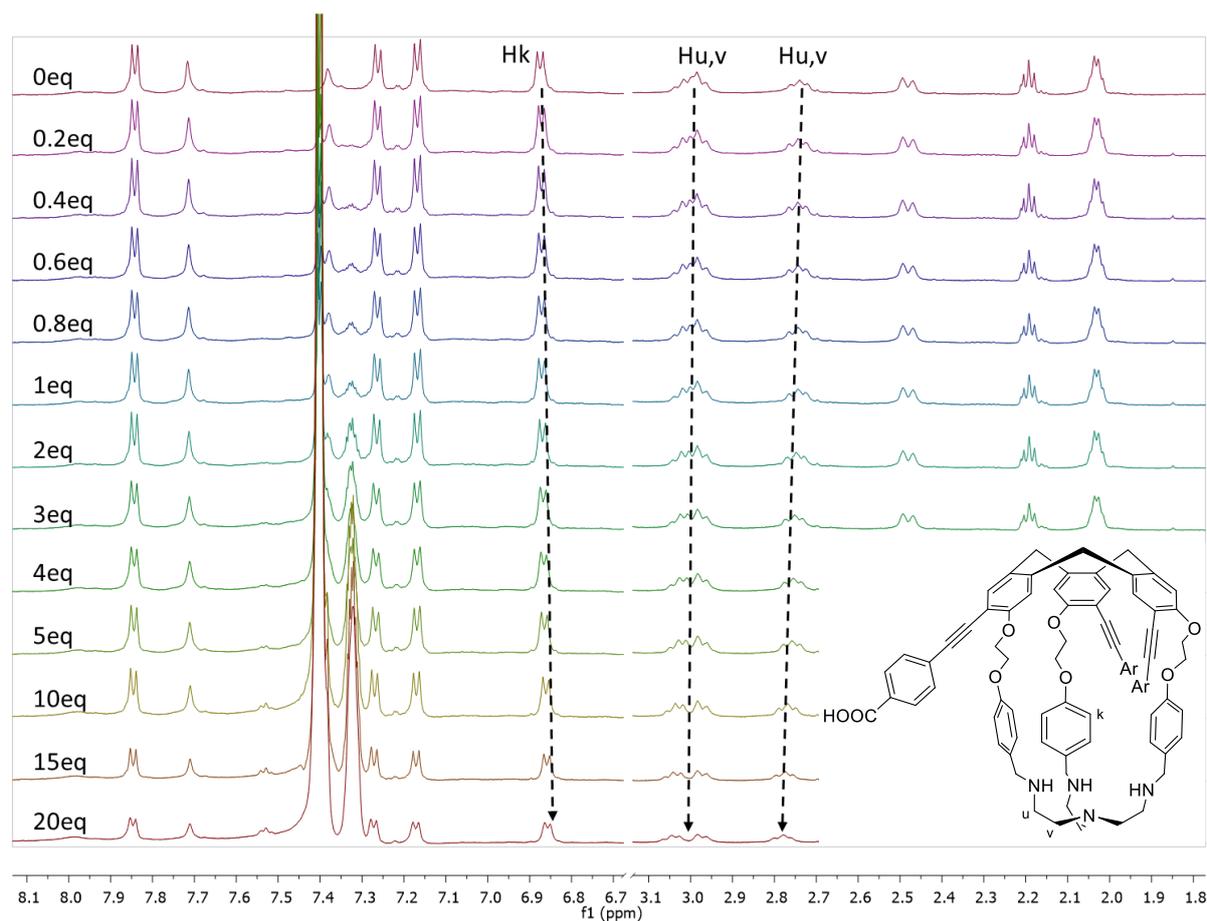


Figure 92 : titration RMN de l'HC 211 par la noréphédrine dans le CD_3OD

En conclusion, nous avons étudié les propriétés de reconnaissances d'ammoniums par un HC soluble en milieu organique (chloroforme) et nous avons développé et étudié un HC soluble en milieu aqueux.

Les longueurs d'ondes de ces HC restent faibles, c'est pour cela que nous voulons développer un HC avec un meilleur fluorophore. Grâce à ce travail, différents HC fluorescents pourront être développés en faisant varier le fluorophore pour atteindre différentes longueurs d'ondes. La structure de l'HC pourra être également modifiée (remplacement des amines du tren par des amides) afin d'obtenir une reconnaissance pour des espèces biologiques différentes. Enfin ces HC, qui devraient être hydrosolubles, pourront être utilisés pour suivre des molécules *ex-vivo*.

V. Conclusion Générale

L'objectif de ce travail était de développer et d'étudier de nouvelles sondes fluorescentes basées sur des CTV et des HC. Les CTV ont permis de tester la possibilité de coupler différents fluorophores aux CTV par une réaction de Sonogashira. Ceci a permis de sélectionner celui possédant les meilleures propriétés spectroscopiques. Les HC ont été envisagés afin d'améliorer la reconnaissance pour les ammoniums d'intérêt biologique.

Dans un premier temps, nous avons essayé de fonctionnaliser des CTV par des réactions de Heck et de Wittig. Ces réactions n'ont jamais été utilisées sur des CTV et auraient peut-être permis d'améliorer les longueurs d'ondes d'absorption et d'émissions par rapport aux précédents CTV développés.

Puis nous avons essayé d'améliorer le système « push-pull » du CTV en voulant remplacer le groupement méthoxy par un groupement amine. Pour cela, un nouveau monomère portant une amine protégée a été développé mais la réaction de trimérisation n'a pas fonctionné.

Dans la continuité des travaux précédemment effectués au laboratoire, nous avons ajouté un fragment possédant un motif thiophène sur le CTV triiodé **75** par réaction de Sonogashira. Des longueurs d'ondes d'absorption et d'émission de 365 nm et 441 nm ont été mesurées pour le CTV **104**.

Grâce à cette réaction, nous avons pu greffer d'autres fluorophores sur le CTV. Nous avons donc obtenu un CTV fonctionnalisé par des coumarines et ayant des longueurs d'ondes d'absorption et d'émission de 382 nm et 477 nm. Nous avons également obtenu des CTV fonctionnalisés par des groupements BTD diversement fonctionnalisés (méthyle, phosphonate) et ayant des longueurs d'ondes d'absorption et d'émission de 395 nm et 525 nm. Nous avons également essayé d'introduire un motif BODIPY sur le CTV **75** sans succès. Ceci a été attribué à la taille du fluorophore.

L'introduction de ces différents fluorophores a permis d'améliorer les longueurs d'ondes d'absorption et d'émission des précédents CTV synthétisés au laboratoire. En effet, le CTV **104** a permis d'augmenter de 20 nm, puis le CTV **130** de 55 nm et enfin le CTV **161** de 103 nm.

Un CTV **201** a également été obtenu en suivant la même méthode de fonctionnalisation qu'avec les autres fluorophores. En l'irradiant à 365 nm pendant une heure, une nouvelle bande d'absorption apparaît autour de 300 nm, ceci pourrait être dû à l'isomérisation de la double liaison de l'azobenzène. Il serait intéressant de synthétiser un HC portant des motifs azobenzène afin d'étudier la reconnaissance de neurotransmetteurs en fonction de leur stéréoisomérie Z ou E.

Afin d'améliorer les constantes d'associations, nous avons synthétisé deux HC. L'HC **207** soluble en milieu organique et l'HC **211** soluble en milieu aqueux. Il a également été essayé de synthétiser un HC portant 3 groupements BTD (**165** ou **189**) mais cela n'a pas été possible en suivant la même voie de synthèse que les autres HC.

Les propriétés de reconnaissance des HC **207** et **211** ont été étudiées. L'HC **207** reconnaît l'ACh et la Ch dans un mélange 99/1 chloroforme/méthanol. L'HC **211** reconnaît l'ACh, la Ch, la dopamine, la L-dopa, la sérotonine, la noradrénaline et le noréphédrine dans un mélange 98/2 PBS (PH=7,4, 140 mM)/DMSO. Une variation globale de l'intensité de fluorescence plus importante a été observée pour la Ch, la noradrénaline et la noréphédrine. Des études approfondies pour ces molécules pourraient être envisagées.

Il serait intéressant d'obtenir un HC possédant de meilleurs fluorophores comme des BTD par exemple, pour pouvoir l'observer en imagerie *ex-vivo*. Celui-ci pourrait être obtenu en utilisant une voie de synthèse en protégeant les amines par des groupements fmoc et en faisant la réaction de Sonogashira sur l'HC déjà formé.

VI. Partie expérimentale

A- Partie expérimentale générale

Réactifs et solvants

Tous les réactifs commerciaux proviennent de Sigma-Aldrich, Acros, fluorochem ou Fisher, et sont utilisés sans purification. Le dichlorométhane et le tétrahydrofurane proviennent d'un purificateur SP; le toluène est fraîchement distillé avec du sodium. Le N, N-diméthylformamide sec est stocké sous azote et utilisé sans purification. L'acétone, l'éthanol, l'éther diéthylique utilisés sont à une pureté de 98% (sauf si une précision est apportée dans le mode opératoire). La triéthylamine et le méthanol sont distillés sur CaH₂.

Chromatographie

Les purifications par chromatographie sont effectuées avec des colonnes de silice (Fluka analytical 60 (40-63 μm)). Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été faites en utilisant des plaques de silice 60W F254S (60 Å) de chez Merck.

Analyses RMN

Les spectres RMN ¹H, ¹³C et ³¹P ont été enregistrés sur des appareils Bruker ultrashield Avance 300 MHz, 400 MHz et 600 MHz. Les déplacements chimiques sont reportés en utilisant le pic résiduel du solvant comme référence interne. La notation suivante est utilisée pour les spectres RMN ¹H : singulet (s), doublet (d), triplet (t), multiplet (m), doublet de doublet (dd), triplet de triplet (tt) et signaux larges (br).

Les expériences NOESY and DOSY sont faites sur un Bruker Avance III 600 MHz

Analyse infrarouge

Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un spectromètre Nicolet iS10 FT-IR Dans la zone 4000–1000 cm⁻¹.

Points de fusions

Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil Stuart scientific melting point apparatus SMP3 et ne sont pas corrigés

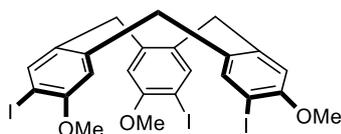
Analyse de masses

Les spectres de masses sont faits par le CESAMO (Bordeaux, France) avec un spectromètre de masse Qstar Elite (biosystèmes appliqués). L'instrument est équipé avec une source ESI et les spectres sont enregistrés en mode positif. L'aiguille de l'électrospray est maintenue à 5000 V et est utilisée à température ambiante. Les échantillons sont introduits par injection à travers une boucle d'échantillons de 10 μL avec un débit de 200 μL/min de méthanol à partir de la pompe LC.

Les spectres MALDI-MS sont enregistrés par le CESAMO (Bordeaux, France) sur un spectromètre Voyager (biosystèmes appliqués). L'instrument est équipé d'un laser pulsé N₂ (337 nm) et une source d'ions différée. Les spectres sont enregistrés en mode d'ion positif en utilisant le reflectron et avec une tension accélérée de 20 kV. Les échantillons sont dissous dans du chloroforme.

B- Procédures expérimentales de synthèse

2,7,12-triiodo-3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène (75)

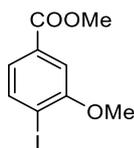


P₂O₅ (3,58 g, 25,2 mmol, 3,3 eq) est dissous dans de l'éther diéthylique sec (46 mL) sous azote. Le composé **86** (2 g, 7,6 mmol) est dissous dans de l'éther diéthylique sec (7 mL) est ajouté à la suspension obtenue. La solution est chauffée pendant 3 jours. L'éther est ensuite évaporé, le résidu est trituré avec du DCM, puis filtré sur gel de silice. La silice est lavée avec du DCM (1 L). Le filtrat est ensuite évaporé. Le solide est trituré avec un mélange éther diéthylique/DCM (95/5) et filtré. On obtient un solide blanc (828 mg, 1,12 mmol, 44%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,72 (s, 3H), 6,74 (s, 3H), 4,65 (d, *J* = 13,6 Hz, 3H), 3,86 (s, 9H), 3,58 (d, *J* = 13,6 Hz, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁰

4-iodo-3-methoxybenzoate de méthyle (85)



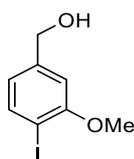
Le composé **84** (8,6 g, 32,57 mmol, 1 eq) est dissous dans l'acétone (250 mL) sous atmosphère d'azote puis le K₂CO₃ (18 g, 130,3 mmol, 4 eq) est ajouté. A la solution trouble obtenue on ajoute doucement l'iodométhane (196 mmol, 12,2 mL, 6 eq). La solution est chauffée à 35°C sous agitation pendant une nuit. Puis l'acétone est évaporée et le résidu est dissous dans l'AcOEt (100 mL) et lavé avec de l'eau distillée (100 mL) jusqu'à neutralité. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. On obtient un liquide jaune pâle (8 g, 27,4 mmol, 84%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,86 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,37 (dd, *J* = 8,1, 1,8 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,92 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁰

¹⁴⁰ L. Peyrard, S. Chierici, S. Pinet, P. Batat, G. Jonusauskas, N. Pinaud, P. Meyrand, I. Gosse, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 8489

(4-iodo-3-methoxyphenyl) de méthanol (86)

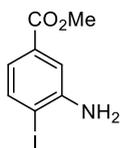


Le composé **85** (9,02 g, 30,87 mmol) est dissous dans le THF sec (120 mL) sous azote. La solution est refroidie à -78°C et le dibal-H (80 mL, 80 mmol, 2,6 eq) est ajouté au goutte à goutte. La solution est laissée remonter à température ambiante et agitée toute la nuit. Ensuite, la réaction est hydrolysée à 0°C par l'addition de HCl (1M, 150 mL). La phase aqueuse est extraite avec du DCM (3x150 mL). Les phases organiques sont rassemblées et lavées à l'eau distillée, séchées sur MgSO_4 , filtrées puis évaporées à l'évaporateur rotatif. On obtient une huile jaune pale (7,72 g, 29,2 mmol, 95%).

^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,68 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,64 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,59 (s, 2H), 3,84 (s, 1H)

Identique à la littérature¹⁴⁰

3-amino-4-iodobenzoate de méthyle (88)

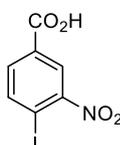


Le composé **91** (66 mg, 0,215 mmol) est dissous dans l'acide acétique (2,3 mL). De la poudre de fer (365 mg, 6,53 mmol, 30 eq) est ajoutée. La solution est agitée pendant 20h à température ambiante sous atmosphère d'azote. La solution est ensuite filtrée sur célite et évaporée. Le résidu est dissous dans l'AcOEt (10 mL) et de l'eau (10 mL). La phase organique est lavée avec une solution aqueuse de NaHCO_3 concentrée (10 mL) et lavée avec une solution aqueuse de $\text{NaCl}(\text{sat})$ (10 mL), séchée sur MgSO_4 et filtrée. Le solvant est évaporé pour obtenir une poudre jaune (44 mg, 0,16 mmol, 74%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 7,69 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,36 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 8,1, 2,0$ Hz, 1H), 5,52 (s, 2H), 3,81 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴¹

Acide 4-iodo-3-nitrobenzoïque (90)



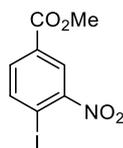
L'acide 4-iodobenzoïque (0,248 g, 1 mmol) est dissous dans un mélange d'acide sulfurique concentré

(1 mL), et d'acide nitrique concentré (0,75 mL). La solution est agitée pendant 24h à 90°C puis elle est refroidie à température ambiante et versée dans un b cher de glace (15 mL). Le précipité est filtré, lavé à l'eau et séché sous vide pour donner un solide jaune (0,260 g, 0,89 mmol, 89%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 8,34 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,27 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,87 (dd, $J = 8,2, 2,0$ Hz, 1H).

Identique à la litt rature¹⁴¹

4-iodo-3-nitrobenzoate de méthyle (91)

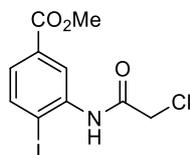


Le composé **90** (0,251 g, 0,86 mmol) est dissous dans du DCM (5 mL)   0°C puis du SOCl_2 (0,122 mL, 1,72 mmol, 2 eq) ajouté au goutte à goutte. La solution est chauffée au reflux pendant une nuit. Le solvant est évaporé. On ajoute du méthanol (5 mL) et on agite pendant 4h. Le solvant est évaporé et on obtient un solide jaune (0,264 g, 0,86 mmol, 100%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ (ppm) 8,37 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,29 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 8,2, 2,0$ Hz, 1H), 3,89 (s, 3H).

Identique à la litt rature¹⁴¹

3-(2-chloroacetamido)-4-iodobenzoate de méthyle (92)



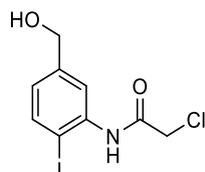
Le chlorure de chloroacétyle (0,16 mL, 2,04 mmol, 1,38eq) est ajouté goutte à goutte à une solution de composé **88** (0,41 g, 1,48 mmol) dans la triéthylamine (0,32 mL) et le DCM (72 mL). La réaction est agitée à température ambiante pendant 20h. Le solvant est évaporé puis le résidu est dissous dans du DCM et lavé 3 fois avec une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est s ch e sur MgSO_4 , filtr e et  vapor e. On obtient un solide blanc (0,523 g, 2,04 mmol, 100%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,81 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,76 (s, 1H), 7,91 (d, $J = 8,3$ Hz, 5H), 7,56 (dd, $J = 8,3, 2,0$ Hz, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,92 (s, 3H).

¹⁴¹ N. Ko, J. Hong, S. Sung, K. E. Cordova, H. J. Park, J. Yang, J. Kim, *Dalton Transactions*, **2015**, 44, 2047-2051

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166,22, 164,36, 139,37, 137,76, 131,65, 127,48, 122,43, 96,03, 52,59, 43,30.

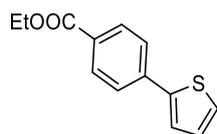
2-chloro-N-(5-(hydroxymethyl)-2-iodophenyl)acetamide (93)



Le composé **92** (0,25g, 0,7 mmol) est dissous dans du THF sec (5 mL) puis une solution de Dibal-H (1M dans le THF) (2,45 mL, 2,45 mmol, 3,5 eq) à -78°C . La solution est agitée à température ambiante pendant une nuit. La solution est hydrolysée avec du HCl (1M, 5 mL) puis elle est extraite avec du DCM (3x10 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 75/25). On obtient un solide blanc (0,1 g, 0,29 mmol, 42%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,73 (s, 1H), 8,20 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,83 – 7,74 (m, 1H), 6,94 (dd, $J = 8,2, 2,0$ Hz, 1H), 4,67 (s, 2H), 4,23 (s, 2H).

4-(thiophen-2-yl)benzoate d'éthyle (100)



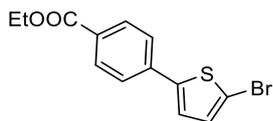
Le composé **98** (1 g, 3,6 mmol), le $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (416 mg, 0,36 mmol, 0,1 eq), le composé **99** (690 mg, 5,4 mmol, 1,5 eq) et le K_2CO_3 (1,104g, 8 mmol, 2,2 eq) sont ajoutés dans un tube en verre. Du THF (13 mL) et de l'eau (2 mL) sont ajoutés sous azote. Le tube est chauffé au micro-ondes pendant 30 minutes à 70°C . Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 65/35). On obtient un solide jaune (646 mg, 2,77 mmol, 77%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,11 – 7,99 (m, 2H), 7,73 – 7,62 (m, 2H), 7,42 (dd, $J = 3,6, 1,1$ Hz, 1H), 7,36 (dd, $J = 5,1, 1,1$ Hz, 1H), 7,12 (dt, $J = 5,1, 3,7$ Hz, 1H), 4,39 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,41 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Identique à la littérature¹⁴²

¹⁴² J. Lu, B. Zhang, H. Yuan, X. Xu, K. Cao, J. Cui, S. Liu, Y. Shen, Y. Cheng, J. Xu, M. Wang, *J. Phys. Chem. C*, **2014**, *118*, 14739-14748

4-(5-bromothiophen-2-yl)benzoate d'éthyle (101)

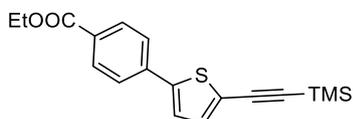


Le composé **100** (456 mg, 1,96 mmol) est dissous dans du THF sec (33 mL). Puis le NBS (377 mg, 2,12 mmol, 1,1 eq) est ajouté sous azote et la solution est agitée une nuit à température ambiante dans le noir. Ensuite le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/cyclohexane 50/50). On obtient un solide jaune (551 mg, 1,76 mmol, 90%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,07 – 8,01 (m, 2H), 7,59 – 7,53 (m, 2H), 7,16 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 7,07 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 4,39 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,40 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Identique à la littérature¹⁴³

4-(5-((triméthylsilyl)éthynyl)thiophen-2-yl)benzoate d'éthyle (102)

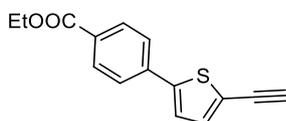


CuI (17 mg, 0,089 mmol, 0,05 eq), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (20 mg, 0,089 mmol, 0,05 eq), et la triphénylphosphine (71 mg, 0,27 mmol, 0,15 eq) sont ajoutés à une solution de composé **101** (551 mg, 1,77 mmol) dans de la triéthylamine distillée (24 mL) et du DCM sec (24 mL). La solution est refroidie à 0°C . Elle est agitée pendant 30 minutes à 0°C , puis le triméthylsilyléthyne (0,76 mL) est ajouté et la solution est agitée pendant 30 minutes à 0°C avant d'être remis à température ambiante. Après 30 minutes à température ambiante, la solution est chauffée à 45°C et agitée pendant 24h. La solution est ensuite refroidie à température ambiante et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/cyclohexane 50/50). On obtient un solide jaune (378 mg, 1,15 mmol, 65%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,08 – 8,00 (m, 2H), 7,65 – 7,58 (m, 2H), 7,26 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 7,21 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 4,46 – 4,31 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,40 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 0,26 (s, 9H).

Identique à la littérature¹⁴³

4-(5-éthynylthiophen-2-yl)benzoate d'éthyle (103)



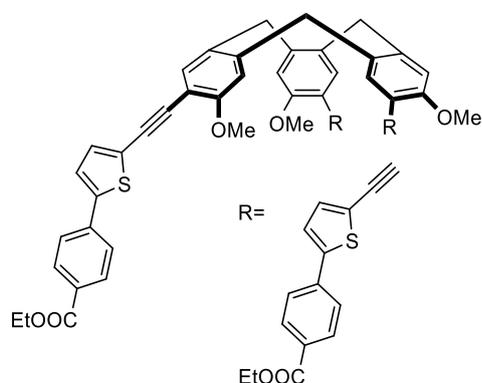
Le composé **102** (110 mg, 0,33 mmol, 1 eq) est dissous dans du THF sec (1 mL) puis la solution est refroidie à 0°C. Le TBAF (1M dans le THF) (0,34 mL, 0,34 mmol, 1,01eq) est ajouté au goutte à goutte et la réaction est agitée à 0°C pendant 30 minutes. De l'eau est ensuite ajoutée (5 mL) et la réaction est extraite avec du DCM (2x5 mL). Les phases organiques sont rassemblées et lavées avec une solution aqueuse de NaCl saturée (5 mL). Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/ cyclohexane 40/60). On obtient un solide jaune (55 mg, 0,21 mmol, 64%).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,05 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,63 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,27 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 4,39 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,43 (s, 1H), 1,41 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (76 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166,25, 144,83, 137,72, 134,41, 130,46, 129,91, 125,71, 124,27, 82,75, 61,25, 14,49.

HRMS (FD) : m/z pour $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}$, adduit Na : calculé 256,05580 ; trouvé, 256,05604.

triethyl 4,4',4''-(((3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(ethyne-2,1-diyl)tris(thiophene-5,2-diyl)tribenzoate (104)



Le CTV triiodé **75** (50 mg, 0,068 mmol), le composé **103** (157 mg, 0,612 mmol, 9 eq), le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (29 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) et le CuI (8 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés dans un tube de schlenck. Des cycles vide/azote sont faits trois fois puis du toluène distillé (2 mL) et de la triéthylamine distillée (0,5 mL) sont ajoutés. La solution est dégazée pendant 20 min. La solution est ensuite chauffée pendant 2 jours à 40°C. Après 2 jours, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM 100% puis DCM/AcOEt 99/1). Le produit est ensuite purifié par HPLC (éluant : Hexane / éthanol / DCM (20/40/40)). On obtient un solide jaune (47 mg, 0,042 mmol, 62%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,04 (d, $J = 8,7$ Hz, 6H), 7,62 (d, $J = 8,7$ Hz, 6H), 7,42 (s, 3H), 7,29 (dd, $J = 12,0, 2,9$ Hz, 6H), 6,82 (s, 3H), 4,50 (d, $J = 13,5$ Hz, 3H), 4,40 (q, $J = 7,1$ Hz, 6H), 3,89 (s, 9H), 3,50 (d, $J = 13,7$ Hz, 3H), 1,41 (t, $J = 7,1$ Hz, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 166,25, 158,91, 144,17, 141,95, 137,94, 134,76, 133,13, 130,90, 130,42, 129,62, 125,48, 124,52, 112,33, 110,95, 91,29, 86,27, 61,17, 56,24, 36,61, 14,47.

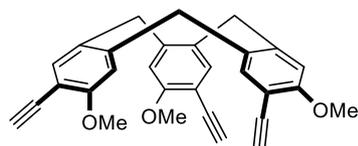
FTIR ν (cm^{-1}): 2977,31, 2920,32, 2844,33, 2359,89, 1701,85, 1606,33

HRMS (ESI, Full ms) : m/z pour C₆₉H₅₄O₉S₃, adduit H⁺: calculé 1123,29; trouvé, 1123,30111

Tdécomposition : 223°C

$\lambda_{\text{abs max}}(\text{CHCl}_3/\text{MeOH } 98/2) = 365 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em max}} = 441 \text{ nm}$, $\epsilon = 1,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, $\phi = 35\%$ (9,10-diphenylanthracene comme référence)

2,7,12-triethynyl-3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène (112)



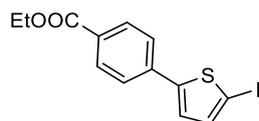
Le composé **75** (300 mg, 0,41 mmol) et le triméthylsilyléthyne (0,51 mL, 3,65 mmol, 9 eq) sont dissous dans du toluène distillé (12 mL) sous azote. La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 minutes. Le CuI (46 mg, 0,24 mmol, 0,6 eq), le PdCl₂(PPh₃)₂ (171 mg, 0,24 mmol, 0,6 eq) et la triéthylamine distillée (3 mL) sont ajoutés et la solution est chauffée à 40°C pendant 2 jours. Après ce temps, le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 70/30). On obtient une poudre blanche (140 mg, 0,22 mmol, 54%)

Le produit (140 mg, 0,22 mmol) est ensuite dissous dans du THF sec (10 mL) sous azote. Le TBAF (1M dans le THF) (3,27 mL, 3,27 mmol, 15 eq) est ajouté et la solution est agitée à t.a pendant une nuit. Le THF est ensuite évaporé et de l'eau distillée (10 mL) est ajoutée au résidu. La phase aqueuse est extraite avec du DCM (3x10 mL). Les phases organiques sont lavées avec de l'eau (10 mL), séchées sur MgSO₄ et évaporées. Le solide obtenu est lavé avec de l'éther diéthylique. Une poudre blanche est obtenue (24 mg, 0,055 mmol, 25%).

¹H MNR (400 MHz, DMSO) δ (ppm) 7,64 (s, 3H), 7,19 (s, 3H), 4,75 (d, $J = 13,2 \text{ Hz}$, 3H), 4,12 (s, 9H), 3,78 (d, $J = 13,2 \text{ Hz}$, 3H), 3,66 (s, 3H).

Identique à la thèse de Lisa Peyrard⁷⁵

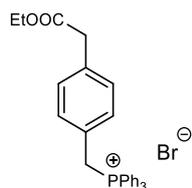
ethyl 4-(5-iodothiophen-2-yl)benzoate (114)



Le composé **100** (546 mg, 2,35 mmol) est dissous dans un mélange AcOH/CHCl₃ (2,7 mL/ 11 mL) puis le NIS (688 mg, 3,06 mmol, 1,3 eq) est ajouté. La solution est chauffée à 90°C pendant 5 minutes. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/cyclohexane 50/50). Un solide jaune est obtenu (716 mg, 2 mmol, 85%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8,09 – 7,98 (m, 2H), 7,64 – 7,52 (m, 2H), 7,26 (d, $J = 3,8 \text{ Hz}$, 1H), 7,07 (d, $J = 3,8 \text{ Hz}$, 1H), 4,39 (q, $J = 7,1 \text{ Hz}$, 2H), 1,40 (t, $J = 7,1 \text{ Hz}$, 3H).

(4-(2-ethoxy-2-oxoethyl)benzyl)triphenylphosphonium (119)

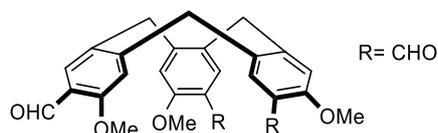


Le composé **118** (1 g, 4,3 mmol) est dissous dans le toluène (20 mL) puis la triphénylphosphine est ajoutée (1,7g, 6,45 mmol, 1,5 eq). La réaction est mise sous azote et chauffée à reflux pendant 3h. Ensuite la solution est refroidie à t.a et la solution est filtrée. Le solide est lavé à l'éther diéthylique pour donner un solide blanc (1,76 g, 3,4 mmol, 79%).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,84 – 7,69 (m, 11H), 7,66 – 7,54 (m, 6H), 7,22 (dd, $J = 8,5, 2,5$ Hz, 2H), 5,65 (d, $J = 15,2$ Hz, 2H), 4,31 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,34 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Identique à la littérature¹⁴³

3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-tricarbaldéhyde (120)



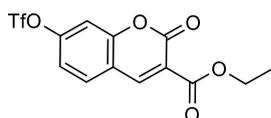
Le composé **75** (400 mg, 0,54 mmol) est dissous dans du THF sec (25 mL) sous azote. La solution est refroidie à -80°C puis du nBuLi (2,5 M dans l'Hexane)(1,95 mL, 4,9 mmol, 9 eq) est ajouté doucement. La température est laissée remontée à 0°C pendant 1h, puis à t.a pendant 1h. La solution est de nouveau refroidie à -80°C puis le N,N-diméthylformamide (1,6 mL, 21 mmol, 39 eq) est ajouté. La température est laissée remonter à t.a. Après 3h à t.a, la solution est refroidie à 0°C et une solution aqueuse de NH_4Cl saturée (10 mL) est ajoutée doucement. La solution est extraite avec de l'AcOEt (3x25 mL). Les phases organiques sont lavées avec de l'eau (25 mL), puis séchées sur MgSO_4 et évaporées. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : de DCM 100% à DCM/AcOEt 75/25). Un solide blanc est obtenu (20 mg, 0,043 mmol, 8%).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 10,33 (s, 3H), 7,84 (s, 3H), 7,00 (s, 3H), 4,77 (d, $J = 13,5$ Hz, 3H), 3,91 (s, 9H), 3,79 (d, $J = 13,5$ Hz, 3H).

Identique à la thèse de Lisa Peyrard⁷⁵

¹⁴³ D. Alzate, J. Hinestroza, C. A. Sierra, *Synthetic Communications*, **2013**, 43, 2280-2285

2-oxo-7-(((trifluoromethyl)sulfonyl)oxy)-2H-chromene-3-carboxylate d'éthyle (127)

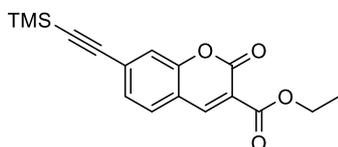


Le composé **126** (5,331 g, 22,76 mmol, 1 eq) est dissous dans de l'acétonitrile sec (240 mL) sous azote. Le *N*-phényle-bis(trifluorométhanesulfonimide) (9,06 g, 24,58 mmol, 1,08 eq) et la DIPEA (5,33 mL) sont ajoutés et la réaction est agitée à température ambiante pendant une nuit. Le solvant est évaporé et le solide est dissous dans de l'AcOEt (100 mL). La phase organique est lavée à l'eau (100 mL), puis avec une solution de HCl (0,5M, 100 mL) puis lavée à l'eau (2x100 mL). La phase organique est séchée sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 90/10 puis cyclohexane/AcOEt 50/50). On obtient un solide jaune pâle (4,8g, 13,2 mmol, 58%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8,51 (s, 1H), 7,72 (d, *J*=8,5 Hz, 1H), 7,30-7,26 (m, 2H), 7,26 (d, *J*=1,5 Hz, 1H), 4,43 (q, *J*=7,1 Hz, 4H), 1,42 (t, *J*=7,1 Hz, 6H).

Identique à la littérature¹⁴⁴

2-oxo-7-((triméthylsilyl)éthynyl)-2H-chromene-3-carboxylate d'éthyle (128)

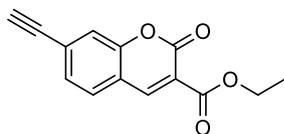


CuI (20 mg, 0,11 mmol, 0,03 eq), PdCl₂(PPh₃)₂ (77 mg, 0,11 mmol, 0,03 eq) et le composé **127** (1,3 g, 3,55 mmol) sont mis dans un ballon. 3 cycles vide/azote sont effectués. Le THF sec (40 mL) est ajouté, puis le triméthylsilyléthyne (10,65 mmol, 1,52 mL) puis la DIPEA (14,2 mmol, 2,48 mL). La solution est jaune avant de chauffer puis passage au rouge vif en chauffant à 40°C. La réaction est finie au bout de 48h. On évapore à sec. Purification sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 90/10 puis cyclohexane/AcOEt 80/20). On obtient une huile jaune (623 mg, 1,95 mmol, 55%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8,47 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,37 (dd, *J* = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 4,42 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,41 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 0,28 (s, 9H).

Identique à la littérature¹⁴⁵

7-éthynyl-2-oxo-2H-chromene-3-carboxylate d'éthyle (129)



¹⁴⁴ A. T. Wright, J. D. Song, B. Cravatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 30, 10692-10700

Le composé **128** (220 mg, 0,7 mmol) est dissous dans l'éthanol (HPLC) (23 mL) puis K_2CO_3 (193 mg, 1,4 mmol, 2 eq) est ajouté. La solution est dégazée avec de l'azote pendant 30 minutes puis la réaction est agitée sous azote à température ambiante pendant 4h. Ensuite, le solvant est évaporé, le résidu est lavé à l'eau (20 mL) et extrait avec du DCM (3x20 mL). Quelques gouttes de HCl (37%) sont ajoutées jusqu'à pH=1. La phase aqueuse est extraite jusqu'à ce qu'elle soit limpide. Enfin, pour séparer l'ester et l'acide, on filtre sur gel de silice (éluant : AcOEt/Cyclohexane 60/40). On obtient un solide jaune (148 mg, 0,61 mmol, 87%).

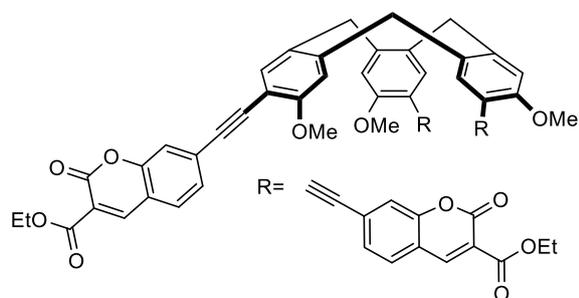
1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8,48 (s, 1H), 7,56 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,41 (dd, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 1H), 4,42 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,35 (s, 1H), 1,41 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 163,01, 156,35, 154,90, 147,74, 129,44, 128,51, 128,33, 120,25, 118,91, 118,25, 82,30, 82,05, 62,27, 14,35.

HRMS (ESI, Full ms) : m/z pour $C_{14}H_{10}O_4$, adduit Na : Calculé 265,0471; trouvé, 265,0468

FTIR ν (cm^{-1}) : 3217,94, 3050,13, 2974,14, 2923,48, 1751,98, 1603,17

diethyl 7,7'-((12-((3-(ethoxycarbonyl)-2-oxo-2H-chromen-8-yl)ethynyl)-3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7-diyl)bis(ethyne-2,1-diyl))bis(2-oxo-2H-chromene-3-carboxylate) (130)



Le CTV triodé **75** (250 mg, 0,34 mmol, 1 eq), le composé **129** (740 mg, 3,06 mmol, 9 eq), le $PdCl_2(PPh_3)_2$ (145 mg, 0,2 mmol, 0,6 eq) et le CuI (40 mg, 0,2 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés dans un ballon. Des cycles vide/azote sont effectués 3 fois. Du THF sec (10 mL) et de la triéthylamine distillée (2,5 mL) sont ajoutés. La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 minutes puis la réaction est chauffée et agitée à 40°C pendant 2 jours. Après ce temps, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/MeOH 99/1). On obtient un solide jaune (660 mg) pas pur (produit+homocouplage).

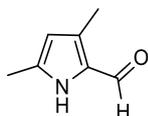
Le produit est purifié par HPLC avec une colonne Chiralpak IF et une phase mobile Heptane/ ethanol/ DCM (20/40/40). On obtient un solide jaune (6 mg, 0,024 mmol, 7%).

1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8,49 (s, 3H), 7,55 (d, $J = 7,9$ Hz, 3H), 7,50 (s, 3H), 7,48 – 7,42 (m, 6H), 6,92 (s, 3H), 4,79 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 4,42 (dd, $J = 13,6, 6,8$ Hz, 10H), 3,95 (s, 9H), 3,71 (d, $J = 14,3$ Hz, 3H), 1,41 (t, $J = 6,9$ Hz, 16H).

^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 163,16, 159,45, 156,66, 155,10, 148,03, 142,64, 135,18, 130,97, 130,13, 129,35, 128,17, 119,40, 118,16, 117,60, 112,59, 110,61, 92,03, 91,33, 62,21, 56,41, 36,89, 14,39, 1,16.

HRMS en attente

3,5-dimethyl-1H-pyrrole-2-carbaldehyde (142)

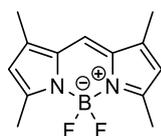


POCl_3 (1,18 mL, 12,6 mmol, 1,2 eq) est ajouté au goutte à goutte à du N,N-diméthylformamide (0,98 mL, 12,6 mmol, 1,2 eq) à 0°C . La solution est agitée pendant 15 minutes à t.a. La température est descendue à nouveau à 0°C puis une solution de composé **137** (1 g, 10,5 mmol) dans le dichloroéthane (10 mL) est ajoutée au goutte à goutte pendant 5 minutes. Après l'addition, la réaction est agitée à reflux pendant 30 minutes puis refroidie à t.a. Une solution aqueuse de NaOAc (4,74 g dans 20 mL d'eau) est ajoutée. La solution est de nouveau mise à reflux pendant 30 minutes. La solution est lavée avec de l'eau (10 mL), avec une solution aqueuse de Na_2CO_3 saturée (10 mL) et une solution aqueuse de NaCl saturée (10 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 et les solvants sont évaporés. Une huile est obtenue (900 mg, 8,82 mmol, 70%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9,48 (s, 1H), 5,86 (s, 1H), 2,32 (s, $J = 5,2$ Hz, 3H), 2,29 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁵

5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-4(14,5(14)-dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinine (149)



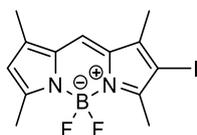
Le composé **142** (900 mg, 7,3 mmol) est dissous dans du DCM sec (37 mL) puis POCl_3 (0,8 mL, 8,76 mmol, 1,2 eq) est ajouté au goutte à goutte à 0°C . La solution est laissée revenir à t.a et agitée pendant 12h. La solution est ensuite refroidie à 0°C et de la triéthylamine (5,11 mL, 36,5 mmol, 5 eq) est ajoutée au goutte à goutte. Après avoir agité 15 min, BF_3OEt_2 (7,3 mL, 58,4 mmol, 8 eq) est ajouté au goutte à goutte à la solution. La solution est agitée à t.a pendant 8h. Ensuite la solution est filtrée sur gel de silice et élué par du DCM. Le solvant est évaporé puis le résidu est dissous dans du DCM (30 mL) et de l'eau (30 mL) est ajoutée. La solution est agitée à t.a pendant une nuit. La phase organique est lavée à l'eau (30 mL), avec une solution aqueuse de NaCl saturée (30 mL) et séchée sur Na_2SO_4 puis le solvant est évaporé. On obtient un solide rouge (765 mg, 6,2 mmol, 85%).

¹⁴⁵ L. Wu, K. Burgess, *Chem. Commun.*, **2008**, 4933–4935

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,04 (s, 1H), 6,04 (s, 2H), 2,53 (s, 6H), 2,25 (s, 6H).

Identique à la littérature¹⁴⁶

5,5-difluoro-2-iodo-1,3,7,9-tetramethyl-5H-4[4,5]dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinine (150)

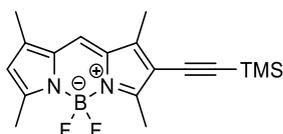


Le composé **149** (33 mg, 0,133 mmol) est dissous dans du DCM sec (5 mL) et refroidi à 0°C. Puis une solution de NIS (34 mg, 0,15 mmol, 1,12 eq) dans du DMF (1,6 mL) est ajouté doucement et agité à t.a pendant une nuit. Le solvant est ensuite évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 70/30). On obtient un solide rouge (35 mg, 0,093 mmol, 70%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,06 (s, 1H), 6,10 (s, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁶

5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-2-((trimethylsilyl)ethynyl)-5H-4[4,5]dipyrrolo[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinine (151)



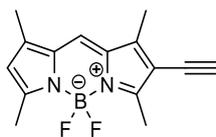
Le composé **150** (50 mg, 0,134 mmol), le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (5 mg, 6,7 μmol , 0,05 eq) et le CuI (3 mg, 13,4 μmol , 0,1 eq) sont ajoutés dans un ballon et 3 cycles vide/azote sont effectués. On ajoute ensuite le THF sec (3,2 mL), la triéthylamine (2,1 mL) et le triméthylsilyléthyne (70 μL , 0,53 mmol). La réaction est chauffée à 40°C pendant 2h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 94/6). On obtient un solide rouge (39 mg, 0,11 mmol, 85%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,07 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 0,25 (s, 9H).

Identique à la littérature¹⁴⁷

¹⁴⁶ C-W. Wan, A. Burghart, J. Chen, F. Bergstroem, L. Johansson, M. F. Wolford, T. G. Kim, M. R. Topp, R. M. Hochstrasser, K. Burgess, *Chemistry - A European Journal*, **2003**, 9, 4430-4441

2-ethynyl-5,5-difluoro-1,3,7,9-tetramethyl-5H-4[1,5]diazaborino[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]diazaborinine (152)

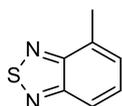


Le composé **151** (600 mg, 1,74 mmol) est dissous dans du THF sec (20 mL) sous azote et la solution est refroidie à -78°C . Le TBAF (1M dans le THF) (2,6 mL, 2,6 mmol, 1,5 eq) est ensuite ajouté au goutte à goutte sur plusieurs minutes. La solution est laissée revenir à t.a et agitée à cette température pendant 30 min. De l'eau (20 mL) est ajoutée à la solution et extrait avec de l'AcOEt (3x20 mL). La phase organique est lavée à l'eau (20 mL), séchée sur MgSO_4 et évaporée. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 94/6). On obtient un solide rouge (131 mg, 0,49 mmol, 28%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,07 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 3,32 (s, 1H), 2,60 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,26 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁷

4-Methylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole (157)

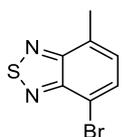


SOCl_2 (0,83 g, 6,9 mmol) est ajouté au goutte à goutte à une solution de composé **156** (0,5g, 4,1 mmol) dans la triéthylamine (2,38 mL, 17,6 mmol) et le dichlorométhane (16 mL) à 0°C . La solution est ensuite agitée au reflux pendant 4h. Le solvant est évaporé et le résidu est dissous dans du DCM (20 mL) et lavé avec du HCl (1M, 20 mL) pour enlever la triéthylamine. Un lavage à l'eau (3x20 mL) de la phase organique est ensuite fait. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée pour donner une huile marron (0,512g, 5,73 mmol, 83%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,82 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,47 (dd, $J = 8,8, 6,8$ Hz, 1H), 7,39 – 7,28 (m, 1H), 2,74 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁷

4-Bromo-7-methylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole (158)



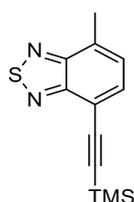
¹⁴⁷ S. Holliday, R. S. Ashraf, C. B. Nielsen, M. Kirkus, J. A. Röhr, C-H. Tan, E. Collado-Fregoso, A-C. Knall, J. R. Durrant, J. Nelson, I. McCulloch, *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 898–904

Le composé **157** (0,15g, 1 mmol) est dissous dans HBr aqueux (48%) (1 mL). La solution est refroidie à 0°C puis le Br₂ (0,05 mL, 1 mmol, 1eq) est ajouté très doucement. La solution est ensuite chauffée à 80°C pendant 30 min (formation d'un solide) puis on chauffe à 130°C pendant une nuit. La réaction est quenchée avec Na₂SO₃ aq (10 mL) et extrait avec du DCM (3x10 mL). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées. On obtient un solide jaune (0,206 g, 0,9 mmol, 90%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,73 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,70 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁴⁸

4-methyl-7-((trimethylsilyl)ethynyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole (159)



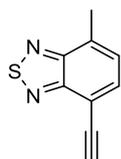
A une solution de composé **158** (2,145g, 8,7 mmol) dans la triéthylamine distillée (29 mL), sont ajoutés séquentiellement PdCl₂(PPh₃)₂ (0,039 g, 0,06 mmol, 0,06 eq), triphénylphosphine (0,251g, 0,96 mmol, 0,11 eq), iodure de cuivre (0,251 g, 1,32 mmol, 0,15 eq) et le triméthylsilyléthyne (1,95 mL, 12,2 mmol, 1,4 eq). La réaction est agitée sous azote à 90°C pendant 4h. Ensuite le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 98,5/1,5). On obtient un solide jaune (1,730 g, 7,05 mmol, 81%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,66 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 2,73 (s, 3H), 0,32 (s, 9H).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 155,03, 154,50, 133,90, 132,85, 127,90, 114,31, 100,54, 100,45, 18,16, 0,11.

HRMS (ESI, Full ms) : *m/z* pour C₁₄H₁₀O₄, adduit Na : calculé ; trouvé, (en attente)

4-ethynyl-7-methylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole (160)



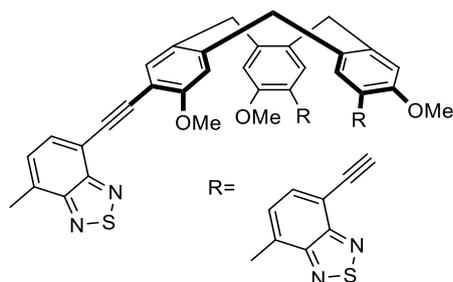
On dissout le composé **159** (0,617g, 2,5 mmol) dans du THFsec et du MeOH (1/1) (70 mL). On ajoute du TBAF (1M dans le THF) (3 mL, 3 mmol, 1,2 eq) au goutte à goutte. La solution est agitée pendant 1h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 60/40). On obtient un solide jaune (0,286g, 1,65 mmol, 66%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,67 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 3,52 (s, 1H), 2,73 (s, 3H).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 155,03, 154,76, 134,04, 133,42, 127,90, 113,23, 82,73, 79,54, 18,19.

HRMS (ESI, Full ms): m/z pour $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_4$, adduit Na: calculé ; trouvé, (en attente)

7,7',7''-(3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(ethyne-2,1-diyl)tris(4-methylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole) (161)



Le CTV triiodé **75** (50 mg, 0,068 mmol), le composé **160** (106 mg, 0,612 mmol, 9 eq), le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (29 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) et le CuI (8 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés dans un tube de schlenck. Des cycles vide/azote sont faits trois fois puis du toluène distillé (2 mL) et de la triéthylamine distillée (0,5 mL) sont ajoutés. La solution est dégazée à l'azote pendant 20 min. La solution est ensuite chauffée pendant 2 jours à 40°C . Après 2 jours, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM 100% puis DCM/AcOEt 99/1). Le produit est ensuite précipité avec un mélange CHCl_3 /éther diéthylique. On obtient un solide jaune (26 mg, 0,03 mmol, 44%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,71 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H), 7,63 (s, 3H), 7,33 (d, $J = 8,2$ Hz, 3H), 6,96 (s, 3H), 4,78 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 3,98 (s, 9H), 3,71 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 2,75 (s, 9H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 159,10, 155,16, 154,67, 141,95, 135,21, 132,81, 132,11, 130,87, 128,11, 114,88, 112,57, 111,09, 91,45, 89,03, 56,39, 56,17, 36,70, 18,10.

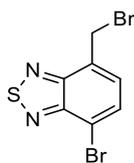
Tdécomposition: 318°C

FTIR ν (cm^{-1}): 2917,15, 2207,92, 1603,17, 1248,55

HRMS (ESI, Full ms): m/z pour $\text{C}_{51}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}_3$, adduit H^+ : calculé 877,20838; trouvé 877,20956

$\lambda_{\text{abs max}}(\text{CHCl}_3/\text{MeOH } 98/2) = 95$ nm, $\lambda_{\text{em max}} = 525$ nm $\epsilon = 4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, $\phi = 32\%$ (pérylène comme référence)

4-Bromo-7-bromomethylbenzo-2,1,3-thiadiazole (162)

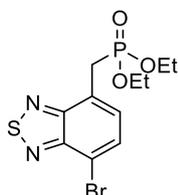


Le composé **158** (3,83g, 12,35 mmol) est dissous dans le DCM (74 mL). On ajoute ensuite le peroxyde de benzoyle (15 mg, 0,06 mmol, 0,005eq) et le NBS (1,76g, 9,83 mmol, 0,8 eq). La solution est chauffée à reflux puis on ajoute une solution de HBr (33% dans AcOH) (0,15 mL). On laisse agiter à reflux pendant 1h. Ensuite le solvant est évaporé puis le résidu est dissous dans du DCM (50 mL), la phase organique est lavée à l'eau (3x50 mL). Elle est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Le composé est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : 98/2 cyclohexane/AcOEt). On obtient un solide jaune (0,113 g, 8,4 mmol, 68%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,82 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,94 (s, 2H).

Identique à la littérature¹⁴⁸

((7-bromobenzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)methyl)phosphonate diéthylique (163)



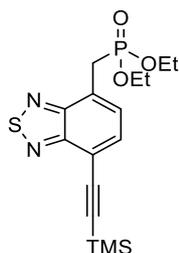
Le composé **162** (1 g, 2,74 mmol) est dissous dans du triéthylphosphite (9 mL) et la solution est chauffée au reflux pendant une heure. La triéthylphosphite est ensuite évaporée en partie à l'évaporateur rotatif. On évapore le triéthylphosphite restant par distillation. On obtient une huile marron (0,9 g, 2,47 mmol, 90%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,80 (d, *J* = 7,5, 1H), 7,49 (dd, *J* = 7,5, 4,0 Hz, 1H), 4,16 – 3,97 (q, 4H), 3,69 (d, *J* = 22,3 Hz, 2H), 1,19 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H).

Identique à la littérature¹⁴⁹

¹⁴⁸ M. Jørgensen, F. C. Krebs, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 6004-6017

((7-((trimethylsilyl)ethynyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)methyl)phosphonate diéthylique (164)



A une solution de composé **163** (0,465 g, 1,26 mmol) dans la triéthylamine distillée (3,8 mL), sont ajoutés séquentiellement PdCl₂(PPh₃)₂ (5 mg, 0,07 mmol, 0,06 eq), le triphénylphosphine (33 mg, 0,13 mmol, 0,11 eq), le CuI (33 mg, 0,17 mmol, 0,15 eq) et le triméthylsilyléthyne (0,3 mL, 1,76 mmol, 1,4 eq). La réaction est agitée sous azote à 90°C pendant 4h. Ensuite le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 60/40 jusqu'à cyclohexane/AcOEt 40/60). On obtient une huile jaune (355 mg, 0,98 mmol, 78%).

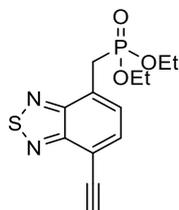
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,73 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,57 (dd, *J* = 7,2, 4,0 Hz, 1H), 4,15 – 3,94 (q, 4H), 3,74 (d, *J* = 22,6 Hz, 2H), 1,17 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H), 0,32 (s, 9H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 154,53, 133,74, 129,42, 126,56, 115,60, 101,61, 100,18, 62,41, 29,96, 29,04, 16,39, 0,06.

³¹P NMR (243 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 24,51.

HRMS (ESI, TOF) : m/z pour C₁₆H₂₃N₂O₃SiPS, adduit Na : calculé, 405,0828 ; trouvé, 405,0829.

((7-ethynylbenzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)methyl)phosphonate diéthylique (165)



Le composé **164** (1 g, 2,6 mmol) est dissous dans un mélange (1/1) de THF sec et de MeOH distillé (78 mL). On ajoute du TBAF (1M dans le THF) (3,4 mL, 3,4 mmol, 1,3 eq) goutte à goutte. La solution est agitée pendant 2h à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 30/70). On obtient un solide jaune pâle (750 mg, 2,42 mmol, 93%).

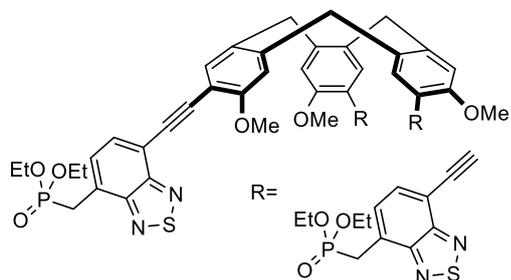
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,77 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,60 (dd, *J* = 7,2, 4,0 Hz, 1H), 4,18 – 3,96 (q, 4H), 3,76 (d, *J* = 22,9 Hz, 2H), 3,57 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H), 1,20 (t, *J* = 6,9 Hz, 6H).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 154,72, 154,41, 133,90, 129,39, 129,34, 127,21, 127,14, 114,52, 83,55, 79,24, 62,41, 29,95, 29,03, 16,38.

^{31}P NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 24,39.

HRMS (ESI, TOF) : m/z pour $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3\text{SiPS}$, adduit Na : calculé, 333,0433; trouvé, 333,0445.

diethyl ((7-((7,12-bis((7-((diethoxyphosphoryl)methyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)ethynyl)-3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulèn-2-yl)ethynyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)methyl)phosphonate (166)



Le CTV triodé **75** (50 mg, 0,068 mmol), le composé **165** (190 mg, 0,612 mmol, 9 eq), le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (29 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) et le CuI (8 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés dans un tube de schlenck. Des cycles vide/azote sont faits trois fois puis du toluène distillé (2 mL) et de la triéthylamine distillée (0,5 mL) sont ajoutés. La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 min. La solution est ensuite chauffée pendant 2 jours à 40°C . Après 2 jours, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM 100% puis 99/1 DCM/AcOEt). Le produit est ensuite précipité dans un mélange chloroforme/éther diéthylique. On obtient un solide rouge (21 mg, 0,02 mmol, 30%)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,78 (d, $J = 7,3$ Hz, 3H), 7,63 (s, 3H), 7,60 (dd, $J = 7,3$, 4,1 Hz, 3H), 6,97 (s, 3H), 4,81 (d, $J = 13,7$ Hz, 3H), 4,10 – 4,00 (m, 12H), 3,98 (s, 9H), 3,74 (dd, $J = 18,0$, 8,9 Hz, 9H), 1,19 (t, $J = 7,1$ Hz, 18H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 159,32, 154,73, 142,27, 135,36, 132,75, 130,99, 129,71, 125,88, 116,26, 112,70, 111,07, 92,47, 88,98, 62,43, 56,53, 36,84, 29,99, 29,07, 16,44.

^{31}P NMR (243 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 24,64.

Tdécomposition : 302°C

FTIR ν (cm^{-1}): 2983,64, 2926,65, 2907,65, 2853,83, 2207,92, 1603,17

HRMS (ESI, Full ms) : m/z pour $\text{C}_{63}\text{H}_{63}\text{N}_6\text{O}_{12}\text{P}_3\text{S}_3$, adduit H^+ : calculé, 1285,29; trouvé, 1285,29953

$\lambda_{\text{abs max}}(\text{CHCl}_3/\text{MeOH } 98/2) = 395 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em max}} = 525 \text{ nm}$ $\epsilon = 4,7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, $\phi = 41\%$ (pérylène comme référence)

4-bromo-7-(dibromomethyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole (168)

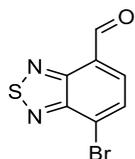


Le composé **158** (3 g, 13,09 mmol), le NBS (6,98 g, 39,26 mmol, 3 eq) et le peroxyde de benzoyle (633 mg, 2,62 mmol, 0,2 eq) sont dissous dans du chlorobenzène (27 mL). La réaction est chauffée et agitée à 80°C pendant une nuit. Après avoir refroidie la solution à température ambiante, le précipité de succinimide est enlevé par filtration et de l'eau (30 mL) est ajoutée au filtrat qui est ensuite extrait avec du DCM (3x30 mL) et séché sur MgSO₄. Le produit est purifié par colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/ DCM 90/10) suivi par une recristallisation à l'éthanol pour donner un solide blanc (4,566 g, 11,78 mmol, 90%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,94 (m, 2H), 7,41 (s, 1H).

Identique à la littérature¹⁴⁸

7-bromobenzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carbaldehyde (169)

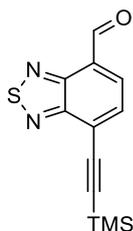


Le composé **168** (700 mg, 1,81 mmol) est dissous dans de l'acide formique 95% (7 mL). La solution est chauffée à 110°C pendant 2h. Ensuite la solution est refroidie à température ambiante et versée dans un b cher d'eau distill e (50 mL). Le précipité est filtré et lavé avec de l'eau jusqu'à neutralité des eaux de lavage, puis séché. Un solide blanc (367 mg, 1,5 mmol, 83%) est obtenu.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 10,74 (s, 1H), 8,07 (m, 2H).

Identique à la litt rature¹⁴⁸

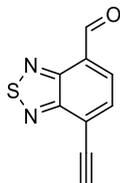
7-((triméthylsilyl)éthynyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carbaldéhyde (170)



Le composé **169** (358 mg, 1,47 mmol), le CuI (39 mg, 0,2 mmol, 0,15 eq), le PdCl₂(PPh₃)₂ (6 mg, 0,08 mmol, 0,06 eq) et le PPh₃ (39 mg, 0,15 mmol, 0,11 eq) sont ajoutés dans un ballon. Trois cycles vide/azote sont effectués. Puis de la triéthylamine (4,5 mL) et le triméthylsilyléthyne (0,35 mL, 2,5 mmol, 1,4 eq) sont ajoutés. La solution est chauffée à 90°C pendant 4h. Après ce temps, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 9/1). Un solide jaune pâle est obtenu (332 mg, 1,28 mmol, 87%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 10,75 (s, 1H), 8,17 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,90 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 0,35 (s, 9H).

7-éthynylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carbaldéhyde (171)

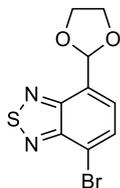


Le composé **170** (430 mg, 1,65 mmol) est dissous dans du MeOH distillé (13 mL) sous azote. Puis du K₂CO₃ (26 mg, 0,19 mmol, 0,12 eq) est ajouté. La réaction est agitée à t.a pendant une nuit. De l'eau (10 mL) est ensuite ajoutée et la solution est extraite avec de l'éther diéthylique (3x10 mL). La solution est séchée sur MgSO₄ et le solvant est évaporé. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 90/10). Un solide beige est obtenu (205 mg, 1,09 mmol, 66%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 10,78 (s, 1H), 8,20 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 3,82 (s, 1H).

Identique à la littérature¹⁴⁹

4-bromo-7-(1,3-dioxolan-2-yl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole (174)



¹⁴⁹ S. De Sousa, S. Lyu, L. Ducasse, T. Toupance, C. Olivier, *J. Mater. Chem. A*, **2015**, 3, 18256

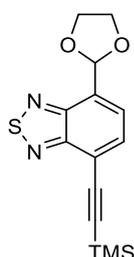
A une solution de composé **169** (500 mg, 2,1 mmol, 1 eq) dans le toluène (12 mL) est ajouté de l'APTS (5 mg, 0,028 mmol, 0,013 eq) et de l'éthylène glycol (0,23 mL, 4,2 mmol, 2 eq). La solution est agitée et chauffée à 110°C pendant une nuit avec un Dean-Stark. Ensuite, la solution est refroidie à température ambiante et de l'eau (15 mL) est ajoutée. La solution est extraite avec de l'AcOEt (3x15 mL). Les phases organiques sont lavées avec une solution aqueuse de NaCl saturée (15 mL), puis séchée sur MgSO₄, filtrée et le solvant est évaporé. On obtient un solide jaune (556 mg, 1,93 mmol, 92%).

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 300 MHz): δ (ppm) 7,87 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,49 (s, 1H), 4,27 – 4,12 (m, 4H)

¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 300 MHz): δ (ppm) 153,78, 152,75, 131,75, 130,38, 127,03, 115,28, 100,58, 70,24

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour C₉H₇N₂O₂BrS calculé, 285,94; trouvé, 285,93538

4-(1,3-dioxolan-2-yl)-7-((trimethylsilyl)ethynyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole (175)



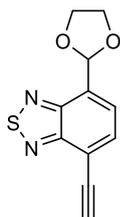
Le composé **174** (1 g, 3,48 mmol, 1 eq), PdCl₂(PPh₃)₂ (14 mg, 0,02 mmol, 0,06 eq), PPh₃ (91 mg, 0,35 mmol, 0,1eq), CuI (91 mg, 0,48 mmol, 0,14 eq) sont introduits dans le ballon et 3 cycles vide/azote sont effectués. De la triéthylamine (10,5 mL) est ajoutée puis du triméthylsilyléthyne (0,8 mL, 4,69 mmol, 1,35 eq). La solution est agitée et chauffée à 90°C pendant 4h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 90/10). On obtient un solide orange (888 mg, 2,92 mmol, 84%).

¹H NMR (CDCl₃, 298 K, 300 MHz): δ (ppm) 7,79 – 7,72 (m, 2H), 6,51 (s, 1H), 4,26 – 4,14 (m, 4H), 0,33 (s, 9H)

¹³C NMR (CDCl₃, 298 K, 300 MHz): δ (ppm) 155,01, 152,76, 133,30, 131,26, 126,07, 117,73, 102,39, 100,69, 100,09, 65,85, 0,07

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour C₁₄H₁₇N₂O₂SSi (adduit H⁺) calc. 305,07; trouvé, 305,07745

4-(1,3-dioxolan-2-yl)-7-ethynylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole (176)



Le composé **175** (2,3 g, 7,6 mmol, 1eq) est dissous dans un mélange THF/MeOH sec (1/1) (220 mL) sous azote. Du TBAF (1M dans le THF) (8,9 mL, 8,9 mmol, 1,2 eq) est ensuite ajouté doucement et la réaction est agitée à t.a pendant 1h. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant: cyclohexane/AcOEt 90/10). On obtient un solide jaune (1,51g, 6,46 mmol, 85%).

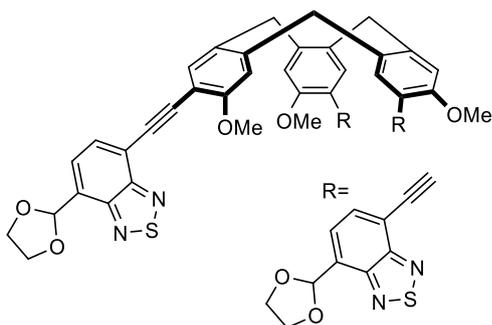
^1H NMR (CDCl_3 , 298 K, 300 MHz): δ (ppm) 7,83 – 7,75 (m, 2H), 6,53 (s, 1H), 4,26 – 4,14 (m, 4H), 3,61 (s, 1H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 298 K, 300 MHz): δ (ppm) 155,15, 152,62, 133,45, 131,81, 125,95, 116,53, 100,55, 84,14, 79,15, 66,82

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (adduit H^+) calculé, 233,03; trouvé, 233,03781

FTIR ν (cm^{-1}) : 3233,77, 2888,65, 2853,83

7,7',7''-((3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulene-2,7,12-triyl)tris(ethyne-2,1-diyl))tris(4-(1,3-dioxolan-2-yl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole) (177)



Le CTV triodé **75** (150 mg, 0,204 mmol), le composé **176** (430 mg, 1,836 mmol, 9 eq), le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (87 mg, 0,123 mmol, 0,6 eq) et le CuI (24 mg, 0,123 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés dans un tube de schlenck. Des cycles vide/azote sont faits trois fois puis du toluène distillé (6 mL) et de la triéthylamine distillée (1,5 mL) sont ajoutés. La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 min. La solution est ensuite chauffée pendant 2 jours à 40°C. Après 2 jours, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/AcOEt 98/2 puis DCM/AcOEt 80/20). Le produit est ensuite précipité dans un mélange CHCl_3 /éther diéthylique. On obtient un solide orange (135 mg, 0,13 mmol, 63%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,84 – 7,73 (m, 6H), 7,64 (s, 3H), 6,97 (s, 3H), 6,53 (s, 3H), 4,80 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 4,27 – 4,13 (m, 12H), 3,98 (s, 9H), 3,73 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 159,34, 155,16, 152,88, 142,42, 135,45, 132,21, 131,57, 130,98, 130,60, 126,31, 118,35, 112,68, 110,91, 100,78, 93,13, 88,95, 65,85, 63,84, 56,51, 36,82.

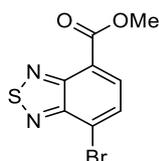
Tdécomposition: 306°C

FTIR ν (cm^{-1}) : 2948,81, 2872,82, 2198,42, 1606,33, 1109,23

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour $\text{C}_{57}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}_3$ (adduit H^+) calc. 1051,22; trouvé, 1051,22482

$\lambda_{\text{abs max}}$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98/2)= 393 nm, $\lambda_{\text{em max}}$ = 508 nm

7-bromobenzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carboxylate de méthyle (187)

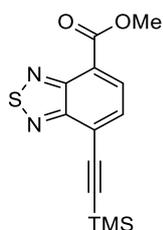


Le composé **169** (1 g, 4,11 mmol, 1 eq) est dissous dans le DCM (30 mL) et le méthanol (34 mL) puis KCN (1,28g, 19,7 mmol) et AcOH (0,7 mL, 19,7 mmol, 4,8 eq) sont ajoutés. Et enfin le MnO_2 (7,15 g, 82,2 mmol, 20 eq) est ajouté. La solution est agitée à 40°C pendant une nuit. La solution est filtrée sur célite et lavée à l'AcOEt puis concentrée sous vide. Le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 80/20). On obtient un solide jaune pâle (857 mg, 3,12 mmol, 76%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,26 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 4,07 (s, 3H).

Identique à la littérature¹⁵⁰

7-((trimethylsilyl)ethynyl)benzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carboxylate de méthyle (188)



Le composé **187** (857 mg, 3,14 mmol), le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (13 mg, 0,019 mmol, 0,05 eq), la triphénylphosphine (83 mg, 0,32 mmol, 0,1 eq), le CuI (83 mg, 0,44 mmol, 0,14 eq) sont ajoutés dans un ballon puis 3 cycles vide/azote sont effectués. La triéthylamine distillée (10mL) est

¹⁵⁰ I. Cummins, D. J. Wortley, F. Sabbadin, Z. He, C. R. Coxon, H. E. Straker, J.D. Sellars, K. Knight, L. Edwards, D. Hughes, S. S. Kaundun, S. J. Hutchings, P. G. Steel, R. Edwards, *PNAS*, **2013**, *110*, 5812-5817

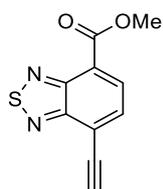
ajoutée puis le triméthylsilyléthyne (0,75 mL, 5,27, 1,7 eq). La solution est chauffée à 90°C pendant 4h. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/AcOEt 90/10). On obtient un solide jaune pâle (860 mg, 2,95 mmol, 94%).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,31 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,81 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 4,05 (s, 4H), 0,34 (s, 9H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 164,85, 155,41, 151,87, 133,24, 132,36, 123,09, 121,87, 105,65, 99,78, 52,90, -0,07.

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{SSi}$ calculé, 291,06180; trouvé, 291,06195

7-ethynylbenzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carboxylate de méthyle (189)



Le CsF (456 mg, 3 mmol, 1,155 eq) est dissous dans le méthanol (3,5 mL) par sonication. La solution résultante est dégazée avec de l'azote pendant 10 minutes. Dans un ballon séparé, le composé **188** (760 mg, 2,62 mmol, 1 eq) est dissous dans du THF et la solution est dégazée avec de l'azote pendant 10 minutes. La solution de CsF est ajoutée doucement à la solution de composé **188** et la réaction est agitée à t.a pendant 3h. Ensuite, le solvant est évaporé et le résidu est dissous dans l'eau et extrait à l'AcOEt, séché sur MgSO_4 et évaporé. On obtient un solide marron (555 mg, 2,54 mmol, 97%).

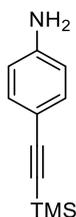
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 8,35 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 4,08 (s, 3H), 3,76 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 164,63, 155,51, 151,70, 133,08, 132,62, 123,69, 120,70, 86,59, 78,91, 52,95.

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (adduit H^+) calculé, 219,23; trouvé, 219,02213

FTIR ν (cm^{-1}) : 3208,44, 1704,49

4-((triméthylsilyl)éthynyl)aniline (198)

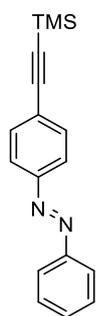


Dans un ballon sont ajoutés le composé **197** (1,095 g, 5 mmol), le CuI (19 mg, 0,1 mmol, 0,02 eq) et le Pd(PPh₃)₂Cl₂ (140 mg, 0,2 mmol, 0,04 eq). Des cycles vide/azote sont effectués 3 fois. On ajoute ensuite la triéthylamine distillée (8 mL). La réaction est agitée pendant 5 minutes puis le triméthylsilyléthyne (0,92 mL, 6,5 mmol, 1,3 eq) est ajouté. La solution est agitée pendant une nuit à température ambiante. Du DCM (10 mL) est ajouté puis la phase organique est lavée à l'eau (10 mL) et avec une solution aqueuse de NH₄Cl saturée (10 mL) et séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé et le produit est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 80/20). On obtient un solide jaune (884 mg, 4,65 mmol, 93%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,27 (m, 1H), 6,57 (m, 1H), 3,79 (s, 1H), 0,22 (s, 9H).

Identique à la littérature¹⁵¹

1-phenyl-2-(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)diazene (199)

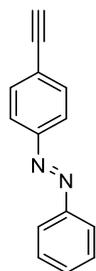


Le composé **198** (884 mg, 4,67 mmol, 1 eq) est dissous dans l'acide acétique (65 mL) et le nitrosobenzène (500 mg, 4,67 mmol, 1 eq) est ajouté à la solution. La solution est agitée pendant 56 h à température ambiante puis le solvant est évaporé. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 90/10). On obtient un solide orange (740 mg, 2,66 mmol, 57%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,89 (m, 4H), 7,61 (m, 2H), 7,51 (m, 3H), 0,28 (s, 9H).

Identique à la littérature¹⁵²

1-(4-ethynylphenyl)-2-phenyldiazene (200)



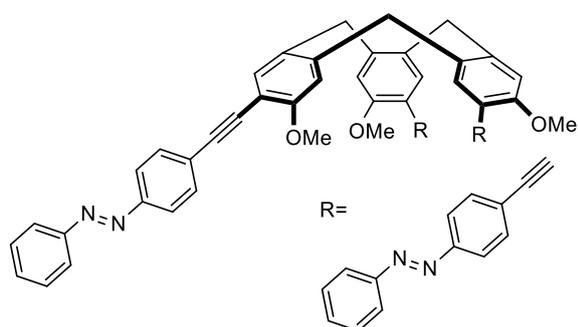
¹⁵¹ N. Möller, A. Rügling, S. Lamping, T. Hellwig, C. Fallnich, B. J. Ravoo, F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 4356–4360

Le composé **199** (740 mg, 2,66 mmol) est dissous sous azote dans du THFsec (31 mL) puis le TBAF (1M in THF) (4,93 mL, 4,93 mmol, 1,85 eq) est ajouté doucement. La solution est agitée pendant 30 minutes à température ambiante. De l'eau est ajoutée (30 mL) et la phase aqueuse est extraite au DCM (3x30 mL). Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur MgSO₄. Le solvant est évaporé et le produit est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : cyclohexane/DCM 90/10). On obtient un solide orange (390 mg, 1,89 mmol, 71%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8,00 – 7,81 (m, 4H), 7,71 – 7,59 (m, 2H), 7,61 – 7,40 (m, 3H), 3,23 (s, 1H).

Identique à la littérature¹⁵²

(1E, 1'E, 1''E)-2,2',2''-(((3,8,13-trimethoxy-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(ethyne-2,1-diyl))tris(benzène-4,1-diyl))tris(1-phenyldiazène) (201)



Le CTV triiodé **75** (50 mg, 0,068 mmol) et le composé **200** (126 mg, 0,612 mmol, 9 eq) sont ajoutés dans un tube de schlenck. On ajoute ensuite le Pd(PPh₃)₂ (29 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq) et le CuI (8 mg, 0,041 mmol, 0,6 eq). On effectue ensuite 3 cycles vide/azote puis on ajoute le toluène distillé (2 mL) et la triéthylamine distillée (0,5 mL). La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 minutes puis la solution est chauffée et agitée à 40°C pendant 2 jours. On évapore le solvant à sec et on purifie le produit sur colonne de gel de silice (éluant : de DCM/cyclohexane 50/50 à DCM 100%). Le produit est ensuite purifié par HPLC (éluant : Hexane / ethanol / DCM (60/20/20)). On obtient un solide orange (37 mg, 0,037 mmol, 54%).

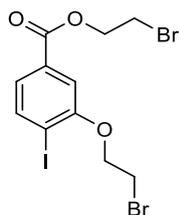
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7,92 (m, 12H), 7,69 (d, *J* = 8,4 Hz, 6H), 7,55 – 7,45 (m, 12H), 6,85 (s, 3H), 4,57 (d, *J* = 13,6 Hz, 3H), 3,91 (s, 9H), 3,56 (d, *J* = 13,6 Hz, 3H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 159,06, 152,79, 151,78, 141,92, 135,02, 132,56, 131,31, 130,95, 129,24, 126,55, 123,07, 112,41, 111,20, 93,08, 88,64, 56,29, 36,67.

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour C₆₆H₄₈N₆O₃ (adduit Na) calculé, 995,36801; trouvé, 995,36809

FTIR ν (cm⁻¹) : 3056,46, 3037,47, 2923,48, 2201,56, 1587,34

3-(2-bromoethoxy)-4-iodobenzoate de 2-bromoéthyle (202)



Le protocole opératoire utilisé pour la synthèse du composé **85** est utilisé pour cette synthèse.

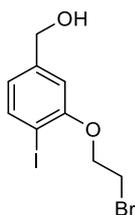
La réaction est effectuée avec le composé **84** (5 g, 18,94 mmol) pour obtenir une huile jaune le composé **202** (5,92 g, 68%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,89 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,50 – 7,37 (m, 2H), 4,62 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H), 4,40 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 3,71 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 3,64 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 165,51, 157,05, 140,01, 131,18, 124,25, 112,76, 94,03, 69,31, 64,61, 28,79, 28,54.

HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ Calculé pour $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{Br}_2\text{IO}_3$ 495,8438 ; trouvé 495,8438

(3-(2-bromoethoxy)-4-iodophenyl) de méthanol (203)



Les mêmes conditions opératoires que celles développées dans le cadre de la synthèse du composé **86** sont utilisées.

La réaction est effectuée avec le composé **202** (4 g, 15,15 mmol) pour obtenir un solide blanc le composé **203** (3,67 g, 68%).

Tf: 60°C

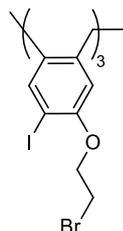
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,73 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,63 (d, $J = 3,5$ Hz, 2H), 4,33 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,68 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 1,91 (s, 1H)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 156,96, 142,94, 139,55, 121,51, 111,10, 85,33, 69,14, 64,51, 28,56

FTIR ν (cm^{-1}) = 3319,26, 3056,46, 3027,97, 2917,15, 2866,49, 1410,03, 1251,72, 567,81

HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ pour $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2\text{BrI}$ calculé 373,9247; trouvé 373,9247;

2,7,12-tris(2-bromoethoxy)-3,8,13-triiodo-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène (204)



La même marche à suivre que pour le composé **75** est utilisé.

La réaction est effectuée avec le composé **203** (1,5g, 4,2 mmol) pour obtenir un solide blanc le composé **204** (530 mg, 37%).

Tdécomposition: 280°C

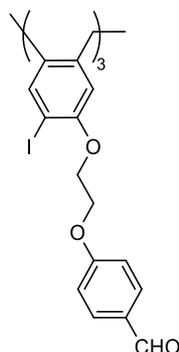
¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm) 7,99 (s, 3H), 7,19 (s, 3H), 4,67 (d, $J = 13,4$ Hz, 3H), 4,43-4,36 (m, 3H), 4,36-4,31 (m, 3H), 3,82-3,73 (m, 6H), 3,61 (d, $J = 13,4$ Hz, 3H)

¹³C NMR (150 MHz, DMSO) δ (ppm) 155,13, 141,50, 140,17, 134,28, 114,31, 84,58, 69,06, 34,24, 30,91

FTIR ν (cm^{-1}) = 2961,48, 2910,82, 1584,17, 1482,85, 1368,87, 1251,72, 577,31 cm^{-1}

HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ pour $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{NBr}_3\text{I}_3\text{O}_3$ calculé 1035,6711; trouvé 1035,6700.

4,4',4''-(((3,8,13-triiodo-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(oxy))tris(ethane-2,1-diyl))tris(oxy))tribenzaldéhyde (205)



Le composé **204** (530 mg, 0,52 mmol), le Cs_2CO_3 (746 mg, 2,288 mmol, 4,4 eq) et le p-hydroxybenzaldéhyde (210 mg, 1,716 mmol, 3,3 eq) sont dissous dans le DMF (9 mL) et agités à 40°C pendant une nuit. Le solvant est évaporé et le solide obtenu est lavé

successivement par de l'AcOEt (10 mL), par de la soude à 10% (10 mL), par de l'eau (10 mL) et séché sous vide. Un solide blanc est obtenu (520 mg, 0,45 mmol, 86%).

Tdécomposition: 160°C

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ (ppm) 9,86 (s, 3H), 8,01 (s, 3H), 7,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 6H), 7,25 (s, 3H), 7,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 6H), 4,70 (d, $J = 13,3$ Hz, 3H), 4,50-4,40 (m, 9H), 4,39-4,32 (m, 3H), 3,63 (d, $J = 13,3$ Hz, 3H)

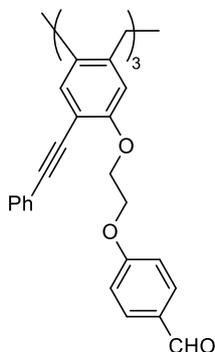
^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ (ppm) 191,31, 163,28, 155,56, 141,54, 140,13, 134,17, 131,83, 129,80, 115,13, 114,32, 84,66, 67,72, 66,66, 34,37

FTIR

ν (cm^{-1}) = 3065,96, 2917,15, 2837,99, 1675,99, 1600,00, 1571,50, 1378,36, 1296,04 cm^{-1}

HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ pour $\text{C}_{48}\text{H}_{43}\text{I}_3\text{NO}_9$ calculé 1158,0067; trouvé 1158,0067

4,4',4''-(((3,8,13-tris(ergoéthynyl)-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(oxy))tris(ethane-2,1-diyl))tris(oxy))tribenzaldehyde (206)



Dans un ballon sont dissous le composé **205** (200 mg, 0,176 mmol) et le phényléthyne (81 mg, 0,789 mmol, 9 eq) avec le toluène distillé (5,2 mL) et la triéthylamine distillée (1,2 mL). La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 minutes. Le CuI (10 mg, 0,05 mmol, 0,6 eq) et le $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (35 mg, 0,05 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés rapidement. La réaction est agitée à 40°C pendant 2 jours. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM 100% puis DCM/AcOEt 50/50). Le solvant est évaporé et on fait précipiter le résidu dans un mélange CHCl_3 /éther diéthylique. On obtient un solide blanc (120 mg, 0,11 mmol, 64%).

Tdécomposition: 170°C

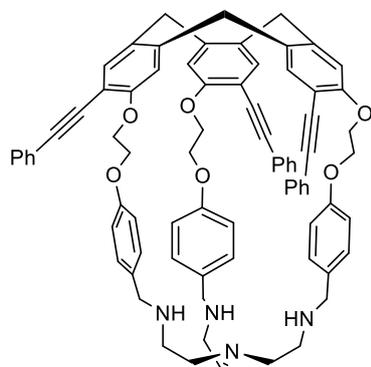
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9,76 (s, 3H), 7,66 (d, $J = 8,6$ Hz, 6H), 7,43 (s, 3H), 7,42-7,37 (m, 6H), 7,30-7,25 (m, 3H), 7,24-7,19 (m, 6H), 6,94 (d, $J = 8,6$ Hz, 6H), 6,87 (s, 3H), 4,67 (d, $J = 13,8$ Hz, 3H), 4,50-4,36 (m, 12H), 3,62 (d, $J = 13,8$ Hz, 3H);

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 190,67, 163,62, 157,94, 141,33, 134,50, 131,90, 131,70, 131,44, 130,11, 128,35, 128,28, 123,37, 114,93, 114,58, 112,25, 93,61, 85,62, 67,67, 66,95, 36,35;

FTIR ν (cm^{-1}) = 3062,80, 3027,97, 2920,32, 2825,33, 2730,34, 1682,32, 1596,83, 1498,68, 1299,21, 1245,38.

HRMS (ESI) m/z : $[M+Na]^+$ pour $C_{72}H_{54}O_9Na$ calculé 1085,36600; trouvé 1085,36366.

Triphénylacétylène hémicryptophane (207)



Une solution de tris(2-aminoéthyl)amine (0,126 mmol, 19,2 μL , 1,1 eq) dans un mélange DMF/MeOH sec (9/1) (40 mL) est ajoutée au goutte à goutte à la solution de composé **206** (120 mg, 0,114 mmol) dans le même mélange de solvant (100 mL) sous azote. La solution est chauffée 3 jours à 45°C. La température est descendue à 0°C et NaBH_4 (111 mg, 2,9 mmol, 23 eq) est ajouté à la solution qui est ensuite remise à température ambiante pendant 4h. Le solvant est évaporé. Le résidu est repris dans un mélange de chloroforme et de la soude aqueuse (10 % massique). La phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite avec du CHCl_3 (2 fois). Les phases organiques sont recombinaées et lavées avec de la soude aqueuse (10% massique), séchées sur MgSO_4 et le solvant est évaporé. Le solide est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$ 90/10/2). Le solvant est évaporé et le résidu est lavé à l'éther. On obtient un solide blanc (40 mg, 0,023 mmol, 20%).

Tdécomposition : 120°C

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7,48 (s, 3H), 7,38 (m, 6H), 7,32-7,26 (m, 9H), 7,06 (s, 3H), 6,79 (d, $J = 8,6$ Hz, 6H), 6,63 (d, $J = 8,6$ Hz, 6H), 4,76 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 4,59-4,54 (m, 3H), 4,47-4,42 (m, 3H), 4,34-4,20 (m, 6H), 3,68 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 3,40-3,25 (m, 6H), 2,41-2,23 (m, 12H), 2,13 (br. s, 3H);

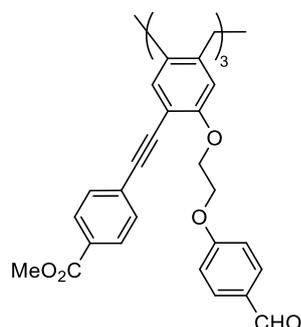
^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 158,04, 157,52, 141,12, 134,58, 131,91, 131,55, 129,27, 128,20, 128,05, 123,58, 116,12, 114,92, 112,81, 93,20, 85,79, 68,50, 67,19, 52,68, 46,46, 36,48;

FTIR ν (cm^{-1})
= 3353,44, 3054,13, 3030,17, 2920,23, 2868,29, 2842,63, 2814,63, 2166,69, 1606,02, 1505,69, 1405,67, 1301,55, 1249,50.

HRMS (ESI) m/z : $[M+H]^+$ pour $C_{78}H_{72}N_4O_6$ calculé 1161,55; trouvé 1161,55264

$\lambda_{\text{abs max}}(\text{CHCl}_3/\text{MeOH } 98/2) = 318$ nm, $\lambda_{\text{em max}} = 354$ nm $\epsilon = 5,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, $\phi = 19\%$ (9,10-diphénylanthracene comme référence)

4,4',4''-(((3,8,13-tris(phenylethynyl)-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(oxy))tris(ethane-2,1-diyl))tris(oxy))tribenzaldehyde (208)



La même marche à suivre que pour le composé **206** est utilisée.

La réaction est effectuée avec le composé **205** (300 mg, 0,26 mmol) pour obtenir le composé **208** (200 mg, 0,16 mmol, 62%).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9,81 (s, 3H), 7,91 (d, $J = 8,3$ Hz, 6H), 7,74 (d, $J = 8,7$ Hz, 6H), 7,49 (s, 3H), 7,44 (d, $J = 8,3$ Hz, 6H), 7,02 (s, 3H), 7,00 (d, $J = 8,7$ Hz, 6H), 4,78 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H), 4,50 (m, 6H), 4,46 (m, 6H), 3,92 (s, 9H), 3,69 (d, $J = 13,6$ Hz, 3H).

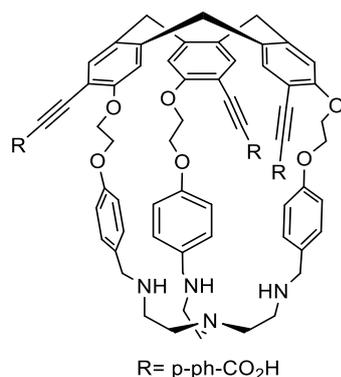
$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 190,80 , 166,60 , 163,70 , 158,39 , 141,91 , 134,90 , 132,13 , 132,01 , 131,48 , 130,42 , 129,60 , 128,18 , 115,27 , 115,07 , 112,29 , 93,08 , 88,56 , 68,08 , 67,11 , 52,44 , 36,83.

HRMS (ESI-TOF) m/z : $[\text{M} + \text{H}]^+$ pour $\text{C}_{78}\text{H}_{62}\text{O}_{15}$ calculé 1238,41; trouvé 1238,40618

Tdécomposition: 209°C

FTIR (neat) ν (cm^{-1}) : 2948,81, 2917,15, 2875,99, 2828,50, 2800,00, 2730,34, 2207,92, 1710,82, 1682,32

Hémicryptophane triphénylacétylène acide (211)



Une solution de tren (15 μL , 98 μmol , 1,1 eq) dans un mélange sec DMF/MeOH (9/1) (32 mL) est ajoutée au goutte à goutte à la solution le composé **208** (105 mg, 85 μmol) dans le même

mélange de solvant (81 mL) sous azote. La solution est chauffée 3 jours à 45°C. La température est descendue à 0°C et NaBH₄ (76 mg, 2 mmol, 23 eq) est ajouté à la solution qui est ensuite remise à température ambiante pendant 4h. Le solvant est évaporé. Le résidu est dissous dans le chloroforme et un lavage avec de la soude aqueuse (10% massique) est effectué. La phase organique est séparée et la phase aqueuse est extraite avec du CHCl₃ (2 fois). Les phases organiques sont recombinaées et lavées avec de la soude aqueuse (10% massique), séchées sur MgSO₄ et le solvant est évaporé.

Le résidu est ensuite dissous dans le THF (3 mL) et une solution aqueuse de NaOH (5M) (3mL) est ajoutée. La solution est agitée et chauffée à 50°C. Après 24h, le THF est évaporé et une solution aqueuse de HCl (1M, 1 mL) est ajoutée jusqu'à obtenir un pH=1. Le précipité est filtré et récupéré. Puis il est lavé au méthanol et le surnageant est récupéré. Le solvant est évaporé et on obtient un solide (70 mg, 54 μmol, 64%).

¹H NMR (600 MHz, MeOD) δ (ppm) 7,86 (d, *J* = 8,3 Hz, 6H), 7,69 (s, 3H), 7,34 (s, 3H), 7,31 (d, *J* = 8,2 Hz, 6H), 7,18 (d, *J* = 8,3 Hz, 6H), 6,85 (d, *J* = 8,2 Hz, 6H), 4,78 (s, 3H), 4,53 – 4,40 (m, 6H), 4,37 (m, 3H), 3,88 (d, *J* = 12,9 Hz, 3H), 3,73 (d, *J* = 12,9 Hz, 3H), 3,12 – 3,04 (m, 3H), 3,02 – 2,96 (m, 3H), 2,86 – 2,77 (m, 3H), 2,55 – 2,46 (m, 3H).

¹³C NMR (151 MHz, MeOD) δ (ppm) 169,11, 161,26, 159,42, 143,88, 136,31, 133,24, 133,03, 132,23, 130,88, 130,53, 129,73, 124,37, 116,98, 115,69, 112,55, 93,17, 90,52, 69,50, 68,47, 52,42, 51,93, 46,63, 36,90, 29,94.

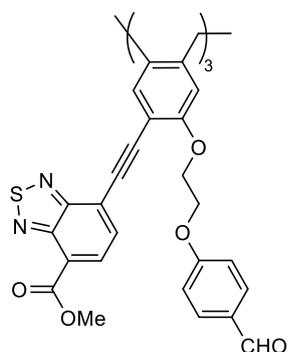
HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + H]⁺ pour C₈₁H₇₃N₄O₁₂ calculé 1293,5219; trouvé 1293,5246

Tdécomposition: 320°C

FTIR (neat) *v* (cm⁻¹) : 3411,24, 2936,15, 2866,49, 2771,50, 2214,25, 1694,99

λ_{abs max} (PBS (pH=7.4, 140 mM)/DMSO 98/2)= 330 nm, λ_{em max}=354 nm, ε= 3,9x10⁴ M⁻¹.cm⁻¹, φ= 24% (9,10-diphenylanthracene comme référence)

trimethyl 7,7',7''-((3,8,13-tris(2-(4-formylphenoxy)ethoxy)-10,15-dihydro-5H-tribenzo[a,d,g][9]annulène-2,7,12-triyl)tris(ethyne-2,1-diyl)tris(benzo[c][1,2,5]thiadiazole-4-carboxylate) (213)



Le composé **205** (50 mg, 0,044 mmol), le composé **189** (87 mg, 0,396 mmol, 9 eq), le PdCl₂(PPh₃)₂ (19 mg, 0,026 mmol, 0,6 eq) et le CuI (5 mg, 0,026 mmol, 0,6 eq) sont ajoutés

dans un tube de schlenck. Des cycles vide/azote sont faits trois fois puis du DMF sec (3 mL) et de la triéthylamine distillée (0,5 mL) sont ajoutés. La solution est dégazée avec de l'azote pendant 20 min. La solution est ensuite chauffée pendant 2 jours à 40°C. Après 2 jours, le solvant est évaporé et le résidu est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : DCM/AcOEt 50/50 puis DCM/MeOH 90/10). Le produit est ensuite précipité dans un mélange CHCl₃/éther diéthylique. On obtient un solide marron (38 mg, 0,027 mmol, 61%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9,77 (s, 3H), 8,21 (d, *J* = 7,5 Hz, 3H), 7,72 – 7,60 (m, 12H), 7,07 (s, 3H), 6,96 (d, *J* = 8,7 Hz, 6H), 4,78 (d, *J* = 13,8 Hz, 3H), 4,62 – 4,42 (m, 12H), 4,05 (s, 9H), 3,74 (d, *J* = 13,8 Hz, 3H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 190,61, 164,73, 163,67, 158,85, 155,31, 151,94, 142,82, 135,23, 133,35, 132,00, 131,17, 130,34, 122,62, 122,23, 115,21, 115,10, 115,00, 111,78, 95,47, 89,71, 68,14, 67,14, 52,92, 36,83.

Tdécomposition : 215°C

FTIR ν (cm⁻¹) : 2948,81, 2736,68, 2204,75, 1704,49

FTMS (ESI, Full ms) : m/z pour C₇₈H₅₄N₆O₁₅S₃ (adduit H⁺) calculé, 1411,28; trouvé, 1411,24642

λ_{abs max}(CHCl₃)= 405 nm, λ_{em max}= 511 nm ε= 3,6x10⁴ M⁻¹.cm⁻¹, φ= 60% (pérylène comme référence)

C- Spectroscopie

Méthode générale et matériel utilisé

Les spectres UV-Vis sont enregistrés sur un spectromètre CARY 100 scan et les spectres de fluorescences sur un spectrophotomètre CARY Eclipse pour les titrations, le rendement quantique de fluorescence et le coefficient d'absorption. La température est régulée dans le spectrophotomètre grâce à un contrôleur de température Peltier Varian Cary type SPVF 1x0. Le rendement quantique de fluorescence est mesuré en utilisant la méthode standard d'équilibration d'aire des échantillons à température ambiante. Les rendements quantiques sont obtenus en utilisant le 9,10- diphenylanthracène dans le cyclohexane, le pérylène dans l'éthanol ou encore le bisulfate de quinine dans une solution aqueuse de H₂SO₄ à 0,5 M. Les rendements quantiques reportés le sont avec une erreur de $\pm 10\%$.

Les expériences de temps de vie ont été faites en utilisant un appareil HORIBA Jobin Yvon avec une nanoled de 295 nm ou 355 nm selon les produits.

Titrations

Les aliquotes d'invités ont été ajoutés à une solution de CTV ou d'HC dans un mélange chloroforme/méthanol 99/1 ou PBS (pH= 7,4, 140 mM)/DMSO 98/2 placé dans une cuve en quartz à 20°C. Après chaque addition d'invité, la cuve est agitée et laissée revenir à l'équilibre pendant 2 minutes avant d'enregistrer le spectre d'émission puis le spectre d'absorption. Les changements d'intensité dans les spectres d'émissions ont été enregistrés. L'intégration du signal est faite dans le but d'obtenir une zone où la courbe est une fonction en fonction de la concentration de l'invité. Cette courbe peut être analysée en utilisant un programme tel qu'Origin®. Le changement de volume dû à l'addition d'invité est pris en compte dans les calculs. En utilisant une stœchiométrie 1 :1 ou 1 :2, les constantes d'associations (K_{ass}) ont été calculées.

Les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou celle d'Huntington sont liées à un déséquilibre des neurotransmetteurs. Néanmoins, les sources de ces troubles de communication neuronale ne sont pas bien compris à ce jour, en partie à cause du manque d'outils permettant de suivre en temps réel et dans l'espace les neurotransmetteurs, dans les systèmes biologiques. Ainsi, il est extrêmement important de développer des outils tels que des sondes supramoléculaires fluorescentes pour l'imagerie des neurotransmetteurs. Dans une étude précédente réalisée dans notre groupe, des sondes fluorescentes basées sur un squelette cyclotrivratriylène, capables de reconnaître la choline ou l'acétylcholine (ACh) en solution aqueuse tampon (pH 7,4), ont été synthétisées. Cependant, ces molécules ne respectent pas tous les critères nécessaires à l'imagerie des espèces dans des conditions biologiques. En effet, leurs constantes de complexation sont insuffisantes. Pour améliorer l'affinité de liaison entre les sondes et les neurotransmetteurs, nous avons tourné notre attention vers des capsules construites à partir du noyau de cyclotrivratriylène, à savoir les hémicryptophanes (HC). Les hémicryptophanes sont connus pour reconnaître les invités ammoniums grâce à leur cavité préorganisée. De nouveaux hémicryptophanes fluorescents ont été synthétisés. La voie synthétique que nous avons développée nous permet de modifier facilement le motif fluorescent de l'HC. Certains d'entre eux, solubles dans la solution aqueuse tamponnée, montrent de bonnes affinités pour différents neurotransmetteurs comme l'acétylcholine, la dopamine ou la sérotonine, ainsi qu'une bonne sensibilité et sont. Leur synthèse ainsi que leurs propriétés de fluorescence et de reconnaissance seront présentées.

Neurodegenerative diseases like Alzheimer, Parkinson or Huntington are related to an imbalance of neurotransmitters. Nevertheless, the sources of this neuronal communication disorder are not well-understood to date, partly because of the lack of tools allowing real-time and real-space monitoring of neurotransmitters, in biological systems. Thus, it is extremely important to develop tools such as fluorescent supramolecular probes for the imaging of neurotransmitters. In a previous study carried out in our groups, fluorescent probes based on a cyclotrivratriylene skeleton, able to recognize either choline or acetylcholine (ACh) in buffer aqueous solution (pH 7.4), have been synthesized. However, these molecules do not respect all the criteria needed for the imaging of species in biological conditions. Indeed, their complexation constants are insufficient. To improve the binding affinity between probes and neurotransmitters we turned our attention to capsules built from cyclotrivratriylene core, namely hemicryptophanes (HC). HC are known to bind ammoniums guests thanks to their preorganized cavity. New fluorescent hemicryptophanes were synthesized. The synthetic pathway we developed allow us to easily modify the HC's fluorescent moiety. Some of them show good affinities for different neurotransmitters like acetylcholine, dopamine or serotonin, good sensitivities and are soluble in buffer aqueous solution. Their synthesis as well as their fluorescence and recognition properties will be presented.