

THESE

Présentée par

ALI HAYEK

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE LOUIS PASTEUR DE STRASBOURG

Domaine : **Chimie Organique**



INGENIERIE, SYNTHÈSE ET CARACTERISATION
DE NOUVEAUX CHROMOPHORES ABSORBANTS
MULTIPHOTONIQUES :
APPLICATIONS EN IMAGERIE BIOLOGIQUE

Soutenue le 09 octobre 2006 devant la commission d'examen :

Pr. Maurice GOELDNER

Rapporteur interne

Dr. Robert PANSU

Rapporteur externe

Pr. Stéphane PAROLA

Rapporteur externe

Pr. Jean-François NICLOUD

Directeur de thèse

Dr. Frédéric BOLZE

Membre invité

Dr. Patrice L. BALDECK

Membre invité

JE DEDIE CE TRAVAIL
A MA CHERE FIANCEE MAHA
&
A MA FAMILLE.

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe de Biophotonique Moléculaire du Groupe des Matériaux Organiques à l'Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg. Je remercie tous les personnels qui m'ont permis, de près ou de loin, de mener à bien ce travail dans d'excellentes conditions matérielles et humaines, et je cite en particulier M. Daniel GUILLON, responsable du GMO et M. Marc DRILLON, directeur de l'IPCMS.

Je voudrais remercier vivement M. Maurice GOELDNER, M. Robert PANSU, M. Stéphane PAROLA et M. Patrice BALDECK, pour avoir accepté de juger ce travail et pour l'intérêt qu'ils y ont manifesté.

Cette thèse n'aurait vu le jour sans la confiance, la patience et la générosité de mon directeur de recherche, Monsieur Jean-François NICOUD, que je veux vivement remercier. La pleine confiance qu'il m'a accordée dès mon arrivée, m'a permis d'élaborer un plan de thèse personnel et propre à mes aspirations. Je voudrais aussi le remercier pour le temps qu'il m'a accordé et la patience qu'il m'a montré tout au long de ces années, d'avoir cru en mes capacités et de m'avoir fourni d'excellentes conditions logistiques. De plus, les conseils qu'il m'a prodigué tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs et succincts, me facilitant grandement la tâche et me permettant d'aboutir à la réalisation de cette thèse.

Mes plus sincères remerciements vont également à Frédéric BOLZE, qui en agissant à titre de co-encadrant a fortement enrichi ma formation. Ses conseils et ses commentaires auront été fort utiles, sans oublier évidemment sa bonne humeur qui rendait l'ambiance du travail plus agréable à vivre. D'autre part, je voudrais remercier la maman de Frédéric, Claude Bolze, pour avoir pris le temps de lire mon mémoire de thèse et corriger les fautes de frappes et d'orthographe.

Je n'oublie pas les personnes avec lesquelles j'ai collaboré et qui m'ont permis de réaliser ce travail de thèse dans les meilleures conditions : M. Patrice BALDECK, M. Jean-Claude VLAL, Thomas HUAULT, Jean BERNARD, Michel BOURLAU et M. Van Der Sanden BOUDEWIJN au laboratoire de Spectrométrie Physique à l'Université Joseph Fourier à Grenoble, M. Alain DUPERRAY et M. Alexei GRICHINE à

l'Institut Albert Bonniot, Ontogenèse et Oncogenèse Moléculaire, INSERM, Grenoble et M. Yves MELY, M. Etienne PIEMONT, Sebnem ERCELEM et Xin ZHANG au laboratoire de Photophysique des Interactions Biomoléculaires, à l'Institut Gilbert Laustriat, à Illkirch-Graffenstaden. Ce qui me donne aussi l'occasion de remercier le Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche pour le financement de cette thèse.

Je remercie infiniment Laurence OSWALD, Emilie COUZIGNE, Cyril BOURGOGNE, Nicola BEYER et Benoît HEINRICH, pour leurs aides techniques précieuses.

Sans oublier le professeur Gero DECHER, responsable du DEA de chimie et physique des polymères, matériaux et surfaces, je le remercie vivement pour m'avoir aidé et à m'orienter pour mon projet de thèse.

Merci aussi à tous mes collègues et amis de longue date du laboratoire. Je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien. En particulier je cite : Alexandre, Alfonso, Aline, Aziz, Cristian, David, Don Antoine, Ezeddine, Firmin, Gilberto, Hind, Iza, Jean-Baptiste, Jean-Moïse, Jean Philippe, Jérôme, Emmanuel, Kokou Dodzi, Laurence, Loïc, Mircea, Sébastien, Stéphane, Sylvestre, Teresa, William, Lionel, ... et Agnès, Benoît, Bertrand, Cyril, Daniel, Delphine, Emilie, Isabelle, Jean-Louis, Jérôme, Laurence, Laurent, Nicolas, Pascal, Patrick, Stéphane, Yves, ...

Je souhaite également remercier mes amis, en particulier Ali TRABOLSI, Ali KHALIL, Abdallah GHADDAR, Ahmad EL-MOUDALAL, Ali KACHMAR et Jamal AMER pour leurs encouragements et leur soutien permanent lors de ces années de thèse, sans oublier bien sûr Raghida DAMAJ, Zeina MEHYO, Abbas GHADDAR, Khalil HIJAZI, Rachid JAAFAR, Hassan TRABOULSI, Houssein AWADA, Houssam OBEID, Ziad DAMAJ et tous ceux que j'oublie ici ...

Je ne terminerai pas mes remerciements sans avoir une pensée sympathique à mon amie Hind MAMLOUK, avec qui j'ai partagé les moments agréables ainsi que les moments difficiles au labo.

Enfin Je remercie ma très chère fiancée Maha, qui m'a accordé le support moral depuis que je l'ai connue en dernière année de thèse, et je remercie également mes parents (Mohamad et Izdihar), mes sœurs (Rola et Rabab) et mes frères (Kassem, Ahmad et Hassan), sans qui je n'aurais pu réaliser ce travail dans de bonnes conditions, et je leur dédie ce travail.

MERCI ENCORE À TOUS ...

Ali HAYEK

Ph.D. student

Date of birth: November 02, 1979 / Lebanon

1, rue du Feu (App. 310)

67000 Strasbourg - France

+33 (0)6 13 42 75 10 (Mobile)

+33 (0)3 88 32 73 12 (Home)

ali_hayek@hotmail.com



EDUCATION

2003-2006: **Ph.D. in Organic chemistry:** Organic Materials Group (GMO) – Institute of Physics and Chemistry of Materials of Strasbourg (IPCMS) - University Louis Pasteur, Strasbourg, France.

Fellowship from the French Ministry of National Education and Research.

Supervisor: Pr. Jean-François NICOUD.

« Design, synthesis and characterizations of new chromophores with two-photon absorption properties: Applications in bio-imaging »

2002-2003: **Master 2 in Physical chemistry:** « *Chemistry and Physics of Polymers, Materials and Surfaces* », University Louis Pasteur, Strasbourg, France.

1997-2001: **Master 1 in Chemistry:** Lebanese University (UL), Faculty of Sciences, Beirut, Lebanon.

EXPERIENCE

2003 – 2006: **Doctoral research fellow.** Organic Materials Group (GMO).

Supervisor: Pr. Jean-François NICOUD.

Research experience: Organic synthesis, photophysical studies, nonlinear optics, cell imaging, bio-conjugation.

- *Synthesis of water-soluble two-photon excited dyes with symmetrical architecture based on bis-stilbenic system for bio-imaging applications.*
- *Synthesis of amine-reactive dyes functionalized by iso-thiocyanate group for bio-conjugation.*
- *Synthesis of new chromophores with two-photon absorption properties with original cores.*
- *Photophysics of chromophores: one-photon (Quantum yield, absorption coefficient, life-time, etc...); two-photon (two-photon absorption cross-section, fluorescence, etc...).*
- *Biological applications (TPFM, FLIM, Bio-conjugation, etc...).*

2002 – 2003: **Master 2 training course** – Institute Charles Sadron, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France.

«Life-controlled free-radical polymerization of vinylic monomers by nitroxides»

- *Synthesis of new nitroxides derivatives.*
- *Tuning of life-controlled free-radical polymerization.*

2000 – 2001: **Master 1 training period:** Lebanese University, Beirut, Lebanon.
« *heteropolyacids catalysts: Structural study* »

TEACHING EXPERIENCE

2001 – 2002: **High school professor** - «*Chemistry Teacher*»- Lebanon.

SKILLS

COMPUTER SKILLS: PCs running Microsoft windows: MS office package (Word, Excel, and PowerPoint), origin 6.0, Adobe Photoshop, chemical and literature database (Chemdraw, Scifinder Scholar-CAS, Win-NMR 1D, Cambridge, etc...).

INSTRUMENTATIONS: NMR (^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{11}B) (1D, 2D), MS, IR, UV-VIS spectrophotometry, Emission spectrofluorimetry, GC, HPLC, GPC and SEC.

LANGUAGES: **English**
French
Arabic

PRIZE

First prize for best oral communication and multidisciplinary work.

French Chemical Society-Alsatian section (SFC) and Doctoral School of Chemistry (ED-ULP), May 4th, **2006**, European Chemistry, Polymers and Materials Engineering School (ECPM), Strasbourg-FRANCE.

CONFERENCES

ORAL COMMUNICATIONS:

Hayek, A.; Bolze, F.; Nicoud, J.-F.; Guidoni, L.; Bigot, J.-Y.; Mély, Y. «**Elaboration et évaluation de nouveaux chromophores absorbants à deux photons solubles dans l'eau : Vers l'imagerie cellulaire**», Quatrième Colloque Franco-Libanais sur la Science des Matériaux (CSM4) May 26th-28th, **2004**, Beyrouth-LIBAN.

Hayek, A.; **Bolze, F.**; Charon, S., Nicoud, J.-F. «**L'absorption à deux photons : vers des applications biologiques**», IPCMS day Journey, May 12th-13th, **2005**, CNRS-Cronenbourg campus, Cronenbourg, FRANCE.

Hayek, A.; Bolze, F.; Nicoud, J.-F.; Duperray, A.; Grichine, A.; Baldeck, P. L.; Vial, J.-C. «**Synthesis and characterization of water-soluble two-photon excited blue fluorescent chromophores : applications in bio-imaging**», 3rd International Conference on Photoresponsive Organics and Polymers (3rd ICPOP) and the 2nd French-Korean Symposium on Photonic Materials and Devices (2nd KF-PMD), January 15th-20th, **2006**, Novotel Coralia, Val Thorens, FRANCE.

Hayek, A.; Bolze, F.; Nicoud, J.-F.; Duperray, A.; Grichine, A.; Baldeck, P. L.; Vial, J.-C.; Mély, Y. «**Two-photon absorption chromophores : from conception to biological applications**», Organic Materials Group (GMO), Institute of Physics and Chemistry of Materials of Strasbourg (IPCMS), February 24th, **2006**, Strasbourg-FRANCE.

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Duperray, A. ; Grichine, A. ; Baldeck, P. L. ; Vial, J.-C. ; Mély, Y. «**Two-photon absorption chromophores : from conception to biological applications**», University Louis Pasteur young scientists lecture, March 21st, **2006**, Strasbourg-FRANCE.

Hayek, A. ; Ercelen, S., Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Baldeck, P. L. ; Mély, Y. «**Chromophores bis-stilbéniques absorbants à deux photons solubles dans l'eau. Applications à l'imagerie biphotonique de systèmes bio-conjugués** », French Chemical Society-Alsatian section (SFC) and Doctoral School of Chemistry (ED-ULP), May 4th, **2006**, European Chemistry, Polymers and Materials Engineering School (ECPM), Strasbourg-FRANCE.

POSTER

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Dorkenoo, K.-D. «**Two-photon confocal microscopy with new optimized chromophores**», IMVIE², International symposium «imaging for medical and life sciences»- March 1st-3th, **2005** Illkirch / Strasbourg-FRANCE.

Hayek, A. ; Ercelen, S., Zhang, X., Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Baldeck, P. L.; Mély, Y. «**Branched polyethylene imine labeled by two-photon absorbing dye for non-viral gene delivery imaging** », DENSOM, Euroconference on Dendrimer Soft Self Assembly Systems - May 17th-21st, **2006** Obernai-FRANCE.

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Baldeck, P. L.; Vial, J.-C. ; Duperray, A. ; Grichine, A. «**New water-soluble blue fluorescent chromophores and their amine-reactive derivatives for two-photon microscopy**» 1st European Chemistry Congress - August 27th - 31st, **2006** Budapest - HUNGARY.

PUBLICATIONS

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Baldeck, P.-L.; Mély, Y., «**Synthesis and characterization of water-soluble two-photon excited blue fluorescent chromophores for bioimaging**» *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2006**, 5, 102-106.

Hayek, A. ; Nicoud, J.-F.; Bolze, F. ; Bourgogne, C. ; Baldeck, P. L., «**Boron Containing Two-photon Absorbing Chromophores: Electronic Interaction through the Cyclodiborazane Core**». *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2006**, 45, 6466-6469.

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Duperray, A. ; Grichine, A. ; Baldeck, P. L. ; Vial, J.-C., «**Two-photon water-soluble dyes and their amine-reactive derivatives for two-photon bio-imaging applications**». *Nonlinear Optics, Quantum Optics*, (**2006**) *In press*.

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Baldeck, P. L. ; Vial, J.-C. ; Duperray, A. ; Grichine, A. ; Mély, Y. «**New cell-permeant cytoplasmic blue fluorophores optimized for *in vivo* two-photon microscopy with low-power excitation**». *Manuscript in preparation*.

Hayek, A. ; Bolze, F. ; Nicoud, J.-F.; Ercelen, S. ; Zhang, X. ; Schaub, E. ; Mély, Y., Baldeck, P.-L. «**Conjugation of new amine reactive two-photon fluorophore to polyéthylèneimine for gene delivery imaging**». *Manuscript in preparation*.

Hayek, A. ; Nicoud, J.-F.; Bolze, F. ; Baldeck, P. L. «**Boron in two-photon induced fluorescent chromophore II : *p*-carborane core**». *Manuscript in preparation*.

HOBBIES

- Travel
- Reading
- Football

REFEREES

Ph.D. supervisor :

Pr. Jean-François NICOUD

Groupe des Matériaux Organiques (GMO)

Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg (IPCMS)

23 rue du Loess, F-67034 Strasbourg, France.

Tel: 33 (0)3 88 10 71 55

Fax: 33 (0)3 88 10 72 46

E-mail: nicoud@ipcms.u-strasbg.fr

Ph.D. co-supervisor :

Dr. Frédéric BOLZE

Groupe des Matériaux Organiques (GMO)

Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg (IPCMS)

23 rue du Loess,

F-67034 Strasbourg, France.

Tel: 33 (0)3 88 10 71 07

Fax: 33 (0)3 88 10 72 46

E-mail: frederic.bolze@ipcms.u-strasbg.fr

Dr. Patrice L. BALDECK

Matériaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant (MOTIV)

Laboratoire de Spectrométrie Physique (SPECTRO)

BP 87, Saint Martin d'Hères,

38402 Grenoble, France.

Tel: 33 (0)4 76 51 47 82

Fax: 33 (0)4 76 63 54 95

E-mail: baldeck@spectro.ujf-grenoble.fr

INTRODUCTION

CHAPITRE I

PRINCIPE DE L'ABSORPTION A DEUX PHOTONS ET SES APPLICATIONS

I. L'ABSORPTION A DEUX PHOTONS -----	9
I.A. HISTOIRE ET PRINCIPE -----	9
I.B. LA SECTION EFFICACE D'ADP -----	12
I.B.1. Ingénierie moléculaire de la section efficace d'ADP -----	12
I.B.2. Détermination expérimentale de la section efficace d'ADP -----	15
I.C. APPLICATIONS DE L'ABSORPTION A DEUX PHOTONS-----	20
I.C.1. La microfabrication 3D -----	20
I.C.2. La limitation optique-----	23
I.C.3. La thérapie photo-dynamique -----	26
I.C.4. La microscopie de fluorescence par excitation à deux photons-----	29

CHAPITRE II

CHROMOPHORES ABSORBANTS A DEUX PHOTONS SOLUBLES DANS L'EAU : APPLICATIONS EN IMAGERIE BIOLOGIQUE

I. MICROSCOPIE A DEUX PHOTONS (MDP) -----	35
I.A. VISION HISTORIQUE -----	35
I.B. COMPARAISON ENTRE LA MICROSCOPIE A DEUX PHOTONS ET LA MICROSCOPIE CONFOCALE -----	37
I.C. COLORANTS UTILISES EN MDP -----	41
I.D. CONCLUSION -----	42
II. IGENIERIE ET SYNTHESE DES CHROMOPHORES ADP -----	44
II.A. SOLUBILISATION DES CHROMOPHORES DANS L'EAU -----	45
II.B. SYNTHESE DES CHROMOPHORES SYMETRIQUES -----	47
II.B.1. Préparation des groupements périphériques électrodonneurs-----	47
II.B.2. Préparation des cœurs aromatiques-----	49
II.B.3. Synthèse des chromophores finaux-----	50
II.C. SYNTHESE DES CHROMOPHORES DISSYMETRIQUES -----	55
II.C.1. Synthèse des dérivés aminés -----	56
II.C.2. Fonctionnalisations -----	65
III. CARACTERISATION DES CHROMOPHORES -----	71
III.A. SOLUBILITE ET COEFFICIENT DE PARTAGE-----	71
III.A.1. Solubilité-----	71
III.A.2. Coefficient de partage <i>n</i> -octanol/eau -----	72
III.B. ETUDES PHOTOPHYSIQUES DES CHROMOPHORES-----	73

III.B.1. Approche theorique des phénomènes photophysiques -----	73
III.B.2. Résultats expérimentaux à un photon-----	78
III.B.3. Résultats expérimentaux à deux photons-----	85
III.B.4. Conclusion-----	88
IV. UTILISATION DES CHROMOPHORES SYNTHETISES EN MICROSCOPIE A DEUX PHOTONS -----	89
IV.A. IMAGERIE CELLULAIRE -----	89
IV.A.1. Imagerie sur cellules vivantes-----	89
IV.A.2. Imagerie du mécanisme de la Transfection non virale de gène -----	99
IV.A.3. Observations de cellules fixées : Immunofluorescence -----	108
IV.A.4. Imagerie du petit animal-----	112
IV.A.5. Analyse de la micro vascularisation cerebrale de la souris par microscopie non-lineaire -----	112
IV.A.6. Resultats experimentaux -----	114
V. CONCLUSION -----	119

CHAPITRE III

SYNTHESE DE NOUVEAUX CHROMOPHORES MULTIPROPRIETES CONTENANT DU BORE

I. INTRODUCTION-----	123
I.A. LES INTERACTIONS ELECTRONIQUES : COUPLAGE EXCITONIQUE-----	124
I.B. THERAPIE PAR CAPTURE DE NEUTRONS PAR LE BORE (BNCT) -----	128
I.C. PROPRIETES DES CŒURS CHOISIS -----	131
I.C.1. Le pyrazabole-----	131
I.C.2. Le cyclodiborazane-----	131
I.C.3. Le <i>p</i> -carborane -----	133
I.D. CONCLUSION-----	135
II. SYNTHESE DES CHROMOPHORES -----	136
II.A. PREPARATION DES SYNTHONS PERIPHERIQUES-----	136
II.A.1. Groupement électro-donneur trialkoxy-----	136
II.A.2. Groupement électro-donneur azotés-----	140
II.A.3. Groupement électro-donneur boro-dipyrromethene-----	142
II.A.4. Conclusion -----	144
II.B. SYNTHESE DES CŒURS CENTRAUX -----	144
II.B.1. Cœur pyrazabole-----	144
II.B.2. Cœur cyclodiborazane -----	146
II.B.3. Cœur <i>p</i> -carborane-----	148
II.B.4. Conclusion-----	150
II.C. SYNTHES DES MOLECULES FINALES-----	150
II.C.1. Chromophores a cœurs pyrazabole-----	150
II.C.2. Chromophores a cœurs cyclodiborazane -----	154
II.C.3. Chromophores a cœurs <i>p</i> -carborane -----	156
II.C.4. Chromophore à cœur diyne-----	157
II.D. CONCLUSION-----	158

III.	CARACTERISATION PHOTOPHYSIQUE DES CHROMOPHORES	159
III.A.	PROPRIETES LINEAIRES	159
III.A.1.	Cœur pyrazabole	159
III.A.2.	Cœur cyclodiborazane	161
III.A.3.	Cœur carborane	162
III.A.4.	Chromophores à cœur diyne.	165
III.A.5.	Conclusion	166
III.B.	PROPRIETES NON-LINEAIRES	167
III.B.1.	Cœur pyrazabole	167
III.B.2.	Cœur cyclodiborazane	168
III.B.3.	Cœur carborane	169
III.B.4.	Composés diyne	169
IV.	LES INTERACTIONS ELECTRONIQUES	171
IV.A.	A TRAVERS LE CYCLODIBORAZANE	171
IV.B.	A TRAVERS LE <i>P</i> -CARBORANE	181
IV.C.	A TRAVERS LE PYRAZABOLE	184
V.	ETUDE DE LA STEREOISOMERIE DE DEUX STEREOISOMERES DE CYCLODIBORAZANE PAR RMN	188
VI.	CONCLUSION	193

CHAPITRE IV

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

I.	CONCLUSIONS	197
II.	PERSPECTIVES	198

PARTIES EXPERIMENTALES

GENERALITES	203
I. APPAREILS ET SERVICES	203
I.A. RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE (RMN)	203
I.B. SPECTROSCOPIE DE MASSE	203
I.C. ETUDES PHOTOPHYSIQUES	203
II. SUPPORTS CHROMATOGRAPHIQUES	204
II.A. CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE SUR COLONNE	204
II.B. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE	204
III. SOLVANTS ET REACTIFS	204

PARTIE EXPERIMENTALE -----205

CHROMOPHORES ABSORBANTS A DEUX PHOTONS SOLUBLES DANS L'EAU : APPLICATIONS EN IMAGERIE BIOLOGIQUE

PARTIE EXPERIMENTALE -----247

SYNTHESE DE NOUVEAUX CHROMOPHORES MULTIPROPRIETES CONTENANT DU BORE

LISTE DES ABBREVIATIONS

TECHNIQUES

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
m	Masse
ppm	Parties par million
Rdt.	Rendement
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
r.t.	Température ambiante
SMHR	Spectrométrie de Masse à Haute Résolution
s, d, dd, t, q, m	Singulet, doublet, doublet dédoublé, triplet quadruplet, multiplet
δ	Déplacement chimique

COMPOSES CHIMIQUES

AIBN	Azobisisobutyronitrile
Amd	Amide
Bi	Biphényle
BODIPY	Boron-dipyrrromethene
CB	Cyclodiborazane
CR	Carborane
Cyl	Cyclène
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Dy	Diyne
Fl	Fluorène
NCS	Isothiocyanate
OEG	Oligo Ethylène Glycol
Pht	Phtalimide
Pz	Pyrazabole
TBAF	Fluorure de tétrabutylammonium
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
ToP	Tri(<i>o</i> -tolyl)phosphine
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldiméthylsilyl
TMS	Triméthylsilyl

OPTIQUE

A	Absorbance
ADP	Absorption à deux photons
E	Energie
ϵ	Coefficient d'extinction molaire
α_3	Coefficient d'absorption à trois photons
CIS	Croisement Inter-Système
τ	Durée de vie de fluorescence
ω	Fréquence
GM	Göppert-Mayer
n	Indice de réfraction du milieu
IR	Infrarouge
$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$	Longueur d'onde maximale d'absorption
$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$	Longueur d'onde maximale d'émission
μ	Moment dipolaire
MDP	Microscopie à Deux Photons
ν	Nombre d'onde
OL	Optique Linéaire
ONL	Optique Non-Linéaire
α	Polarisabilité
β	Hyperpolarisabilité du premier ordre
ϕ	Rendement quantique de fluorescence
γ	Hyperpolarisabilité du second ordre
σ_2	Section efficace d'absorption à deux photons
$\chi^{(x)}$	Susceptibilité
UV	Ultraviolet
u. a.	Unité arbitraire

BIOLOGIE

BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
NIH3T3	Cellules dérivées de fibroblastes de souris
COS7	Cellules dérivées de fibroblastes de singe
HeLa	Cellules humaines de fibroblastes du col utérin
$\log P$	Coefficient de partage
F98	Cellules modèles de tumeur au cerveau du rat
PEI	PolyEthylène Imine
SNC	Système Nerveux Central
RLU	Unité Relative de la Lumière

INTRODUCTION

Le point de départ de notre travail de thèse découle de plusieurs études théoriques et résultats expérimentaux effectués dans notre équipe depuis plus de dix ans. Ces travaux concernent notamment l'optique non-linéaire quadratique dans les systèmes cristallins, l'élaboration de matériaux pour la limitation optique et dernièrement l'ingénierie moléculaire de chromophores pour l'absorption multiphotonique (nature et taille des systèmes conjugués, dimensionnalité, types d'interactions entre les systèmes conjugués, ...). Tous ces résultats, ainsi que notre motivation à nous orienter vers des applications biologiques, ont mené aux travaux que nous présentons dans ce mémoire de thèse.

Il y a quelques années, au cours d'un projet relatif à la limitation optique dans le visible, notre équipe a travaillé sur un chromophore conjugué unidimensionnel (1D) centrosymétrique appelé GMO-4, dont la structure est basée sur un système bis-stilbénique. L'analyse des propriétés photophysiques du GMO-4 en régime nanoseconde, a montré qu'un tel système présente un coefficient d'absorption à trois photons (α_3) élevé. Sachant que le processus d'absorption à trois photons commence par une absorption à deux photons, suivie de l'absorption d'un troisième photon dans l'état excité de la molécule, nous pouvions conclure à une efficacité potentielle d'un tel matériau en absorption à deux photons (ADP).

Le squelette moléculaire du GMO-4 comporte essentiellement deux ensembles électrodonneurs (D) reliés entre eux par l'intermédiaire d'un système conjugué (π) à travers un cœur aromatique central (D- π -Cœur aromatique- π -D). Un tel système permet l'étude des interactions électroniques ainsi que le couplage excitonique entre les deux systèmes conjugués à travers le cœur central. La bonne compréhension des interactions électroniques dans un chromophore peut aboutir à l'amélioration de ses propriétés optiques non-linéaires, d'où notre choix de considérer ce type de molécule conjuguée comme un modèle de base pour nos chromophores (**Figure 1**).

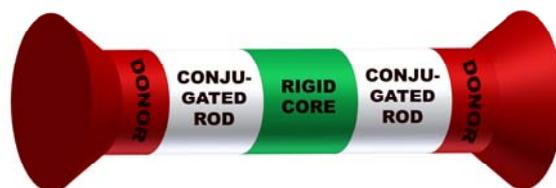


Figure 1 : Schéma d'un chromophore ADP unidimensionnel.

L'examen de la structure présentée **Figure 1** nous montre qu'on peut jouer sur plusieurs paramètres comme le donneur, le système conjugué et le cœur rigide. On peut ainsi :

- Améliorer les propriétés photophysiques en modifiant la force de l'électrodonneur, la nature et la longueur du système conjugué ou la rigidité du cœur aromatique central. Cela correspond à un travail d'ingénierie moléculaire des propriétés optiques non-linéaires.
- Réaliser des modifications chimiques sur sa structure sans modifier ses propriétés photophysiques, afin d'obtenir des chromophores ciblés vers des applications biologiques précises. Cela correspond à un travail d'ingénierie moléculaire de la bio-conjugaison et de la solubilité dans l'eau.

Parmi les nombreuses applications de l'absorption à deux photons, nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux applications biologiques, comme la microscopie à deux photons. Ainsi, nous avons préparé deux séries de chromophores ADP solubles dans l'eau dans le but d'optimiser la bio-compatibilité. La première série est caractérisée par une architecture totalement symétrique alors que la deuxième est d'architecture dissymétrique car une extrémité est fonctionnalisée. La solubilité dans l'eau a été obtenue par l'introduction de groupements oligo-éthylène glycol (OEG) à la périphérie du chromophore. Nous avons utilisé différentes longueurs de chaînes d'OEG, afin d'obtenir une bonne solubilité dans l'eau, tout en gardant une masse moléculaire du chromophore modérée. Pour moduler les propriétés photophysiques, nous avons modifié la nature du cœur aromatique allant du système biphenyle au fluorényle pour augmenter sa rigidité et augmenter la conjugaison du système, en induisant une architecture quasi-plane. La série dissymétrique est constituée de deux types de chromophores fonctionnalisés qui diffèrent par le type de fonctionnalisation selon l'application envisagée. Ces chromophores dissymétriques sont des analogues de la série d'architecture symétrique. La modification chimique a été effectuée sur une branche, tout en gardant la deuxième intacte, pour garder une bonne solubilité dans l'eau. Selon la fonctionnalisation utilisée, nous pouvons distinguer deux types de chromophores : Les chromophores amino-réactifs caractérisés par la présence du groupement fonctionnel isothiocyanate et le chromophore lié à un cyclène, macrocycle azoté capable de complexer un ion lanthanide magnétiquement actif.

La préparation des chromophores symétriques a permis d'introduire un nouveau type de colorant efficace à deux photons pour la microscopie à deux photons, afin de proposer des remplaçants aux colorants commerciaux habituellement utilisés de nos jours, mais qui présentent de faibles sections efficaces d'ADP (σ_2). La fonctionnalisation des chromophores dissymétriques par un groupement isothiocyanate, a été choisie pour pouvoir réaliser une bio-conjugaison (avec des protéines par exemple) ou un polymère d'intérêt biologique contenant des fonctions amine primaire comme le polyéthylèneimine (PEI). Avec ces chromophores nouveaux on envisage de localiser une espèce donnée ou suivre un mécanisme déterminé en milieu biologique (**Figure 2**). D'autre part, l'idée de combiner l'imagerie par microscopie à deux photons avec l'imagerie par

résonance magnétique (IRM) a conduit à la préparation d'un chromophore ADP lié à un cyclène, le macrocycle pouvant complexer un cation gadolinium.

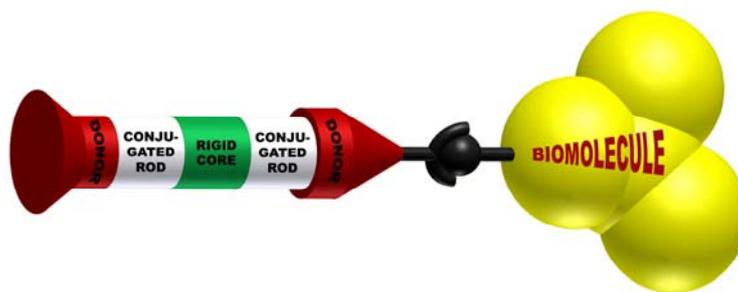


Figure 2 : Schéma d'un système bio-conjugué associant un chromophore ADP et une bio-molécule.

Les propriétés photophysiques linéaires et non-linéaires des ces différents chromophores ont été étudiées dans différents milieux : aqueux (compatibilité biologique) et organique (dichlorométhane, éthanol, DMSO, ...). Les résultats encourageants de ces études nous ont permis de nous orienter rapidement vers des applications en imagerie biologique à différents niveaux : cellulaire et petit animal.

Les études menées avec nos collaborateurs à Grenoble et à Illkirch ont concerné trois types d'imagerie cellulaire : sur cellules vivantes, sur cellules fixées et finalement en effectuant le suivi du mécanisme de la transfection non-virale de gènes. L'imagerie du petit animal a permis d'étudier le passage du colorant à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) d'une souris sous anesthésie.¹

Les résultats expérimentaux positifs de la partie précédente, nous ont poussés vers la conception de nouveaux chromophores multipropriétés absorbants multiphotoniques. Ces chromophores ont permis par ailleurs de réaliser une étude approfondie des interactions électroniques et en particulier le couplage excitonique à travers des cœurs plus ou moins conjugués (pseudo-conjugaison). Nous avons choisi des chromophores ADP contenant du bore afin d'ajouter à l'imagerie par fluorescence à deux photons, les possibilités de la thérapie par capture de neutrons (BNCT pour « Boron Neutron Capture Therapy »). Le bore est en effet un des meilleurs éléments du tableau périodique pour ce type de propriété. La structure de base de ces chromophores multipropriétés est basée sur un système centrosymétrique unidimensionnel contenant deux groupements électrodonneurs reliés par deux systèmes conjugués à un cœur

¹ BHE (ou BBB en anglais pour « Blood Brain Barrier »). La barrière hémato-encéphalique est une barrière anatomique qui filtre et contrôle le passage des substances sanguines et les empêche de passer librement du sang au liquide céphalo-rachidien. Elle isole ainsi le système nerveux central du reste de l'organisme et lui permet d'avoir un milieu spécifique, différent du milieu intérieur du reste de l'organisme.

pseudo-conjugué (D- π -Cœur pseudo-conjugué- π -D). Pour ce faire, nous avons sélectionné trois types de cœurs centraux : le pyrazabole, le cyclodiborazane et le *para*-carborane.

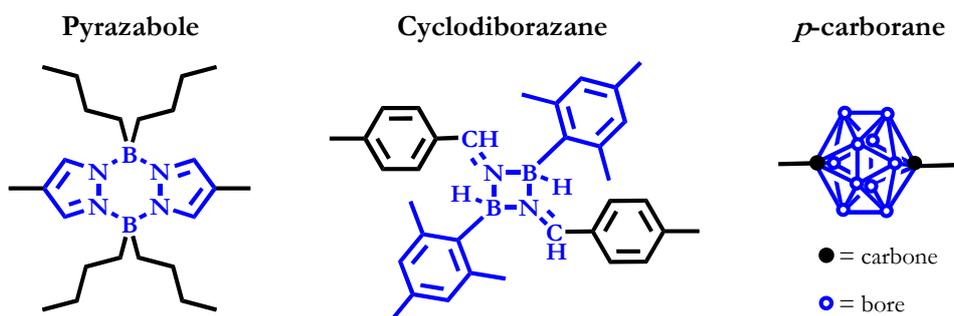


Figure 3 : Structure des trois cœurs contenant du bore.

Ces cœurs sont déjà connus dans la littérature pour leurs propriétés électroniques particulières et on sait qu'ils peuvent conduire à des systèmes conjugués originaux. De plus, parce qu'ils contiennent du bore, ils sont potentiellement efficaces en BNCT. Pour étudier les interactions électroniques à travers ces cœurs et leurs effets sur les propriétés optiques non-linéaires des chromophores, nous avons choisi trois types de groupes électrodonneurs : dérivés alkoxy, dérivé azoté et dérivé de BODIPY (boron-dipyrrométhène). L'effet de la taille du système conjugué a par ailleurs été également étudié.

L'ingénierie et la conception de ces chromophores nous ont conduits à des composés présentant des propriétés optiques linéaires et non-linéaires intéressantes. Pour pouvoir expliquer les différents phénomènes rencontrés, la synthèse d'une large variété des motifs a été menée à bien.

CHAPITRE I

PRINCIPE DE L'ABSORPTION A DEUX PHOTONS ET SES APPLICATIONS

I. L'ABSORPTION A DEUX PHOTONS

I.A. HISTOIRE ET PRINCIPE

L'optique non-linéaire (ONL) décrit l'interaction des champs électriques forts, comme ceux associés aux ondes lumineuses d'un faisceau laser intense, avec la matière. Le champ électrique E de l'onde électromagnétique réarrange la distribution de charge dans l'unité moléculaire, et son moment dipolaire μ peut être décrit par un développement en fonction des puissances croissantes de E (équation 1) :

$$\mu_i = \mu_i^o + \alpha_{ij} E_j + \beta_{ijk} E_j E_k + \gamma_{ijkl} E_j E_k E_l + \dots \quad \text{équation-1}$$

où μ_0 est le moment dipolaire permanent, α est la polarisabilité, et β et γ représentent les polarisabilités du second ordre et du troisième ordre respectivement, (ou les hyperpolarisabilités du premier et du second ordre respectivement) de la molécule. Les considérations de symétrie impliquent que les termes d'ordre impairs dans le champ appliqué (μ_0 , β , ...) disparaissent pour les molécules centrosymétriques, alors que les termes d'ordre pairs (α , γ , ...) sont en général non nuls pour toutes les molécules (centrosymétriques et non centrosymétriques). Le moment dipolaire induit contient les contributions des déplacements des électrons (polarisabilités électroniques) et le mouvement des noyaux atomiques (polarisabilités vibrationnelles). Dans une description macroscopique des propriétés optiques d'un matériau diélectrique, une expression analogue à celle du moment dipolaire par l'équation 1 peut être écrite pour la polarisation P_i (équation 2) :

$$P_i = P_i^o + \chi_{ij}^{(1)} E_j + \chi_{ijk}^{(2)} E_j E_k + \chi_{ijkl}^{(3)} E_j E_k E_l + \dots \quad \text{équation-2}$$

Dans l'expression de l'équation 2, $\chi^{(1)}$ est la susceptibilité électrique linéaire, $\chi^{(2)}$ et $\chi^{(3)}$ sont les susceptibilités électriques non-linéaires du second et du troisième ordre du matériau. Les propriétés optiques linéaires à l'échelle microscopique (au niveau moléculaire) ou macroscopique (au niveau du matériau) proviennent de la polarisabilité α et de la susceptibilité linéaire $\chi^{(1)}$ respectivement. Pour des intensités plus fortes du champ électrique E , les termes d'ordre élevé sont à l'origine des phénomènes non-linéaires, caractérisés par les hyperpolarisabilités β et γ à l'échelle moléculaire et les susceptibilités non-linéaires $\chi^{(2)}$ et $\chi^{(3)}$ à l'échelle macroscopique. Les matériaux non-linéaires performants sont caractérisés par des valeurs élevées de $\chi^{(2)}$ et $\chi^{(3)}$, et si ce sont des matériaux moléculaires ils sont construits à partir de chromophores moléculaires ayant des hyperpolarisabilités β et γ élevées. Pour des molécules non-centrosymétriques, les coefficients β et γ sont non nuls. Les molécules hyperpolarisables non-centrosymétriques, caractérisées par une forte hyperpolarisabilité β , conduisent notamment aux matériaux aptes à la génération de

second harmonique (SHG), par exemple des cristaux doubleurs de fréquence. Les molécules centrosymétriques ne présentent pas de propriétés optiques non-linéaires quadratiques ; on démontre aisément dans ce cas que le coefficient β dans l'expression de leur moment dipolaire est nul ($\beta = 0$). De la même façon les coefficients du tenseur $\chi^{(2)}$ sont nuls dans un matériau centrosymétrique. En revanche toute molécule, centrosymétrique ou non, présente une hyperpolarisabilité γ non nulle, que l'on peut optimiser en jouant sur sa structure électronique. Le phénomène d'absorption à deux photons étant directement lié à l'hyperpolarisabilité γ , pour nos études sur des chromophores absorbant à deux photons, nous nous sommes intéressés principalement à des molécules centrosymétriques.

L'absorption à deux photons (ADP) est un mécanisme important pour les phénomènes non linéaires d'interaction radiation-matière. La théorie de l'absorption à deux photons a été développée par Maria Göppert-Mayer* en 1931 lors de ses études doctorales (**Figure 4**).^{2,3}



Promotion über den Doppel-Photon-Prozess

Einleitung : Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit dem Zusammenwirken zweier Lichtquanten in einem Elementarakt.

Promotion sur le processus à deux photons

Introduction : La première partie de ce travail traite de la coopération de deux quanta de la lumière dans un acte élémentaire.

Figure 4 : Phrase d'introduction de la thèse de Maria Göppert-Mayer.

Le phénomène d'absorption à deux photons a été observé expérimentalement pour la première fois en 1961 suite à l'apparition des sources lasers dans les laboratoires.⁴ Avec la démonstration expérimentale de la génération de second harmonique (SHG) sur un cristal de

* **Maria Göppert-Mayer (1906-1972)**, physicienne américaine d'origine allemande, prix Nobel de physique en 1963, pour son étude de la structure nucléaire. Maria Göppert-Mayer obtint son doctorat à l'université de Göttingen, en Allemagne. Elle devint citoyenne américaine en 1933. Elle enseigna dans de nombreuses institutions avant de rentrer à l'université de Californie à San Diego, en 1960. En 1963, elle partagea avec H. D. Jensen et E. Wigner le prix Nobel de physique, et fut citée par le comité Nobel pour son œuvre indépendante à la fin des années 1940. Elle démontra que le noyau atomique possède un nombre de neutrons et de protons bien défini: elle introduisit un modèle structural du noyau atomique en couches.

² Göppert, M., *Naturwissenschaften*, **1929**, 17, 932.

³ Göppert-Mayer, M., *Ann. Physik*, **1931**, 9, 273-294.

⁴ Kaiser, W., Garret, C. G. B., *Phys. Rev. Lett.*, **1961**, 7, 229.

quartz par Franken et son équipe durant la même année, ce fut un des premiers processus non-linéaires démontré expérimentalement à l'aide des lasers.⁵

Plus précisément, le phénomène d'absorption à deux photons est un processus non-linéaire dans lequel une molécule absorbe simultanément deux photons de même énergie $h\nu_1$ (ou d'énergies différentes $h\nu_1$ et $h\nu_2$) pour atteindre un état excité d'énergie $2h\nu_1$ (ou d'énergie $h\nu_1+h\nu_2$) (Figure 5).

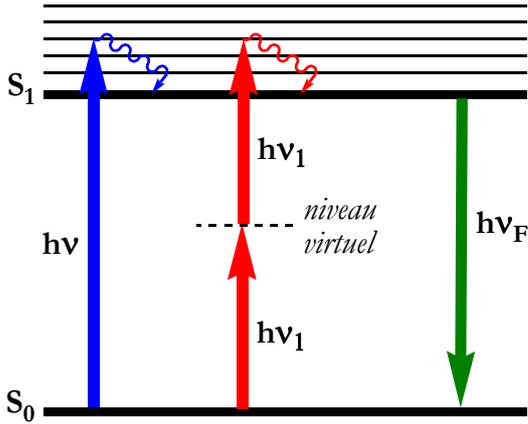


Figure 5 : Schéma décrivant la fluorescence après une absorption à un photon et à deux photons. $h\nu$ et $h\nu_1$ sont les énergies des photons absorbés avec $h\nu = 2h\nu_1$. $h\nu_F$ est l'énergie du photon émis. S_0 et S_1 sont les niveaux d'énergie fondamentale et excité respectivement.

Le phénomène d'ADP présente plusieurs avantages par rapport à l'absorption à un photon en raison de règles de sélection différentes pour l'absorption à un et à deux photons, le niveau excité atteint par l'absorption à deux photons n'est pas forcément le même que celui atteint par l'absorption à un photon. Un facteur important de l'ADP est que la probabilité (P) d'absorber simultanément deux photons est proportionnelle au carré de l'intensité lumineuse de la source laser (I). Cette dépendance quadratique induit une absorption de deux photons uniquement là où l'intensité lumineuse est maximale, donc typiquement au point focal du système optique utilisé.

La probabilité d'absorption multiphotonique peut être exprimée en fonction de l'intensité lumineuse selon la loi de puissance décrite dans l'équation-3 :

$$P \propto I_1^{n_1} I_2^{n_2} \dots I_k^{n_k} \quad \text{équation-3}$$

où P est la probabilité de l'excitation multiphotonique, I_k est l'intensité de la $k^{\text{ème}}$ source lumineuse, et n_k est le nombre de photons de la $k^{\text{ème}}$ source lumineuse participants dans un seul acte dans l'absorption multiphotonique simultanée, donc la somme $\sum_k n_k$ est égale au nombre

⁵ Franken, P. A., Hill, A. E., Peters, C. W., *Phys. Rev. Lett.*, **1961**, 7, 118.

total des photons absorbés. Dans le cas d'une seule source lumineuse d'excitation, l'équation-3 se simplifie en équation-4:

$$P = \frac{1}{n} \sigma_n I^n \quad \text{équation-4}$$

où σ_n est la section efficace d'absorption à n photons. Le rapport $1/n$ prend en considération le fait que n photons doivent être absorbés pour exciter une molécule. D'où la dépendance quadratique entre la probabilité P et l'intensité lumineuse I dans le cas de l'absorption à deux photons :

$$P = \frac{1}{2} \sigma_2 I^2 \quad \text{équation-5}$$

Des estimations numériques ont montré que les valeurs de σ_2 sont de l'ordre de 10^{-48} $\text{cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photon}^{-1}$. Pour simplifier la lecture d'un tel chiffre et pour rendre hommage à Maria Göppert-Mayer, on utilise ses initiales GM comme unité de σ_2 où $1 \text{ GM} = 10^{-50} \text{ cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photon}^{-1}$. Il faut noter que la section efficace d'absorption à deux photons σ_2 est proportionnelle à la partie imaginaire des termes diagonaux de l'hyperpolarisabilité cubique γ_I :

$$\sigma_2(\omega) = \frac{4\pi^2 \hbar \omega^2}{n^2 c^2} \langle \gamma_I^* \rangle \quad \text{équation-6}$$

où $\gamma_I = \text{Im}(\gamma) \equiv \text{Im}(\gamma_{xxxx}(-\omega; \omega, \omega, -\omega))$, n est l'indice de réfraction du milieu, ω est la pulsation de la lumière incidente (liée à la fréquence par la relation $\omega = 2\pi\nu$), c la célérité de la lumière, et sur la moyenne de toutes les orientations possibles de la molécule. A titre d'exemple pour une molécule unidimensionnelle (1D) $\langle \gamma \rangle = \gamma/5$.^{6,7}

I.B. LA SECTION EFFICACE D'ADP

I.B.1. INGENIERIE MOLECULAIRE DE LA SECTION EFFICACE D'ADP

L'étude de la section efficace d'ADP des molécules organiques a considérablement attiré l'attention ces dernières années, vu les nombreuses applications potentielles de l'absorption à deux photons. Les travaux de recherche dans ce domaine consistent à développer des stratégies d'ingénierie moléculaire afin de d'obtenir de nouveaux matériaux possédant une large section efficace d'ADP. Dans ce contexte, plusieurs classes de chromophores ADP ont été étudiées aussi bien théoriquement qu'expérimentalement. Ces études concernent des molécules constituées de

⁶ Moreno, J. P., Kuzyk, M. G., *J. Chem. Phys.*, **2005**, 123, 194101-194113.

⁷ M. G. Kuzyk, *J. Chem. Phys.*, **2003**, 119, 8327-8334.

groupements électrodonneur (D) et électroaccepteur (A) incorporés dans des systèmes conjugués (π) pour former des chromophores de structure D- π -D, A- π -A, D- π -A- π -D ou A- π -D- π -A. (Figure 6).^{8,9,10,11}

Les travaux réalisés par Marder, Perry, Webb *et al.*⁸ en ingénierie moléculaire de molécules organiques à large section efficace d'ADP, ont montré que les molécules quadrupolaires D- π -A- π -D et A- π -D- π -A ont des valeurs de σ_2 beaucoup plus élevées que celles des systèmes D- π -D et A- π -A respectivement.¹² De plus, l'augmentation de la longueur de conjugaison de la molécule, ou l'augmentation du transfert d'électrons entre les parties périphériques de la molécule et son centre, ou *vice versa*, entraînent une forte augmentation de la valeur de la section efficace d'ADP et un déplacement vers les grandes longueurs d'onde de la bande d'absorption à deux photons, par rapport aux molécules courtes comme le *E*-stilbène.

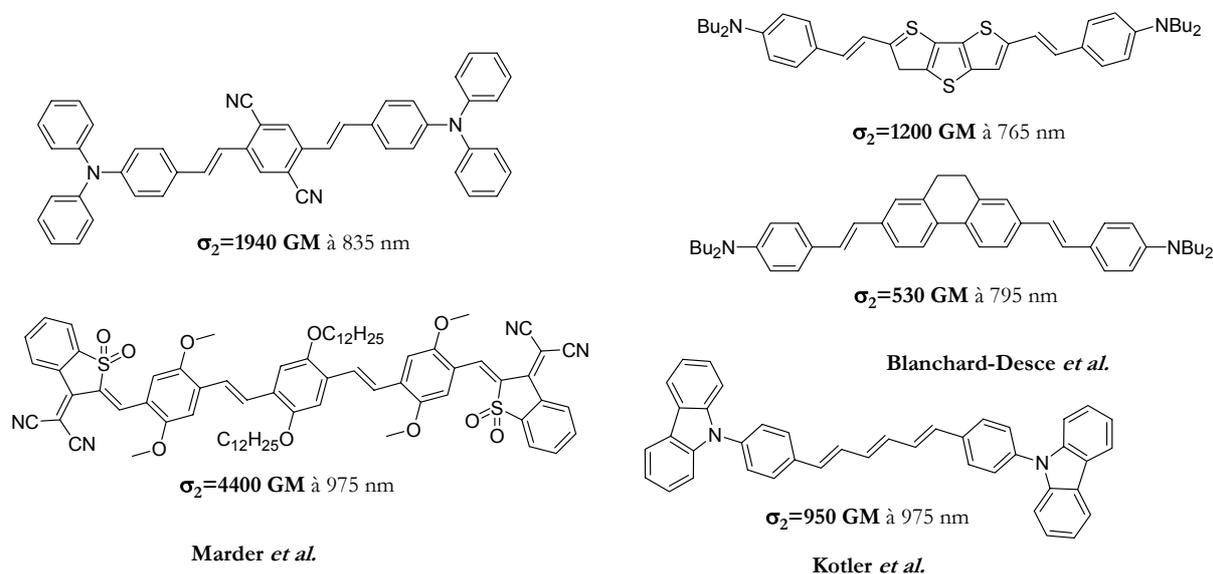


Figure 6 : Chromophores ADP comportant des groupements donneur et accepteur incorporés dans divers systèmes conjugués.

⁸ Albota, M., Beljonne, D., Bredas, J. L., Ehrlich, J. E., Fu, J. Y., Heikel, A. A., Hess, S. E., Kogej, T., Levin, M. D., Marder, S. R., McCord- Maughon, D., Perry, J. W., Rockel, H., Rumi, M., Subramaniam, G., Webb, W. W., Wu, X. L., Xu, C., *Science*, **1998**, 281, 1653-1656.

⁹ Rumi, M., Ehrlich, J. E., Heikal, A. A., Perry, J. W., Barlow, S., Hu, Z., McCord-Maughon, D., Parker, T. C., Rockel, H., Thayumanavan, S., Marder, S. R., Beljonne, D., bredas, J. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 9500-9510.

¹⁰ Ventelon, L., Moreaux, L., Mertz, J., Blanchard-Desce, M., *Chem. Commun.*, **1999**, 2055-2056.

¹¹ Zojer, E., Beljonne, D., kogej, T., Vogel, H., Marder, S. R., Perry, J. W., Bredas, J. L., *J. Chem. Phys.*, **2002**, 116, 3646.

¹² Kotler, Z., Segal, J., Sigalov, M., Ben-Asuly, A., Khodorkovsky, V., *Synth. Met.*, **2000**, 115, 269-273.

Des chromophores basés sur les systèmes bifluorényles¹³ ou polyfluorényles,¹⁴ des molécules octupolaires,¹⁵ des structures multibranchées,¹⁶ et enfin des systèmes dendritiques ont aussi été étudiés (**Figure 7**).¹⁷ Les systèmes dendritiques synthétisés par Prasad *et al.* sont une nouvelle classe des matériaux ADP basés sur un centre constitué d'un groupement dithiényothiophène (DTT).¹⁷

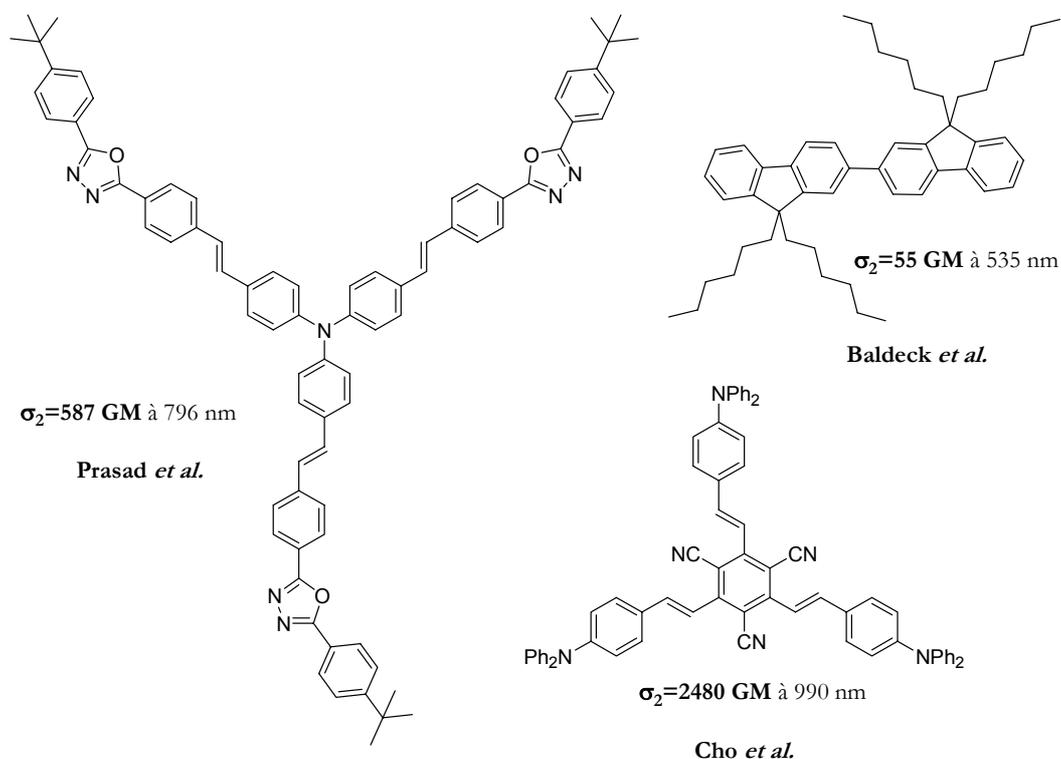


Figure 7 : Chromophores ADP comportant des groupements donneur et accepteur incorporés dans des systèmes fluorényles, octupolaires, ou multibranchés.

La section efficace de ces matériaux est d'un ordre de grandeur plus élevé que celle des matériaux basés sur un centre fluorényle, ce qui indique que le centre joue un rôle essentiel dans la détermination de l'activité ADP de ces matériaux. De plus, la section efficace σ_2 augmente d'une façon linéaire avec l'augmentation de nombre de groupements DTT par molécule.

¹³ Morel, Y; Irimia, A; Najechalski, P; Kervella, Y; Stephan, O; Baldeck, P. L, Andruad, C., *J. Chem. Phys.*, **2001**, 114, 5391-5396.

¹⁴ Najechalski, P.; Morel, Y.; Stephan, O.; Baldeck, P. L., *Chem. Phys. Lett.*, **2001**, 343, 44-48.

¹⁵ Cho, B. R.; Son, K. H.; Lee, S. H.; Song, Y. S.; Lee, Y. K.; Lee, S. J.; Choi, J. H.; Lee, H.; Cho, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 10039-10045.

¹⁶ Beljonne, D; Wenselers, W; Zojer, E; Shuai, Z; Vogel, H, Pond, S. J. K; Perry, J. W; Marder, S. R; Bredas, J. L., *Adv. Funct. Mater.*, **2002**, 12, 631-641.

¹⁷ Chung, S. J; Kim, K. S; Lin, T. C; He, G. S; Swiatkiewicz, J; Prasad, P. N., *J. Phys. Chem. B*, **1999**, 103, 10741-10745.

Reinhardt *et al.* ont montré que la planéité du système conjugué avait une grande importance dans la valeur de la section efficace d'ADP, dans une molécule constituée d'un groupement donneur et un autre accepteur reliés à un fluorène central.¹⁸

D'autre part, des calculs théoriques permettent une comparaison avec les mesures expérimentales de la section efficace d'ADP sur un grand nombre de molécules organiques. En effet, il existe une variété d'approches informatiques pour modéliser la section efficace d'ADP comme le modèle de Hückel, les méthodes semi-empiriques (MOPAC) et les méthodes dites « *ab initio* ». ^{8,19,20,21,22,23}

I.B.2. DETERMINATION EXPERIMENTALE DE LA SECTION EFFICACE D'ADP

La mesure expérimentale de la section efficace d'ADP par différentes techniques est connue depuis plus de vingt ans.^{24,25} Les mesures directes sont en général difficiles, car seulement une petite fraction de photons est absorbée pendant le processus d'absorption à deux photons. Les deux méthodes les plus utilisées pour les mesures expérimentales de σ_2 sont la méthode de Z-Scan²⁶ et la méthode de fluorescence par excitation à deux photons.²⁷

I.B.2.a. La méthode Z-Scan

La méthode Z-scan est utilisée pour déterminer le coefficient d'absorption non linéaire β de façon précise : on fait déplacer l'échantillon dans le plan focal d'un faisceau Gaussien focalisé, en mesurant le changement de l'intensité du faisceau réfracté (**Figure 8**).

¹⁸ Reinhardt, A. B. Brott, L. L., Clarson, J. S., Dillard, G. A., Bhatt, J. C., Kannan, R., Yuan, L., He, G. S., Prasad, P. N., *Chem. Mater.*, **1998**, 10, 1863.

¹⁹ McWilliams, P. C. M., Hayden, G. W., Soos, Z. G., *Phys. Rev. B*, **1991**, 43, 9777.

²⁰ Soos, Z. G., Ramasesha, S., *Phys. Rev. B*, **1984**, 29, 5410.

²¹ Anderson, R. J., Holtorn, G. R., McClain, W. M., *J. Chem. Phys.*, **1979**, 70, 4310.

²² Fahlman, M., Bredas, J. L., *Synth. Met.*, **1996**, 78, 39.

²³ Martsen, J. H. F., Bradley, D. D. C., Burn, P. L., Burroughes, J. H., Friend, R. H., Holmes, A. B., Marseglia, E. A., *Synth. Met.*, **1991**, 41, 301.

²⁴ Twarowski, A. J., Kliger, D. S., *Chem. Phys.*, **1977**, 20, 259-264.

²⁵ Hermann, J. P., Ducuing, J., *J. Phys. Rev. A*, **1972**, 5, 2557-2568.

²⁶ Sheik-Bahae, M., Said, A. A., Wei, T., Hagan, D., Van Stryland, E. W., *IEEE J. Quantum Electron.*, **1990**, 26, 760-769.

²⁷ Xu, C., Webb, W. W., *J. Opt. Soc. Am. B*, **1996**, 13 (3), 481-491.

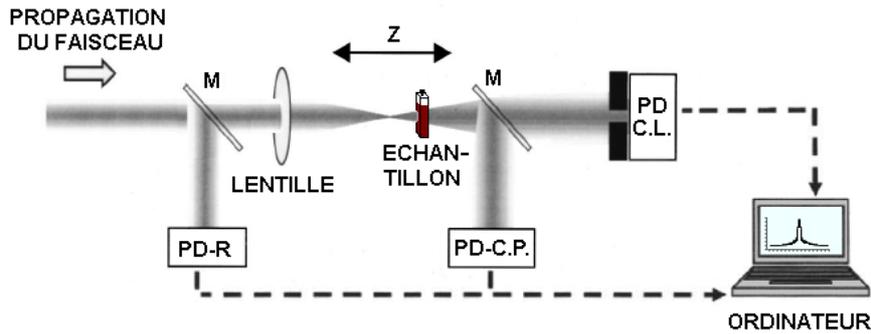


Figure 8 : Montage expérimental utilisé dans la méthode Z-scan. PD-R est le photo-détecteur référence, PD-C.P. est le photo-détecteur du champ proche, PD-C.L. est le photo-détecteur du champ lointain et M est le miroir.

Plusieurs sources laser peuvent être utilisées pour cette technique. Ces sources laser se différencient par la durée de l'impulsion (picoseconde,^{28,29} nanoseconde²⁹ et femtoseconde^{30,31}) ou par les longueurs d'onde d'émission: monochromatique (750 nm,³¹ 775 nm,³³ 1064 nm,³²...) ou polychromatique (comme la méthode Z-scan utilisant un continuum de lumière-blanche « *white-light continuum Z-scan*, WLC Z-scan »^{33,34}). Cette dernière technique (WLC Z-scan) est plus avantageuse que la méthode Z-scan classique, car elle est plus rapide à cause de l'utilisation d'une source à large bande qui entraîne une multiplicité des longueurs d'ondes. La mesure d'un seul spectre ADP prend 3 minutes pour une énergie donnée de la source WLC. De plus, le spectre ADP obtenu présente une bonne résolution spectrale.³³

Dans le cas d'une absorption non-linéaire, le champ lumineux dépend de l'intensité lumineuse. Cette dépendance est exprimée par $\alpha = \alpha_0 + \beta I$, où I est l'intensité du laser et α_0 est le coefficient d'absorption à un photon. Le coefficient β peut être ensuite déterminé par la mesure du changement de la transmittance à chaque fois que l'échantillon est scanné dans le plan focal. En absence de résonance, comme c'est le cas pour le phénomène de l'absorption à deux photons, le changement de la puissance transmise est intégré en temps infini pour donner l'énergie de transmission normalisée, suivant l'impulsion Gaussienne temporelle :

²⁸ Marcano O., A., Maillotte, H., Gindre, D., Métin, D., *Optics Letters*, **1996**, 21 (2), 101-103.

²⁹ Ryasnyansky, A., Palpant, B., Debrus, S., Ganeev, R., Stepanov, A., Can, N., Buchal, C., Uysal, S., *Appl. Opt.*, **2005**, 44 (14), 2839-2845.

³⁰ Silva, D. L., Guedes, I., Zilio, S. C., Misoguti, L., Mendonça, C. R., *J. Appl. Phys.*, **2005**, 98, 083521-1/083521-4.

³¹ Kyoung, M., Lee, M., *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2000**, 21 (1), 26-28.

³² Debrus, S., Lafait, J., May, M., Pinçon, N., Prot, D., Sella, C., Venturini, J., *J. Appl. Phys.*, **2000**, 88 (5), 4469-4475.

³³ Oliveira, S. L., Corrêa, D. S., De Boni, L., Misoguti, L., Zilio, S. C., Mendonça, C. R., *Appl. Phys. Lett.*, **2006**, 88, 021911-1/021911-3.

³⁴ Negres, R. A., Hales, J. M., Kobayakov, A., Hagan, D. J., Van Stryland, E. W., *Optics Letters*, **2002**, 27 (4), 270-272.

$$T = \frac{1}{\sqrt{\pi q_0(z,0)}} \int_{-\infty}^{+\infty} \ln[1 + q_0(z,0)e^{-\tau^2}] d\tau \quad \text{équation-1}$$

où $q_0(z,0) = \beta I_0(t) L(1+z^2/z_0^2)^{-1}$, L est l'épaisseur de l'échantillon, z_0 est la longueur de Rayleigh, z est la position de l'échantillon dans le plan focal, et I_0 est l'intensité incidente du pulse. Le coefficient non-linéaire β est obtenu à partir de l'équation-1.²⁶ La section efficace d'ADP peut être finalement déterminée par l'équation-2:

$$\sigma_2 = \frac{h\nu\beta}{N} \quad \text{équation-2}$$

où $h\nu$ est l'énergie du photon absorbé et N est le nombre de molécules par cm^3 .^{3,37}

La méthode Z-scan est souvent utilisée pour déterminer la section efficace d'ADP ou les paramètres optiques non-linéaires des polymères,³⁵ complexes métalliques,³⁶ matériaux organiques,³⁷ nanocomposites Or:Silice,³² nanoparticules,^{31,29} cristaux liquides,^{38,39} Les avantages de cette technique résultent de la détermination, en un seul scan, du coefficient d'absorption non-linéaire β , ainsi que de la section efficace d'ADP. De plus la détermination de σ_2 sur des espèces non luminescentes demeure possible.

I.B.2.b. La méthode de fluorescence par excitation à deux photons

En 1995, Fisher *et al.* ont rapporté des spectres d'absorption à deux photons pour des coumarines et xanthenes en utilisant la méthode de fluorescence par excitation à deux photons.⁴⁰ La même année, Webb, Denk *et al.* ont introduit une amélioration remarquable à cette technique pour décrire pour la première fois les spectres d'ADP des colorants souvent utilisés en absorption à deux photons. Cet article est devenu une référence mondiale pour les mesures effectuées par différentes équipes de recherche.⁴¹ Comme il a été mentionné auparavant, la mesure directe de la section efficace d'ADP (σ_2) est généralement difficile, car seulement une petite fraction des photons est absorbée dans le processus à deux photons. La fluorescence par excitation à deux photons est une bonne approche pour déterminer la section efficace

³⁵ Shettigar, S., Chandrasekharan, K., Umesh, G., Sarojini, B.K., Narayana, B., *Polymer*, **2006**, 47, 3565-3567.

³⁶ Li, S. -L., Wu, J. -Y., Tian, Y. -P., Tang, Y. -W., Jiang, M. -H., Fun, H. K., Chantrapromma, S., *Optical Materials*, **2006**, 28, 897-903.

³⁷ Corre, D. S., Oliveira, S. L., Misoguti, L., Zilio, S. C., Aroca, R. F., Constantino, C. J. L., Mendonc, C. R., *J. Phys. Chem. A*, **2006**, 110, 6433-6438.

³⁸ Gómez, S.L., Cuppo, F.L.S., Figueiredo Neto, A.M., *Brazilian Journal of Physics*, **2003**, 33 (4), 813-819.

³⁹ Ying-Guey. Fuh, A., Lin, H.-C., Mo, T.-S., Chen, C.-H., *Optics Express*, **2005**, 13 (26), 10634-10640.

⁴⁰ Fischer, A., Cremer, C., Stelzer, E. H., *Appl. Opt.*, **1995**, 34 (12), 1989-2003.

⁴¹ Xu, C., Guild, J., Webb, W. W., Denk, W., *Optics Letters*, **1995**, 20 (23), 2372-2374.

d'excitation à deux photons (σ_{2PE}), à condition que le matériau étudié soit fluorescent avec un rendement quantique de fluorescence (ϕ) connu. Le montage expérimental simplifié est présenté dans la **Figure 9**.

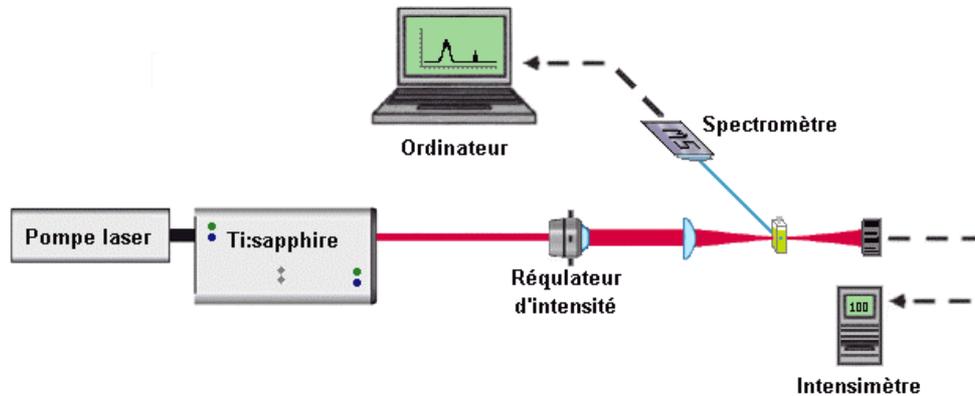


Figure 9 : Montage expérimental utilisé dans la méthode de fluorescence par excitation à deux photons.

La source d'excitation est un laser mode-locked Titane-Saphire délivrant des impulsions de quelques dizaines de femtosecondes (typiquement 150 fs), avec un taux de répétition voisin de 100MHz, pour la région spectrale 700-1050nm. L'échantillon est placé dans une cuve à fluorescence, de telle façon qu'elle englobe le point focal du système optique. La fluorescence est collectée par une fibre optique, placée à un angle de 90° par rapport au faisceau laser, vers un spectromètre relié à un ordinateur qui affiche le spectre d'émission. Comme il est difficile de déterminer tous les paramètres expérimentaux mis en jeu dans cette technique, on utilise un colorant de référence dont on connaît le spectre d'absorption à deux photons ainsi que le rendement quantique de fluorescence (ϕ). Ainsi, la section efficace d'absorption à deux photons peut être déterminée d'une façon indirecte en mesurant le signal de fluorescence par excitation à deux photons. De ce signal de fluorescence, on peut déterminer la section efficace d'excitation à deux photons notée σ_{2PE} . Cette valeur est proportionnelle à la section efficace d'ADP (σ_2) avec une constante de proportionnalité qui est le rendement quantique de fluorescence (ϕ) du fluorophore :

$$\sigma_{2PE} = \phi \sigma_2 \quad \text{équation-3}$$

Le nombre de photons absorbés par un processus à deux photons N dans le volume du point focal (de l'ordre du femtolitre) d'une illumination fortement focalisée est relié au nombre de photons de fluorescence F collectés par l'appareil expérimental :

$$F = \frac{1}{2} \kappa \phi N \quad \text{équation-4}$$

où κ est l'efficacité du détecteur utilisé. L'introduction du facteur 1/2 est due au fait que deux photons sont absorbés quand le fluorophore est excité. La quantité mesurée expérimentalement est la valeur moyenne du nombre de photons de fluorescence $\langle F \rangle$. Le développement de l'équation-2⁴² fait intervenir un paramètre K , qui inclut la fonction κ et comprend aussi des paramètres expérimentaux tels que la puissance moyenne de la source laser (en photon.s⁻¹) et la longueur d'onde d'excitation (en cm) :

$$\langle F \rangle = \frac{1}{2} K C n \phi \sigma_2 \quad \text{équation-5}$$

où C est la concentration de la solution de colorant et n est l'indice de réfraction du solvant utilisé. La détermination expérimentale de K est une tâche ardue. Pour éviter les complications lors de cette mesure, on utilise un produit de calibration standard utilisé comme référence, ayant une section efficace ADP σ_{2PE} et un spectre d'excitation à deux photons connus. Après avoir calibré le signal de fluorescence du nouveau fluorophore par le signal de fluorescence de la référence, le rapport entre ces deux signaux détermine la section efficace du nouveau fluorophore. Pour une longueur d'onde d'excitation donnée, K est le même pour la référence et le fluorophore étudié, donc le rapport des signaux de fluorescence mesurés donne :

$$\frac{\langle F \rangle_{Ref}}{\langle F \rangle_{Mes}} = \frac{\phi_{Ref} C_{Ref} \sigma_{2Ref} n_{Ref}}{\phi_{Mes} C_{Mes} \sigma_{2Mes} n_{Mes}} \quad \text{équation-6}$$

où les indices Ref et Mes des différents paramètres correspondent à la référence et au fluorophore mesurés respectivement. Après la détermination de tous ces paramètres indépendants du montage expérimental utilisé, la section efficace d'absorption à deux photons issue de l'équation-6 peut être calculée par l'équation-7 suivante :⁴³

$$\sigma_{2Mes} = \frac{\phi_{Ref} C_{Ref} \sigma_{2Ref} n_{Ref} \langle F \rangle_{Mes}}{\phi_{Mes} C_{Mes} n_{Mes} \langle F \rangle_{Ref}} \quad \text{équation-7}$$

Finalement, cette méthode présente une sensibilité beaucoup plus importante que celles des autres méthodes comme la méthode Z-scan,²⁶ la méthode Thermal blooming,⁴⁴ et la méthode décrite par Hermann en 1972.⁴⁵

⁴² Xu, C., Webb, W. W., *J. Opt. Soc. Am. B*, **1996**, 13, 481-491.

⁴³ Albota, M. A., Xu, C., Webb, W. W., *Appl. Optics*, **1998**, 37 (31), 7352-7356.

⁴⁴ Twarowski, A. J., Klinger, D. S., *Chem. Phys.*, **1977**, 20, 259-264.

⁴⁵ Hermann, J. P., Ducuing, J., *Phys. Rev. A*, **1972**, 5, 2557-2568.

I.C. APPLICATIONS DE L'ABSORPTION A DEUX PHOTONS

L'absorption à deux photons permet l'excitation d'une molécule dans une zone spatiale fine. Ce contrôle 3D de l'excitation résulte du fait que l'intensité du faisceau laser focalisé diminue d'une façon quadratique avec l'éloignement du plan focal. Comme la probabilité de l'absorption à deux photons est proportionnelle au carré de l'intensité lumineuse, l'absorption à deux photons devient négligeable dans les plans situés au-dessus et au-dessous du plan focal.

Plusieurs tentatives pour utiliser le phénomène de l'absorption à deux photons pour des applications diverses n'ont pas abouti à cause des chromophores utilisés, car ces derniers avaient souvent été spécifiquement développés pour l'excitation à un photon, et ils présentaient une trop faible efficacité en absorption à deux photons (faible σ_2). Le développement de nouvelles molécules à large σ_2 a diminué le besoin de sources laser très puissantes, ce qui a ensuite rendu les applications de l'ADP plus fiables et économiquement réalisables. Donc, les molécules à large section efficace à deux photons sont désormais très demandées pour les applications comme la microfabrication 3D, la limitation optique, la thérapie photodynamique, la microscopie de fluorescence par excitation à deux photons, etc

I.C.1. LA MICROFABRICATION 3D

La photopolymérisation induite par l'absorption à deux photons est une technique très prometteuse pour la fabrication des microstructures tridimensionnelles.^{46,47} Ainsi, cette technique a permis plusieurs applications comme la fabrication des micro-dispositifs photoniques,⁴⁸ le stockage de données,⁴⁹ des micro-machines,⁵⁰ etc...

La génération de radicaux par irradiation laser d'un photoinitiateur déclenche la polymérisation des monomères voisins dans un volume très étroit de l'ordre de 1 voxel (volume élémentaire tridimensionnel d'environ $1 \mu\text{m}^3$); ceci est dû à la propriété fondamentale du phénomène d'ADP : $P \propto I^2$. La photopolymérisation s'achève rapidement par combinaison de deux chaînes radicalaires (**Figure 10**).

⁴⁶ Maruo, S., Nakamura, O., Kawata, S., *Opt. Lett.*, **1997**, 22 (2), 132-134.

⁴⁷ Kewitsch, A. S., Yariv, A., *Opt. Lett.*, **1996**, 21, 24-26

⁴⁸ Sun, H.-B., Matsuo, S., Misawa, H. *Appl. Phys. Lett.*, **1999**, 74, 786-788.

⁴⁹ Cumpston, B. H., Ananthavel, S. P., Barlow, S., Dyer, D. L., Ehrlich, J. E., Erskine, L. L., Heikal, A. A., Kuebler, S. M., Lee, I.-Y. S., Mccord-Maughon, D., Qin, J., Röckel, H., Rumi, M., Wu, X. -L., Marder, S. R., Perry, J. W., *Nature*, **1999**, 398, 51-54.

⁵⁰ Galajda, P., Ormos, P., *Appl. Phys. Lett.*, **2001**, 78, 249.

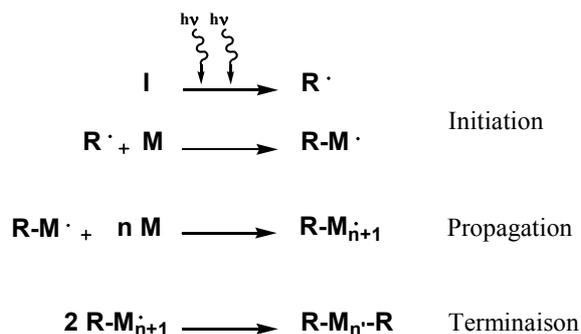


Figure 10 Réaction photochimique de la microfabrication à deux photons. **I** est l'initiateur, **R**· est le radical libre, **M** est le monomère, **R-M**· est la chaîne radicalaire, **R-M_n-R** est le polymère.

La sensibilité de la photopolymérisation dépend de celle du photoinitiateur utilisé. Kawata *et al.* ont utilisé un photoinitiateur efficace dans l'UV pour fabriquer des microstructures à partir de monomères et d'oligomères d'acrylate d'uréthane.^{46,51} L'exposition de la résine à un faisceau laser de forte puissance et pendant longtemps était nécessaire à cause de la très faible section efficace d'ADP des photoinitiateurs commerciaux utilisés. Pour résoudre ce problème, Andraud *et al.* ont élaboré une série de photoinitiateurs à large section efficace d'ADP. Ce sont des chromophores basés sur une structure dérivée de celle de la cétone de Michler⁵² : symétrique D- π -D pour le visible et D- π -A- π -D pour l'infrarouge (où D est un groupement électro-donneur, π est un système conjugué et A est le motif carbonyle qui joue le rôle de groupement électroaccepteur). De plus ces chromophores sont efficaces pour la limitation optique dans le visible (**Figure 11**).⁵³ D'autres séries de chromophores efficaces à deux photons pour la microfabrication 3D, ainsi que pour le stockage optique des données ont été décrits par Marder *et al.* (**Figure 11**).⁴⁹

⁵¹ Kawata, S., Sun, H.-B., Tanaka, T., Takada, K., *Nature*, **2001**, 412, 697-698.

⁵² La cétone de Michler est un photoinitiateur commercial pour la région ultraviolette.

⁵³ G. Lemerrier, J.-C. Mulatier, C. Martineau, R. Anémian, C. Andraud., I. Wang, O. Stéphane, N. Amari, P. Baldeck, *C. R. Chimie*, **2005**, 8, 1308-1316.

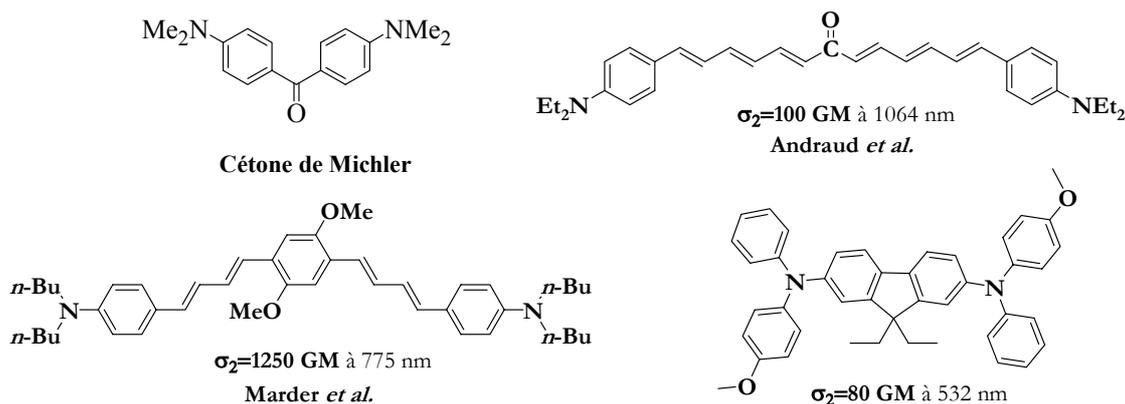


Figure 11 Structures moléculaires de photoinitiateurs efficaces à deux photons.

Le montage expérimental pour mettre en oeuvre cette technique est basé sur une source laser (délivrant des impulsions nano ou femtoseconde), des dispositifs optiques (lentilles, miroirs, ...), et d'une platine de translation piézoélectrique (**Figure 12**).

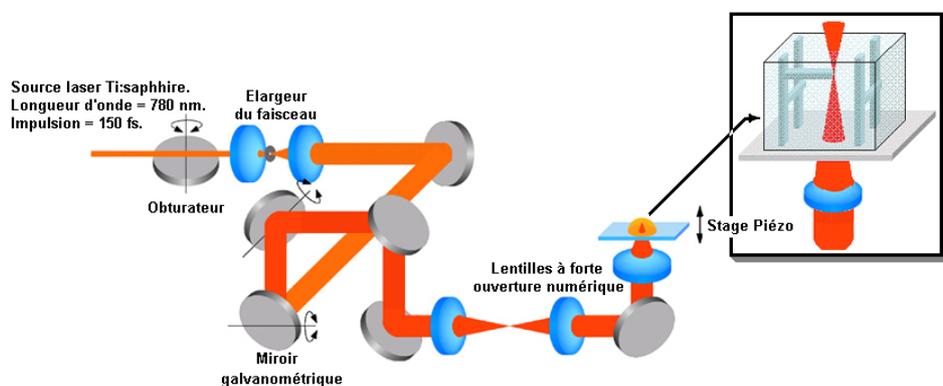


Figure 12 Schéma du montage expérimental utilisé pour la microfabrication 3D.

La résine photopolymérisable est placée dans un cube posé sur la platine de translation piézoélectrique. Le point focal du système optique se déplace dans le cube à l'aide des miroirs galvanométriques qui modifient le trajet du faisceau laser suivant la forme de la microstructure visée. De cette façon, plusieurs équipes de recherche ont élaboré des microstructures artisanales plus ou moins originales pour montrer le potentiel de la photopolymérisation à deux photons. Parmi ces microstructures, au delà des micro taureaux de Kawata, dont les photos ont fait le tour du monde en 2001, citons par exemple le micro-penseur de Rodin réalisé par Lee *et al.*. Les auteurs ont montré la possibilité de réaliser des micro-objets à haute résolution en reproduisant la musculature apparaissant dans l'oeuvre de Rodin (**Figure 13**).^{54,55,56}

⁵⁴ http://canesm1.kaist.ac.kr/Research_nano.asp

⁵⁵ Lee, K. -S., Yang, D. -Y., Park, S. H., Kim, R. H., *Polym. Adv. Technol.*, **2006**, 17, 72-82.

⁵⁶ Park, S. H., Lee, S. H., Yang, D. -Y., Kong, H. J., Lee, K. -S., *Appl. Phys. Lett.*, **2005**, 87, 154108-1/154108-3.



Figure 13 Micro-modèle du penseur de Rodin.

De la même façon, Straub a fabriqué un micro-modèle de l'opéra de Sydney en photopolymérisant à deux photons un monomère siloxane (**Figure 14**).^{57,58}



Figure 14 Micro-modèle de l'opéra de Sydney fabriqué en polysiloxane par photopolymérisation à deux photons.

La photopolymérisation à deux photons permet donc de fabriquer des objets de l'ordre de grandeur des globules rouges humains ($\sim 7 \mu\text{m}$). Ainsi, ces micro-objets présentent un intérêt biologique potentiel, car ils peuvent pénétrer dans les petits vaisseaux sanguins pour servir par exemple de transporteurs de certaines drogues.⁵¹

I.C.2. LA LIMITATION OPTIQUE

Le développement important des lasers de puissance a entraîné une demande croissante pour la protection des senseurs optiques, notamment de l'œil humain, contre une telle lumière intense pour différentes longueurs d'onde et différents types d'impulsions. Un des principes de base pour une telle protection est de fournir une transmission élevée à des lumières de basse intensité et de

⁵⁷ <http://www.swin.edu.au/bioscieleceng/soll/cmp/projects.html>

⁵⁸ Wu, S., Straub, M., Gu, M., *Polymer*, **2005**, 46, 10246-10255.

réduire significativement la transmission à fortes intensités, de sorte qu'aucun dommage ne se produise sur le système optique protégé (l'œil, caméra CCD, ...). Ce concept a été proposé pour la première fois en 1965 par Gorden *et al.*⁵⁹ et Leite *et al.*⁶⁰ (**Figure 15**).

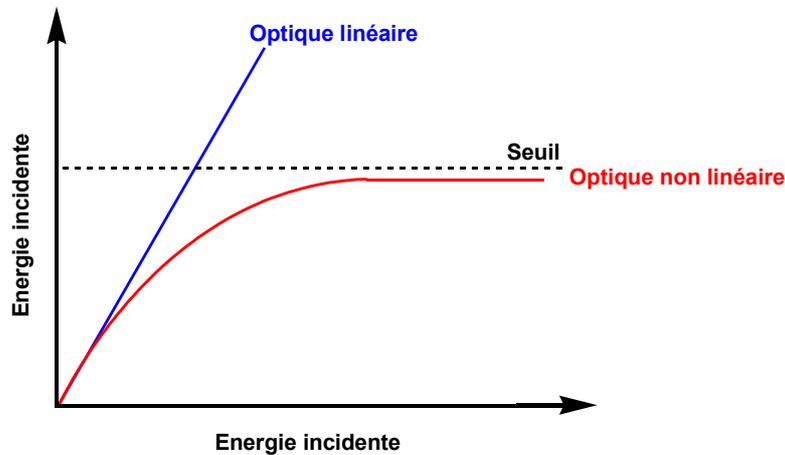


Figure 15 Evolution de la transmission en fonction de l'énergie lumineuse.

Le challenge consiste à élaborer des systèmes qui soient transparents dans le visible pour ne pas empêcher la fonction de détection, et qui deviennent très absorbants sous une irradiation laser très intense. Le temps de réponse du matériau utilisé doit être rapide. La recherche de matériaux pour la limitation optique repose principalement actuellement sur trois phénomènes d'optique non-linéaire : l'absorption multiphotonique,⁶¹ l'absorption saturable inverse,⁶² et la réfraction non-linéaire.⁶³ Cependant, les matériaux absorbants multiphotoniques se sont révélés particulièrement intéressants pour la limitation optique en régime nanoseconde. L'efficacité du processus est basée sur la combinaison de l'absorption de deux photons et ensuite de l'absorption d'un troisième photon à l'état excité, pour les dérivés ayant une durée de vie de l'état excité dans le domaine de la nanoseconde. Ce phénomène ne pourrait pas avoir lieu en régime picoseconde ou femtoseconde.

⁵⁹ Gorden, J. P., Leite, R. C. C., Moore, R. S., Porto, S. P. S., Whinnery, J. R., *J. Appl. Phys.*, **1965**, 36, 3-8.

⁶⁰ Leite, R. C. C., Porto, S. P. S., Damen, T. C., *Appl. Phys. Lett.*, **1967**, 10, 100-101.

⁶¹ Perry, J. W., Barlow, S., Ehrlich, J. E., Heikal, A. A., Hu, Z. -Y., Lee, I. -Y. S., Mansour, K., Marder, S. R., Rockel, H., Rumi, M., Thayumanavan, S., Wu, X. L., *Nonlinear Opt.*, **1999**, 21, 225.

⁶² Shirk, J. S., Pong, R. G. S., Flom, S. R., Boyle, M. E., Snow, A. W., *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, **1995**, 374, 201.

⁶³ Vivien, L., Anglaret, E., Riehl, D., Bacou, F., Journet, C., Goze, C., Andrieux, M., Brunet, M., Lafonta, F., Bernier, P., Hache, F., *Chem. Phys. Lett.*, **1999**, 307, 317.

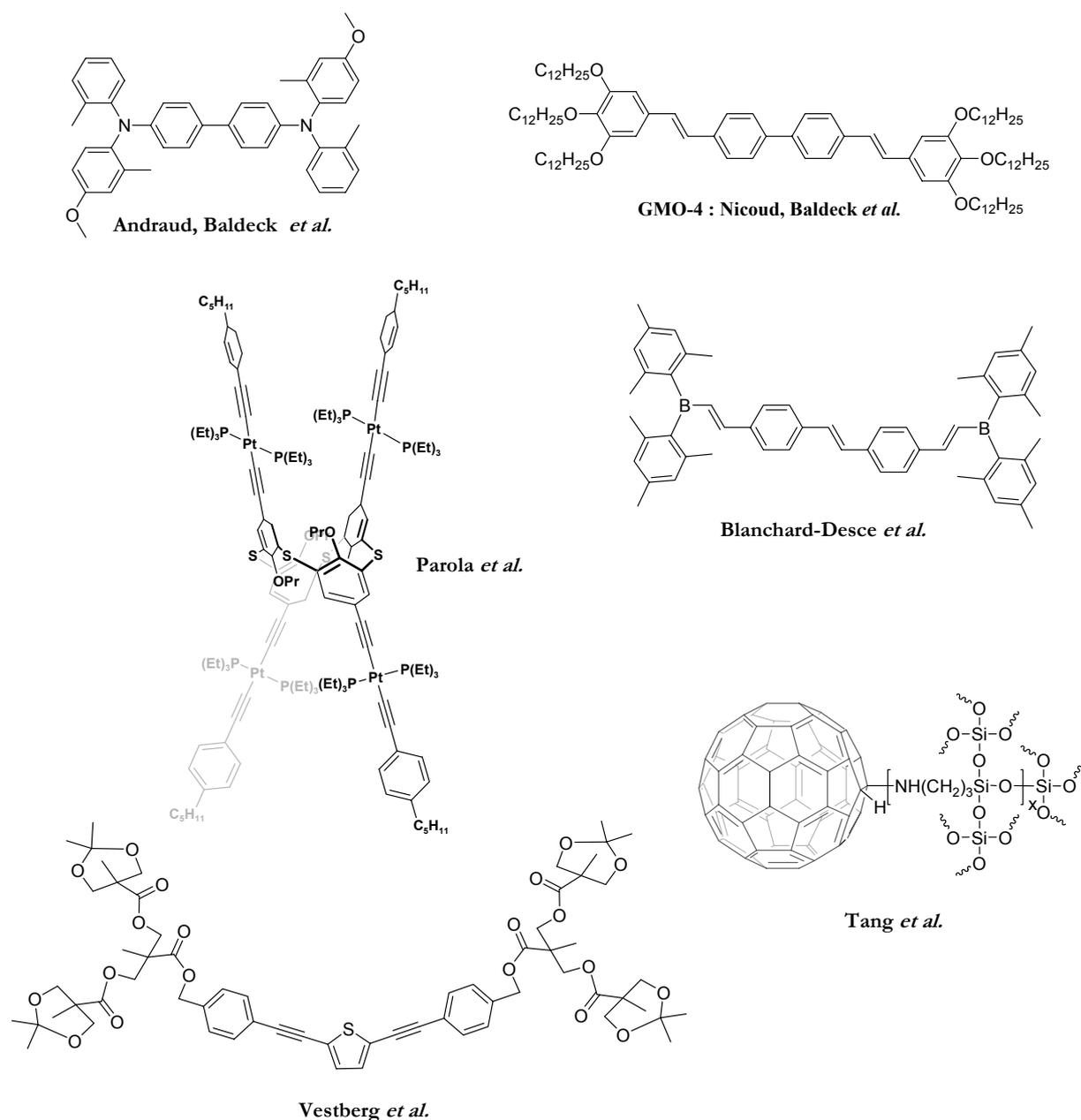


Figure 16 Exemples de chromophores utilisés dans des matériaux pour la limitation optique.

Ainsi, une variété de matériaux comme des fullerènes,⁶⁴ des composés organométalliques,³⁶ des semi-conducteurs,⁶⁵ des cristaux liquides,⁶⁶ des dendrimères,⁶⁷ des polymères,⁶⁸ des nano-

⁶⁴ Deng, L., Liu, H.-K., *Optical Engineering*, 2003, 42, No.10, 2936-2941.

⁶⁵ Walker, A. C., Kar, A. K., Wei, J., Keller, U., Smith, S. D., *Appl. Phys. Lett.*, **1986**, 48, 683-685.

⁶⁶ Khoo, I. C., Li, H., *Appl. Phys. B: Lasers Opt.*, **1994**, 59, 573-580.

⁶⁷ R. Vestberg, R. Westlund, A. Eriksson, C. Lopes, M. Carlsson, B. Eliasson, E. Glimsdal, M. Lindgren, E. Malmström, *Macromolecules*, **2006**, 39, 2238-2246.

⁶⁸ Morel, Y., Stephan, O., Arnaud, C., Baldeck, P. L., *Synthetic Metals*, **2001**, 124, 237-239.

cristaux⁶⁹ des dérivés de thiacalixarènes,^{70,71} ou une large variété des composés organiques ont été exploités pour protéger l'œil ou les senseurs optiques contre les agressions laser en large bande spectrale et dans une large zone temporelle (**Figure 16**).^{72,73} Ces matériaux ont été optimisés pour présenter une forte solubilité dans les solvants organiques,^{71,74} une transparence dans tout le visible, une large section efficace d'ADP, ainsi qu'une forte photo-stabilité vis à vis les intensités élevées du faisceau laser (faible photoblanchiment).

I.C.3. LA THERAPIE PHOTO-DYNAMIQUE

La thérapie photodynamique (TPD) est une technique qui agit par photodestruction sélective de lésions accessibles soit directement (cas de tumeurs cutanées) ou par endoscopie (système digestif, poumon, ORL, vessie). La TPD repose sur l'action d'un photosensibilisant (une prodrogue⁷⁵ par exemple) capable de produire une réaction photochimique après excitation lumineuse, le plus souvent à un photon actuellement, mais on explore de plus en plus la TPD à deux photons. Cette thérapie conduit à des processus photochimiques et photobiologiques qui causent un photodommage irréversible aux tissus tumoraux, mais elle n'est pas limitée aux traitements antitumoraux. Par exemple la « dégénérescence maculaire liée à l'âge » (DMLA), affection qui touche les yeux et qui est la principale cause de cécité chez les personnes de plus de 50ans, est désormais traitable par TPD. Dans ce cas la thérapie photodynamique a pour but de sceller les vaisseaux poreux à l'aide d'un laser en activant une drogue perfusée qui ne se dépose que dans les vaisseaux responsables de la perte de vision. La « verteporfine » (mélange de deux benzo-porphyrines isomères commercialisé sous le nom de Visudine[®]) est utilisée en TPD pour traiter la DMLA. Depuis 1993, la thérapie photodynamique des cancers est en constant développement. Elle est basée sur l'utilisation d'un composé partiellement purifié, un dérivé d'hématoporphyrine (Photofrin, HpD)⁷⁶ pour traiter des patients dans un état plus ou moins avancé du cancer.⁷⁷ Les traitements par TPD du cancer du poumon, du système digestif, et de la

⁶⁹ Sanz, N., Ibanez, A., Morel, Y., Baldeck, P. L., *Appl. Phys. Lett.*, **2001**, 78, No.17, 2569-2571.

⁷⁰ Desroches, C., Parola, S., Vocanson, F., Ehlinger, N., Miele, P., Lamartine, R., Bouix, J., Eriksson, A., Lindgren, M., Lopes, C., *J. Mater. Chem.*, **2001**, 11, 3014-3017.

⁷¹ Desroches, C., Lopes, C., Kessler, V., Parola, S., *Dalton Trans.*, **2003**, 2085-2092.

⁷² a) Lincker, F., Masson, P., Nicoud, J.-F., Didier, P., Guidoni, L., Bigot, J.-Y., *J. Nonlinear Opt. Phys. & Mat.*, **2005**, 14 (3), 319-329 ; b) Morel, Y., Thèse, 2001, Université Joseph Fourier, Grenoble.

⁷³ Charlot, M., Porrès, L., Entwistle, C. D., Beeby, A., Marder, T. B., Blanchard-Desce, M., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2005**, 7, 600-606.

⁷⁴ He, G. S., Helgeson, R., Lin, T.-C., Zheng, Q., Wudl F., Prasad, P. N., *IEEE J. Quantum Electron.*, **2003**, 39, 1003.

⁷⁵ Ce terme désigne toute molécule, destinée à un usage thérapeutique, qui doit subir une bio-transformation, après son administration à un organisme, pour qu'elle s'exerce son activité pharmacologique.

⁷⁶ Le Photofrin (drogue disponible commercialement) est un mélange de porphyrines fluorescentes présentes dans différents états ou des associations chimiques différentes extraites de l'hémoglobine.

⁷⁷ Lipson, R., Baldes, E., Olsen, A., *JNCI*, **1961**, 26, 1.

région génito-urinaire s'effectuent de nos jours dans des nombreux pays comme le Canada, les Pays Bas, la France, l'Allemagne, le Japon, et les Etats-Unis.⁷⁸

Deux mécanismes sont possibles pour la TPD, par lesquels l'état triplet du photosensibilisant peut réagir avec les biomolécules ; ces deux mécanismes sont appelés « réaction de type I » et « réaction de type II ». La réaction de type I implique un transfert d'électron directement du photosensibilisant en produisant des ions ou l'arrachement d'un électron d'un substrat moléculaire pour former des radicaux libres. Ces radicaux réagissent alors rapidement, avec le dioxygène, pour produire des espèces oxygénées fortement réactives (le superoxyde ou le peroxyde par exemple). La réaction de type II entraîne la production d'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), qui réagit rapidement avec des molécules biologiques, comme les lipides, les protéines, et les acides nucléiques (**Figure 17**).⁷⁹

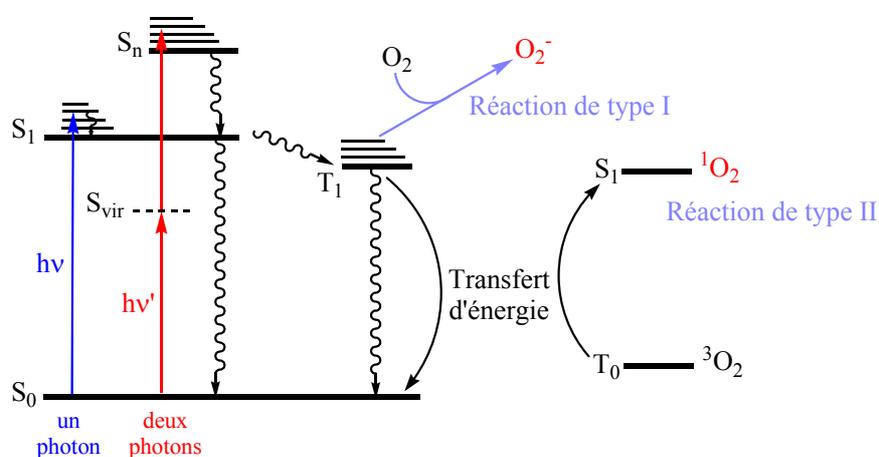


Figure 17 Diagramme d'états illustrant le mécanisme de génération d'oxygène singulet et d'espèces réactives oxygénées pour usages en thérapie photodynamique (TPD).

Il est difficile de distinguer entre les deux mécanismes (type I et type II). La plupart des photosensibilisants utilisés en TPD produisent de l'oxygène singulet, mais il est difficile de préciser si c'est la réaction de type II qui est le mécanisme dominant dans les cellules ou les tissus biologiques.^{78,80} Il y a certainement contribution des deux processus

L'excitation du photosensibilisant par absorption à un photon conduit à l'état excité singulet S_1 (transition $S_0 \rightarrow S_1$).⁸¹ Après excitation, il y a conversion intersystème singulet-triplet et la production d'oxygène singulet s'effectue par transfert d'énergie de l'état triplet T_1 du

⁷⁸ Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korbek, M., Moan, J., Peng, Q., *J. Natl. Cancer Inst.*, **1998**, *90*, 889-902.

⁷⁹ Moan, J., Berg, K., *Photochem. Photobiol.*, **1992**, *55*, 931-948.

⁸⁰ Weishaupt, K. R., Gomer, C. J., Dougherty, T. J., *Cancer Res.*, **1976**, *36*, 2326-2329.

⁸¹ Schweitzer, C., Schmidt, R., *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1685-1757.

photosensibilisant vers l'état triplet T_0 du dioxygène.⁸¹ Il a été démontré récemment que l'oxygène singulet peut être produit après excitation à deux photons du photosensibilisant.^{82,83} Dans ce cas, on atteint un état excité plus élevé S_n en passant par un état virtuel ($S_0 \rightarrow S_{\text{vir}} \rightarrow S_n$), suivant des règles de sélection qui ne sont plus les mêmes que celles de l'absorption à un photon (cela dépend de la symétrie du chromophore). Il y a ensuite relaxation vers l'état excité S_1 et conversion intersystème pour donner l'état triplet comme précédemment. Donc la TPD peut bénéficier des avantages de l'absorption à deux photons, comme une pénétration plus profonde dans les tissus biologiques grâce à l'utilisation d'une source laser infrarouge et la possibilité de viser sélectivement un plan d'excitation (plan focal) qui est la zone à traiter, sans affecter les tissus sains voisins.⁸⁴

L'utilisation du Photofrin présente plusieurs inconvénients comme sa complexité (c'est un mélange de plusieurs porphyrines), sa faible absorption dans la région rouge-infrarouge, et surtout le fait qu'il peut être retenu par la peau pour produire une photosensibilité cutanée.⁸⁵ Ceci a conduit au développement de nouveaux photosensibilisants. Les photosensibilisants idéaux sont chimiquement bien définis, non toxiques et présentent une importante sélectivité de localisation tumorale et une forte absorbance entre 600-900 nm pour obtenir une bonne pénétration tissulaire de la lumière (utilisation du laser IR). Ils doivent également posséder un bon rendement de production d'états triplets et pour la TPD à deux photons, une section efficace d'ADP élevée est aussi un facteur crucial.

Plusieurs photosensibilisants ont été optimisés spécifiquement pour la TPD à deux photons, comme ceux à base de porphyrine,^{86,87} ou différentes autres structures organiques biocompatibles (solubles dans l'eau par exemple).⁸⁸

⁸² Frederiksen, P. K., Jørgensen, M., Ogilby, P. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 1215-1221.

⁸³ Karotki, A., Drobizhev, M., Kruk, M., Spangler, C., Nickel, E., Mamardashvili, N., Rebane, A., *J. Opt. Soc. Am., B*, **2003**, 20, 321-332.

⁸⁴ Frederiksen, P. K., McIlroy, S. P., Nielsen, C. B., Nikolajsen, L., Skovsen, E., Jørgensen, M., Mikkelsen, K. V., Ogilby, P. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 255-269.

⁸⁵ Ochsner, M., *Arzneim.-Forsch.*, **1997**, 47, 1185-1194.

⁸⁶ Oar, M. A., Serin, J. M., Dichtel, W. R., Fréchet, J. M. J., Ohulchanskyy, T. Y., Prasad, P. N., *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 2267-2275.

⁸⁷ Morone, M., Beverina, L., Abbotto, A., Silvestri, F., Collini, E., Ferrante, C., Bozio, R., Pagani, G. A., *Org. Lett.*, sous presse.

⁸⁸ Frederiksen, P. K., McIlroy, S. P., Nielsen, C. B., Nikolajsen, L., Skovsen, E., Jørgensen, M., Mikkelsen, K. V., Ogilby, P. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 255-269.

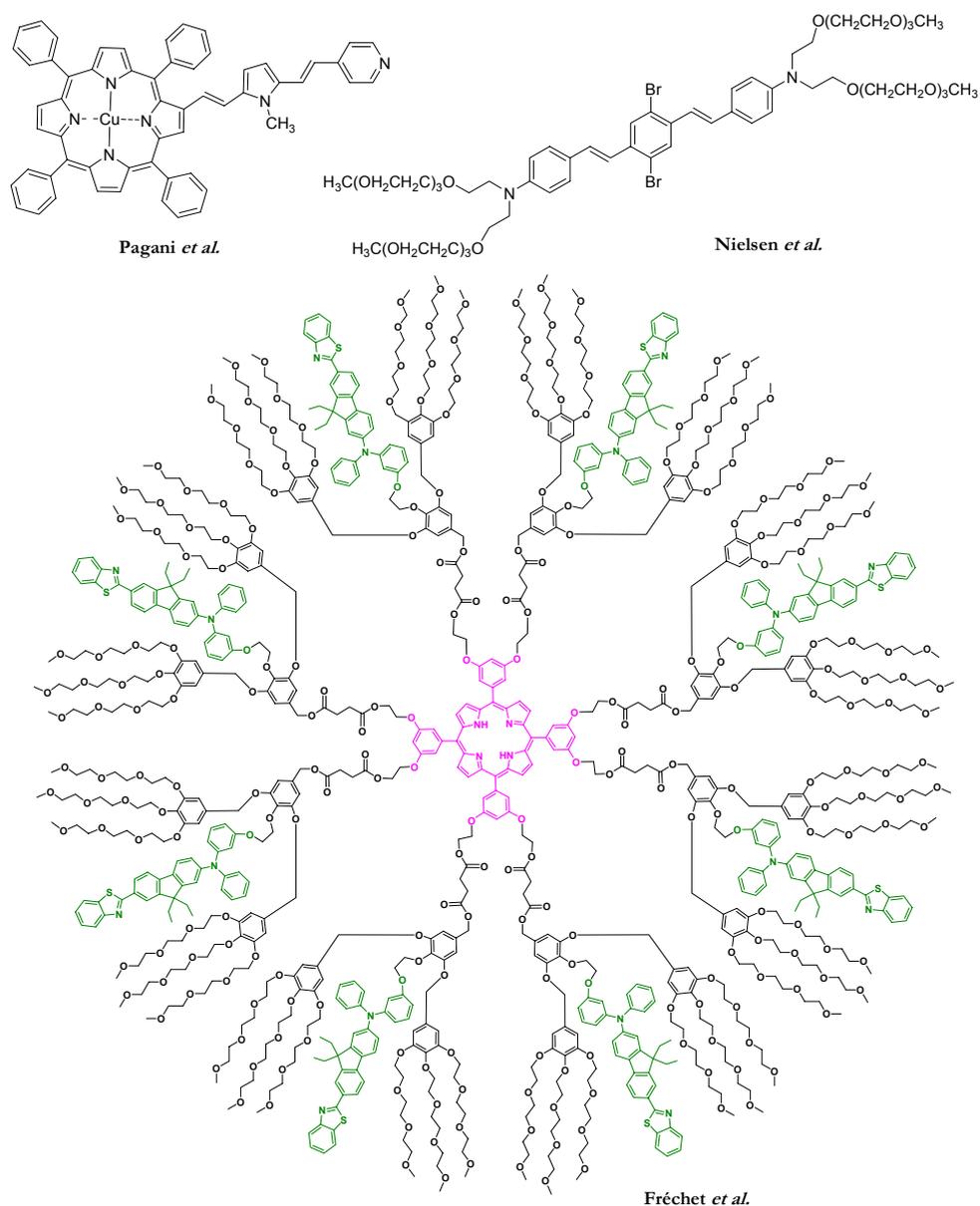


Figure 18 Photosensibilisants solubles dans l'eau proposés pour la thérapie photodynamique à deux photons.

Notons que plusieurs équipes de recherche ont élaboré des molécules à fort rendement de production d'oxygène singulet, mais hélas ces molécules ne sont pas biocompatibles ; ainsi elles ne sont solubles que dans des solvants organiques, et cela pose un problème de toxicité pour les applications biologiques.

I.C.4. LA MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE PAR EXCITATION A DEUX PHOTONS

La microscopie de fluorescence par excitation à deux photons a été proposée comme une nouvelle technique d'imagerie beaucoup plus performante que celle effectuée par microscopie confocale. Cette technique tire avantage du phénomène de l'absorption à deux photons, surtout

de la dépendance quadratique entre la probabilité de l'absorption à deux photons et l'intensité de la source lumineuse utilisée. L'excitation ne se produit qu'au point focal du laser, comme si elle était créée directement dans le plan focal à l'intérieur du tissu biologique, ce qui n'est pas le cas pour la microscopie confocale où l'excitation a lieu dans tout au long du trajet du faisceau laser (**Figure 19**). Cet effet induit une amélioration du contraste des images obtenues (rapport signal sur bruit élevé).

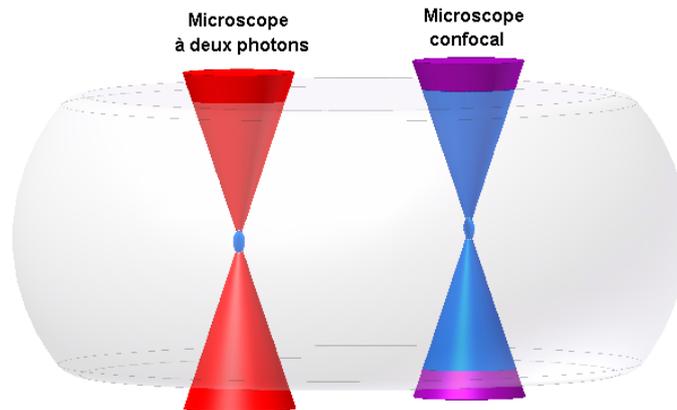


Figure 19 Comparaison de la fluorescence générée après excitation à deux photons (à gauche) et excitation à un photon (à droite) dans un microscope à deux photons et un microscope confocal respectivement.

L'utilisation d'un laser infrarouge en microscopie à deux photons, moins énergétique que le laser UV utilisé en microscopie confocale, réduit le photoblanchiment des colorants et le photodommage des tissus biologiques. De plus, le laser infrarouge permet une pénétration plus profonde dans les tissus biologiques, car la pénétration lumineuse au-delà d'un millimètre n'est possible qu'avec une "fenêtre optique" entre 700 nm et 1200 nm dans le rouge, au voisinage de la région infrarouge du spectre. En dehors de cette zone, la lumière peut être diffusée ou absorbée par les chromophores naturels (mélanine, hémoglobine, ...) et l'eau (le principal composant du sang et des tissus). La **Figure 20** illustre les spectres d'absorption relative de l'hémoglobine, de la mélanine et de l'eau dans une large zone de longueur d'onde (100-1000 nm).

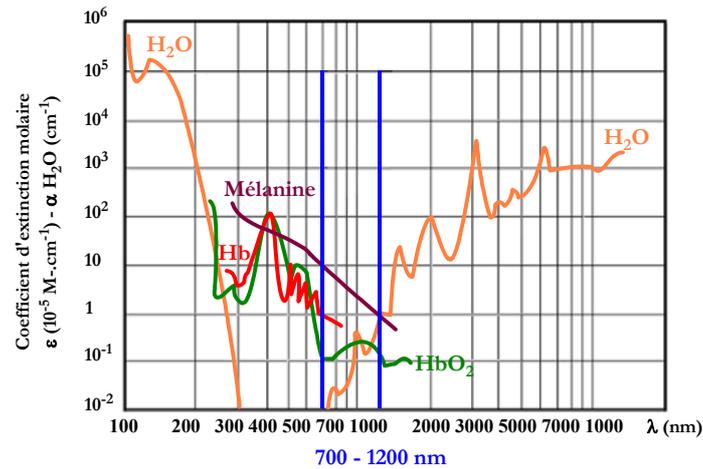


Figure 20 Absorption relative de l'hémoglobine oxygénée (HbO_2) et non oxygénée (Hb), de la mélanine et de l'eau dans un tissu biologique.

La limitation principale de cette technique réside dans le choix du colorant utilisé. Le colorant doit avoir une forte absorption à deux photons dans la fenêtre de transparence optique des tissus, donc une section efficace d'ADP élevée. La non-toxicité et la bio-compatibilité sont deux facteurs cruciaux. La majorité des colorants utilisés en microscopie à deux photons sont solubles dans l'eau. Les colorants ADP commerciaux souvent utilisés sont : DAPI et Hoechst (bleu), Alexa 488 et Oregon Green 488 (vert), Rhodamine et Texas Red-X (rouge), entre autres.

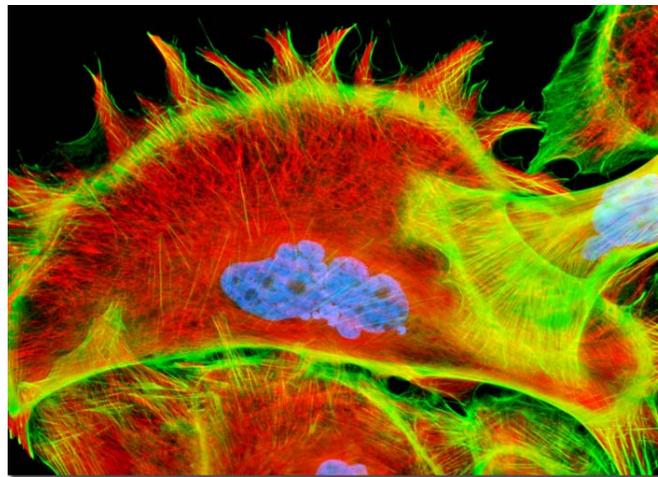


Figure 21 Imagerie à deux photons des cellules épithéliales du rein d'ovin, où les différents organites cellulaires sont colorés en rouge par Texas Red-X, vert par Oregon Green 488, et en bleu par Hoechst 33258.⁸⁹

Un exemple des images qu'on peut obtenir avec la microscopie à deux photons est illustré dans la **Figure 21**.

⁸⁹ <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/fluorescence/gallery/cells/mdok/mdokcellsexlarge17.html>

Les colorants fluorescents commerciaux utilisés avaient en fait été élaborés pour leur fluorescence à un photon. De ce fait la plupart ont une faible section efficace d'absorption à deux photons, ce qui implique l'utilisation d'une forte puissance de la source lumineuse. Cela provoque un effet indésirable sur les tissus imagés. L'imagerie biologique par fluorescence à deux photons peut être améliorée par une ingénierie moléculaire spécifique de nouveaux colorants ayant une section efficace d'ADP (σ_2) élevée.

CHAPITRE II

CHROMOPHORES ABSORBANTS A
DEUX PHOTONS SOLUBLES DANS
L'EAU :
APPLICATIONS EN IMAGERIE
BIOLOGIQUE

I. MICROSCOPIE A DEUX PHOTONS (MDP)

I.A. VISION HISTORIQUE

La microscopie de fluorescence s'est développée au début du siècle, avec l'apparition sur le marché des microscopes à épifluorescence. Cette technique a permis de nombreuses avancées en sciences du vivant, mais elle est limitée du point de vue du contraste spatial.

Le microscope de fluorescence est conçu pour recueillir la lumière émise par l'excitation soit d'un matériau naturel existant dans un système biologique (colorant endogène), soit d'une sonde fluorescente que l'on introduit dans le système biologique (colorant exogène). L'exploitation de la microscopie en épifluorescence s'est confrontée à des limitations qui résident dans le fait que l'excitation du chromophore est possible dans tout le volume de l'échantillon, ce qui affecte le contraste de l'image (**Figure 22**). De plus, l'obtention des images tridimensionnelles avec une telle technique demeure impossible.

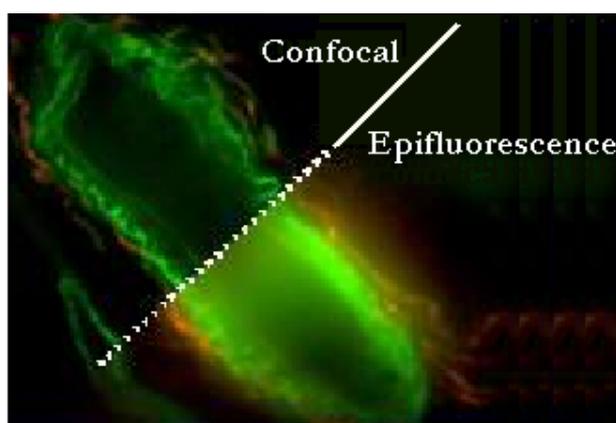


Figure 22 Comparaison d'une image d'une cellule obtenue par un microscope confocale et un autre obtenue par un microscope de fluorescence.

Pour résoudre ces deux problèmes majeurs, Minsky a élaboré en 1957 un microscope à balayage laser focalisé (microscope confocal) équipé d'un trou de filtrage (trou d'épingle \equiv pinhole en anglais) qui élimine la détection de tous les rayonnements provenant de l'extérieur du plan focal. Ceci améliore grandement le contraste de l'image (**Figure 22**), ce qui permet d'acquérir les images d'un objet volumineux plan par plan. De plus, la possibilité de modifier le point focal du laser permet l'obtention d'une série d'images correspondant à des plans successifs en direction z (sections optiques, z scan) qui permettent une reconstruction 3D de l'image. L'utilisation d'un laser UV-visible (assez énergétique) entraîne irrémédiablement un

photodommage des tissus biologiques étudiés et le photoblanchiment du colorant. De plus la résolution diminue avec l'augmentation de la profondeur du plan d'excitation (profondeur atteinte inférieure à 100 µm dans un tissu).

Pour éviter ces effets nocifs indésirables, il est nécessaire d'utiliser une source lumineuse moins énergétique. L'avantage du phénomène d'excitation multiphotonique (réponse non-linéaire) et en particulier de l'absorption à deux photons (ADP) permet d'exciter une molécule non pas avec un laser UV, mais avec un rayonnement moins énergétique d'énergie moitié (IR). Denk, Strickler et Webb ont développé ce concept en mettant au point, en 1990, le microscope de fluorescence à deux photons (MDP).^{90,91,92} Le développement de la MDP a entraîné une croissance technologique non seulement dans le domaine de la microscopie à balayage laser (MBL),⁹³ mais aussi dans l'élaboration de colorants à propriétés multiphotoniques,^{94,95} et enfin dans le domaine de la reconstruction informatique tridimensionnelle des images.⁹⁶



*Watt W. Webb:
Professor of Applied and
Engineering Physics,
Cornell University,
USA.*

La MDP repose sur l'absorption à deux photons qui est caractérisée par une dépendance quadratique de la probabilité d'absorber simultanément deux photons, vis à vis de l'intensité d'excitation à deux photons. Donc l'excitation des chromophores ne se produit qu'au point focal du système optique, là où l'intensité lumineuse est maximale. Comme deux photons sont absorbés simultanément pour chaque transition vers l'état excité, on utilise un laser infrarouge (IR) pour exciter des chromophores, qui absorbent normalement dans la région de l'ultraviolet.⁹⁷

⁹⁰ Denk, W., Strickler, J. H., Webb, W. W., *Science*, **1990**, 248, 73-76.

⁹¹ Yuste, R., Denk, W., *Nature (London)*, **1995**, 375, 682-684.

⁹² Williams, R. M., Piston, D. W., Webb, W. W., *FASEB J.*, **1994**, 8, 804-813.

⁹³ Wilson, T., Sheppard, C. J. R., *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*, **1984**, (Academic, New York).

⁹⁴ Valdmanis, J. A., Fork, R. L., *IEEEJ. Quantum Electron.*, **1986**, QE-22, 112-118.

⁹⁵ Spence, D. E., Kean, P. N., Sibbett, W., *Opt. Lett.*, **1991**, 16, 42-44.

⁹⁶ Garrity, M., *Comput. Graphics*, **1990**, 24, 35-40.

⁹⁷ Duck, F. A., *Physical Properties of Tissue* (Academic, London), **1990**.

I.B. COMPARAISON ENTRE LA MICROSCOPIE A DEUX PHOTONS ET LA MICROSCOPIE CONFOCALE

La microscopie à deux photons offre plusieurs avantages par rapport à la microscopie confocale. La dépendance quadratique de l'excitation du fluorophore en fonction de l'intensité de la lumière d'excitation confine l'absorption à une région très étroite (le point focal du système optique) où l'intensité lumineuse est maximale.⁹⁸ Contrairement à la microscopie confocale où les chromophores sont excités tout le long du trajet optique, la microscopie à deux photons évite l'absorption des fluorophores dans les plans en dessus et en dessous du plan focal du faisceau laser (**Figure 23**).

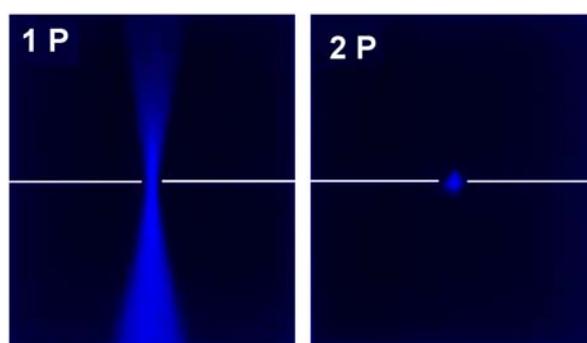


Figure 23 Localisation de l'excitation à deux photons. Distribution de la fluorescence de fluorescéine dans le plan $x-z$ pendant excitation à un photon à 488 nm par un laser UV focalisé (1P) excitation à deux photons à 850 nm par un laser femtosecond IR focalisé (2P). L'échantillon a été illuminé à travers la même lentille pendant l'excitation à un photon et deux photons. La ligne blanche indique le plan focal.⁹⁹

L'absence d'excitation hors du plan focal a permis la suppression du dispositif « trou d'épingle » qui servait auparavant à éliminer les rayonnements parasites (émis hors du plan focal). La **Figure 24** montre une comparaison entre deux montages schématiques d'un microscope confocal et un microscope à deux photons où on observe la différence dans la source lumineuse (UV-visible et IR) et l'absence du trou d'épingle dans le montage du microscope à deux photons.

⁹⁸ Denk, W., Strickler, J. H., Webb, W. W., *Science.*, **1990**, 248, 73–76.

⁹⁹ Soeller, C., Cannell, M. B., *Microsc. Res. Tech.*, **1999**, 47, 182–195.

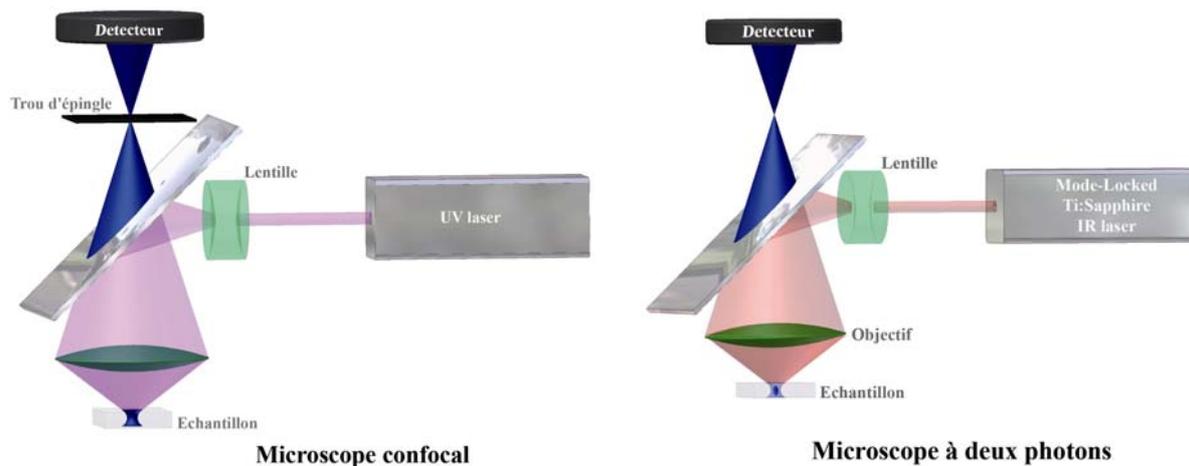


Figure 24 Montage schématique d'un microscope confocal à balayage laser (à gauche) et d'un microscope à deux photons (à droite).

Des études expérimentales ont montré que la microscopie à deux photons atteint une profondeur plus importante (de l'ordre de 500 μm) que celle atteinte avec la microscopie confocale.^{100,101,102} Plusieurs raisons contribuent à l'amélioration de la pénétration en profondeur dans les systèmes biologiques sont :

- ❑ les grandes longueurs d'onde (rouge ou infrarouge) utilisées en microscopie à deux photons, sont beaucoup moins diffusées par les tissus, que les courtes longueurs d'ondes utilisées en microscopie confocale.¹⁰³
- ❑ en microscopie confocale, la lumière émise hors du plan focal, ne contribue pas à la formation de l'image, car elle est rejetée par le trou d'épingle qui ne la distingue pas des autres faisceaux lumineux arrivant des fluorophores excités hors du plan focal. En revanche, en microscopie à deux photons il n'y a pas de fluorescence à l'extérieur du plan focal, donc toute lumière émise contribue à la formation de l'image, ce qui permet une collection plus efficace de la fluorescence et par conséquent une augmentation de l'intensité du signal.⁹⁹

L'utilisation de laser (mode-locked) Ti:Sapphire, permet la formation des images à une profondeur généralement de l'ordre de 500 μm , dans plusieurs tissus biologiques. Oheim et son équipe ont apporté une augmentation de l'ordre de 100 μm à la profondeur de pénétration avec

¹⁰⁰ Centonze, V. E., White J. G., *Biophys J.*, **1998**, 75, 2015–2024.

¹⁰¹ Soeller, C., Cannell, M. B., *Microsc Res Tech.*, **1999**, 47, 182–195.

¹⁰² Periasamy, A., Skoglund, P., Noakes, C., Keller, R., *Microsc Res Tech.*, **1999**, 47, 172–181.

¹⁰³ Oheim, M., Beaufrepaire, Chaigneau, E., Mertz, J., Charpak, S., *J. Neurosci Methods.*, **2001**, 111, 29–37.

un objectif de microscope d'ouverture numérique à haute performance.¹⁰³ Alors que, l'équipe de Theer a augmenté la profondeur de pénétration jusqu'à 1 mm, dans le cerveau animal en utilisant un amplificateur d'impulsion 200 KHz pour réaliser des puissances maximales tout en maintenant des puissances moyennes raisonnables.¹⁰⁴ Cependant, la résolution optique est dégradée sensiblement à de plus grandes profondeurs, résultant probablement de la saturation de l'excitation (excitation d'un nombre élevé de chromophore).¹⁰⁵ Finalement, récemment Webb *et al.* ont atteint une profondeur de l'ordre de 1 mm dans un cerveau d'un animal vivant anesthésié.¹⁰⁶

Les stratégies pour améliorer la profondeur de pénétration incluent : le développement et l'utilisation des colorants à large section efficace d'absorption à deux photons, l'utilisation d'une grande longueur d'onde d'excitation, et l'amélioration de l'efficacité de capture de fluorescence par le microscope utilisé (tel qu'une meilleure transmittance des filtres, des miroirs semi-réfléchissants, ...).¹⁰³ A titre d'exemple, en utilisant un microscope à deux photons, Squirrell et son équipe pouvaient surveiller la dynamique de la distribution des mitochondries dans l'embryon d'un hamster pendant plus de 24 heures sans compromettre son développement. En revanche, l'utilisation de la microscopie confocale pendant seulement 8 heures a sévèrement compromis le développement de l'embryon.¹⁰⁷

Cependant, une forte intensité, comme celle qui se produit pendant une illumination pulsée, facilite le photo-blanchiment et le photo-dommage dans la petite région autour du plan focal.^{108,109,110,111} Les équipes de Koester¹⁰⁹ et Hopt¹¹⁰ ont constaté qu'à faible intensité lumineuse d'excitation, le processus d'absorption à deux photons est principalement responsable du photo-dommage cumulatif, de plus, aux grandes intensités d'excitation le photo-dommage devient plus important. Ces résultats suggèrent qu'à de basses intensités d'excitation, le signal de fluorescence puisse être obtenu seulement aux dépens du photo-dommage. Par conséquent, durant l'expérience, la puissance du laser devrait être soigneusement ajustée pour réduire au minimum le photo-dommage, tout en maintenant le rapport signal sur bruit de fluorescence élevé.

¹⁰⁴ Theer, P., Hasan, M. T., Denk, W., *Opt Lett.*, **2003**, 28, 1022–1024.

¹⁰⁵ Zipfel, W. R., Williams, R. M., Webb, W. W., *Nat Biotechnol.*, **2003**, 21, 1369–1377.

¹⁰⁶ Levene, M. J., Dombeck, D. A., Kasischke, K. A., Molloy, R. P., Webb, W. W., *J Neurophysiol.*, **2004**, 91, 1908–1912.

¹⁰⁷ Squirrell, J. M., Wokosin, D. L., White, J. G., Bavister, B. D., *Nat Biotechnol.*, **1999**, 17, 763–767.

¹⁰⁸ Niggli, E., Piston, D. W., Kirby, M. S., Cheng, H., Sandison, D. R., Webb, W. W., Lederer, W. J., *Am J Physiol Cell Physiol.*, **1994**, 266, C303–C310.

¹⁰⁹ Koester, H. J., Baur, D., Uhl, R., Hell, S. W., *Biophys J.*, **1999**, 77, 2226–2236.

¹¹⁰ Hopt, A., Neher, E., *Biophys J.*, **2001**, 80, 2029–2062.

¹¹¹ Patterson, G. H., Piston, D. W., *Biophys J.*, **2000**, 78, 2159–2162.

Cependant, le photodommage à forte intensité de l'excitation a été exploité avec succès, pour produire l'oxygène réactif dans une petite fraction de volume d'un cardiomyocyte (thérapie photodynamique) et plus tard d'étudier leurs effets sur le métabolisme cellulaire.¹¹² La méthode de « Fluorescence Recovery After Photobleaching » (FRAP) est basée sur le photoblanchiment de colorant pour étudier les caractéristiques de diffusion d'une molécule en solution et de systèmes biologiques.^{113,114} Cette méthode consiste à photoblanchir un colorant dans la zone observée, et de suivre la réapparition de la fluorescence dans cette zone en fonction du temps. Celle-ci due à la diffusion du colorant de la zone non blanchie à la zone blanchie. Ceci est un indicateur au coefficient de diffusion de la molécule.¹¹⁵

Les différents avantages de la microscopie à deux photons tels que la pénétration profonde dans les tissus biologiques, le faible photoblanchiment du fluorophore et le photodommage des tissus réduit par rapport à la microscopie confocale, rendent cette technique très utile pour étudier les événements biologiques dans un spécimen pendant de longues périodes. La microscopie à deux photons a permis la reconstruction des processus dynamiques dans un embryon vivant, tels que les modèles d'expression de gène et de protéine en trois dimensions,¹¹⁶ ainsi qu'une reconstruction tridimensionnelle de la migration cellulaire.

Enfin, l'utilisation d'un microscope à deux photons avec un objectif d'ouverture numérique uniforme, permet d'atteindre une fluorescence confinée à un volume de l'ordre du femtolitre, autour du point focal de l'objectif du microscope, avec une résolution $< 1 \mu\text{m}$ dans la direction z. A titre d'exemple, la taille d'une mitochondrie dans une cellule eucaryote est de 1,5 à 2 μm en longueur, et 0,5 à 1 μm en diamètre. La microscopie à deux photons est donc une technique performante qui fournit des images de résolution subcellulaire. Enfin, cette technique devient très sensible, à tel point qu'elle permet de détecter la fluorescence d'une molécule unique,^{117,118} ainsi qu'une très faible quantité d'un système bio-conjugué.¹¹⁹

¹¹² Aon, M. A., Cortassa, S., Marban, E., O'Rourke, B., *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 44735–44744.

¹¹³ Lippincott-Schwartz, J., Snapp, E., Kenworthy, A., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **2001**, 2, 444-456.

¹¹⁴ Weiss, M., Nilsson, T., *Trends Cell Biol.*, **2004**, 14, 267-273.

¹¹⁵ Pucadyil, T. J., Chattopadhyay, A., *Journal of Fluorescence*, **2006**, 16, No. 1, 87-94.

¹¹⁶ Lichtman, J. W., Fraser, S. E., *Nat Neurosci.*, **2001**, 4 (suppl), 1215–1220.

¹¹⁷ Mertz, J., Xu, C., Webb, W. W., *Opt. Lett.*, **1995**, 2532-2534.

¹¹⁸ Plakhotnik, T., Walser, D., Pirotta, M., Renn, A., Wild, U. P., *Science*, **1996**, 271, 1703-1705.

¹¹⁹ Shear, J. B., Brown, E. B., Webb, W. W., *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 1778-1783.

I.C. COLORANTS UTILISES EN MDP

La fluorescence observée dans un système biologique peut avoir plusieurs origines : endogène ou exogène. Les marqueurs endogènes, qui possèdent une fluorescence naturelle sont situés dans la cellule (la chlorophylle fluoresce naturellement en rouge dans les cellules végétales).

Un autre fluorophore d'origine animale est la protéine fluorescente verte (GFP = Green Fluorescent Protein) issue d'une méduse (*Aequorea victoria*), cette protéine est intrinsèquement fluorescente. Son gène peut être fusionné *in-vitro* au gène d'une protéine que l'on souhaite étudier (**Figure 25**).

Le gène recombinant est ensuite réintroduit dans des cellules qui vont alors synthétiser la protéine fluorescente. Cette méthode permet d'étudier des protéines dans leur environnement naturel (la cellule vivante). Il existe maintenant différents variants de la GFP qui ont été obtenus en modifiant celle-ci par ingénierie génétique. Il existe également d'autres protéines fluorescentes issues de la modification génétique de la GFP : BFP (Blue Fluorescent Protein), YFP (Yellow Fluorescent Protein), RFP (Red Fluorescent Protein) qui est issue d'un corail, ...

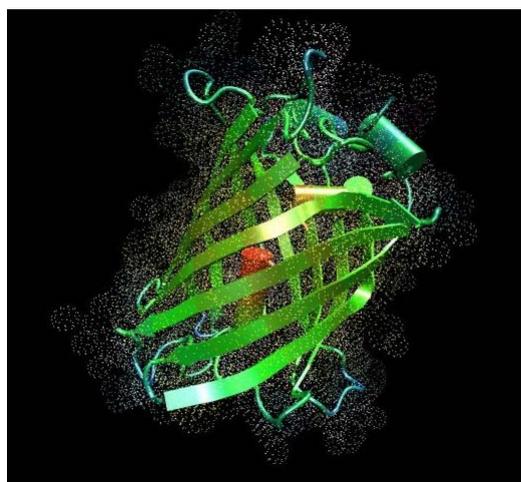


Figure 25 Schéma structural de la GFP.

Les colorants exogènes, sont introduits dans l'organisme à étudier. Citons à titre d'exemple le DAPI (Di Aminido Phenyl Indo) qui se fixe spécifiquement sur l'ADN et fluoresce dans le bleu, la rhodamine et la fluorescéine qui peuvent être fixées sur des anticorps spécifiques d'un antigène. La fluorescence observée par suite permet de localiser l'antigène ciblé. Le Texas red peut être fixé sur une molécule de dextran, ensuite l'ensemble est injecté dans une cellule et les cellules filles seront marquées au cours du développement embryonnaire.

Un des paramètres importants en microscopie à deux photons est la section efficace d'ADP (σ_2) du colorant utilisé. Bien que les propriétés photophysiques linéaires soient connues pour une grande partie de ces molécules, un nombre limité de molécules présentent des propriétés d'absorption à deux photons plus ou moins efficaces ($0,1 < \sigma_2 < 10 \text{ GM}$), et permet une application biologique fiable (**Figure 26**).¹²⁰ En outre, il est très difficile de prédire les propriétés

¹²⁰ Smith, W. L., in *Handbook of Laser Science and Technology*, ed. Weber, J. (CRC, Boca Raton, FL), 1986, pp. 229-258.

d'excitation multiphotonique, surtout les propriétés d'absorption à deux photons, à partir des propriétés à un photon d'une molécule.¹²¹

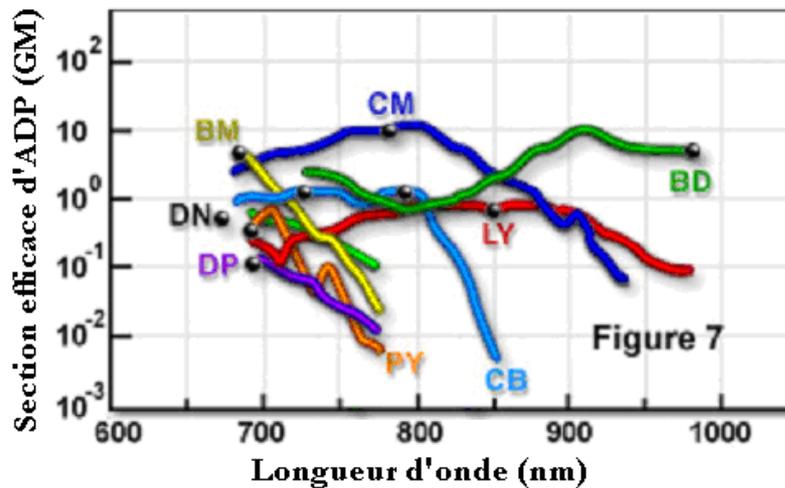


Figure 26 Les spectres d'absorption à deux photons de colorants classique utilisés en MDP. BM (*p*-bis(*o*-methylstyryl)benzene), CB (Cascade Blue), LY (Lucifer Yellow), BD (BODIPY), DP (DAPI), DN (Dansyl), PY (1,2-bis-(1-pyrenedecanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine, CM (Coumarine 307).¹²²

Les investigations *in-vivo* des processus biologiques nécessitent de chromophores possédants de critères précis tels que :

- Solubilité dans l'eau.
- Un rendement quantique de fluorescence dans l'eau élevé.
- Le maximum d'absorption et celui d'émission devraient être hors de la région d'interférence avec la longueur d'onde d'auto-absorption de la cellule.
- Peu toxique.
- Photo-stabilité élevée.

I.D. CONCLUSION

Après cette brève introduction de la microscopie à deux photons, nous pouvons conclure que la contribution d'un chimiste dans l'amélioration de cette technique repose sur l'optimisation

¹²¹ Xu, C., Zipfel, W., Shear, J. B., Williams, R. M., Webb, W. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 10763-10768.

¹²² <http://www.olympusmicro.com/primer/techniques/fluorescence/multiphoton/multiphotonintro.html> - Website Olympus Microscopy Resource Centre - avril 2006.

des propriétés photophysiques linéaires et non linéaires des colorants absorbants à deux photons, en jouant sur l'ingénierie moléculaire du chromophore en suivant le cahier des charges défini précédemment. Dans la partie qui suit, nous allons présenter la synthèse de différents chromophores ADP solubles dans l'eau, que nous avons préparés au cours de ce travail de thèse spécifiquement conçus pour la MDP.

II. INGENIERIE ET SYNTHÈSE DES CHROMOPHORES ADP

Cette partie est axée sur la synthèse de deux séries de chromophores ADP solubles dans l'eau : la première est caractérisée par une architecture symétrique alors que la deuxième a une architecture dissymétrique.

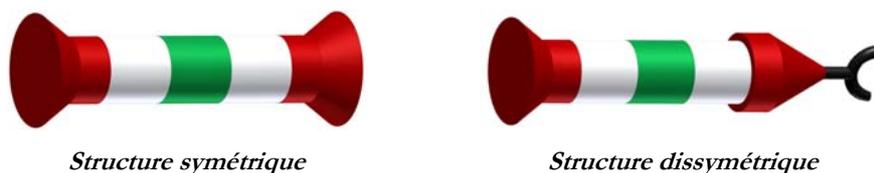


Figure 27 Modèles symétrique et dissymétrique des deux séries de chromophores préparées

La structure chimique de ces deux séries est basée sur un système bis-stilbénique (interactions électroniques), constitué de deux groupements stilbènes qui sont reliés entre eux, soit par une simple liaison σ (cas d'un groupement biphényle), soit à la fois d'une liaison σ et un pont carboné (cas d'un groupement fluorényle). Les structures chimiques des groupements biphényle et fluorényle sont illustrées dans la **Figure 28**.



Figure 28 Structure du groupement biphényle (à gauche) et du groupement fluorène (à droite).

Le point de départ de notre travail de synthèse est un chromophore qui a été optimisé dans notre laboratoire pour application à la limitation optique dans le visible en régime nanoseconde, le **GMO-4** (**Figure 29**).¹²³

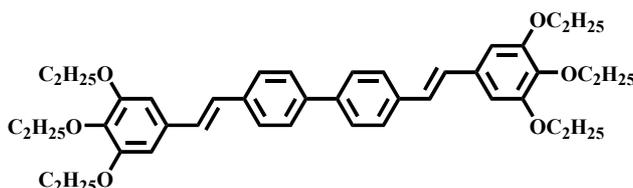


Figure 29 Structure moléculaire de **GMO-4**.

L'étude des propriétés photophysiques non linéaires d'un tel système « donneur-donneur », a montré une efficacité remarquable au niveau de l'absorption à trois photons notamment. La

¹²³ Lincker, F., Masson, P., Nicoud, J.-F., Didier, P., Guidoni, L., Bigot, J.-Y. *Journal of Nonlinear Optical Physics & Materials*, **2005**, Vol. 14, No. 3, 319-329.

mesure du coefficient d'absorption à trois photons (α_3) a révélé une valeur très élevée ($\alpha_3=15000 \text{ cm}^3/\text{GW}^2$ à 500 nm).

Pour rendre le **GMO-4** compatible avec les systèmes biologiques, nous devons le rendre soluble dans l'eau. Pour ce faire, la solubilité dans l'eau a été induite par l'introduction de groupements de différentes tailles d'oligo-éthylène glycol (OEG) sur les parties périphériques du **GMO-4** à la place des chaînes dodécyloxy. Notons que la synthèse de **GMO-4** a été réalisée par notre équipe en réalisant un couplage de type Heck en présence d'un catalyseur à base de palladium. Rappelons d'une façon brève les différentes méthodes d'obtention d'un motif stilbène.

Le stilbène est constitué essentiellement de deux groupements phényles qui sont reliés entre eux par une double liaison (**Figure 30**). Il existe plusieurs voies de synthèse de groupement stilbène, entre autre nous citons le couplage de Heck¹²⁴ et la réaction de Wadsworth-Emmons,¹²⁵ que nous avons utilisée pour synthétiser nos différents dérivés bis-stilbéniques.

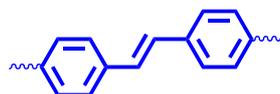


Figure 30 Le motif stilbène.

Les autres méthodes de synthèse de stilbène que l'on peut trouver dans la littérature sont basées sur la réaction de Wittig,¹²⁶ le couplage de Siegrist, ...

II.A. SOLUBILISATION DES CHROMOPHORES DANS L'EAU

La synthèse d'un chromophore efficace à deux photons implique l'introduction de groupements aromatiques hydrophobes (constitution du système conjugué) qui diminuent la solubilité dans l'eau. Cette augmentation de la lipophilie doit être compensée par l'introduction de groupements hydrophiles pour permettre une solubilité dans l'eau. Les chromophores solubles dans l'eau se classent sous deux grandes catégories principales selon la nature du groupement hydrophile introduit : chromophores ioniques et chromophores neutres (non ionique).

¹²⁴ Dieck, H. A., Heck, R.F., *J. Organomet. Chem.* **1975**, 93, 259-263.

¹²⁵ Maryanoff, B. E., Reize, A. B. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 863-927.

¹²⁶ Hoffmann, R. W. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 1411.

La solubilité dans l'eau des chromophores ioniques est induite par différents substituants hydrophiles comme le groupement $-\text{SO}_3^-$,^{127,128,129} $-\text{COO}^-$,^{127,130} $-\text{PO}_3^-$,¹³¹ et $-\text{N}^+\text{Me}_3$.^{132,133,134} Pour des expériences *in-vivo*, les propriétés spectrales de la sonde fluorescente dans un milieu aqueux, et sa stabilité chimique en respectant le métabolisme cellulaire, sont des critères cruciaux. Cependant, dans certain cas, la présence du contre ion correspondant à la fonction ionique du chromophore entraîne une perturbation dans le cycle cellulaire, d'où l'idée de se diriger vers les chromophores neutres (non ioniques). Les chromophores neutres solubles dans l'eau sont solubles par introduction de groupements polaires dans leur squelette moléculaire.¹³⁵

Le poly-éthylène glycol (ou « polyéthylène oxide » dans certaines publications^{135,136}) est un polymère synthétique non ionique, non toxique,¹³⁶ biodégradable et biocompatible. Son utilisation dans les applications biologiques *in-vivo* a été permise par la « Food and Drug Administration ». ^{137,138} L'utilisation d'un tel groupement hydrophile, limite la toxicité de la molécule. De plus, l'utilisation de chaînes plus ou moins longues de polyéthylène glycol permet de contrôler la solubilité dans l'eau ainsi que la masse molaire du chromophore afin d'obtenir de chromophores solubles dans l'eau avec une masse molaire la plus faible possible. D'autres groupements peuvent être utilisés comme les dérivés du sucre,...

Présentons maintenant les différentes étapes de la synthèse des deux séries de chromophores en commençant d'abord avec ceux d'architecture symétrique.

¹²⁷ Micculloch, I., Lu, P., Kang, M., *J. Appl. Polym. Sci.*, **1999**, 74, 1304-1316.

¹²⁸ Hong, J. W., Gaylord, B. S., Bazan, G. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 11868-11869.

¹²⁹ Mizusaki, M., Morishima, Y., Winnik, F. M., *Macromolecules*, **1999**, 32, 4317-4326.

¹³⁰ Kohl, C., Weil, T., Qu, J., Müllen, K., *Chem. Eur. J.*, **2004**, 10, 5297-5310.

¹³¹ Almi, M., Arduini, A., Casnati, A., Pochini, A., Ungaro, R., *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 45, 2177.

¹³² Liu, B., Gaylord, B. S., Wang, S., Bazan, G. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 6705-6714.

¹³³ Gaylord, B. S., Heeger, A. J., Bazan, G. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 896-900.

¹³⁴ Shinkai, S., Shirahama, Y., Tsubaki, T., Manabe, O., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1989**, 1859.

¹³⁵ Oar, M. A., Serin, J. M., Dichtel, W. R., Fréchet, J. M. J., Ohulchanskyy, T. Y., Prasad, P. N., *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 2267-2275.

¹³⁶ Vamvakaki, M., Billingham, N. C., Armes, S. P., *Polymer*, **1999**, 40, 5161-5171.

¹³⁷ Weil, T., Abdalla, M. A., Jatzke, C., Hengstler, J., Müllen, K., *Biomolecules*, **2005**, 6, 68-79.

¹³⁸ Mark, H. F., Gaylord, N. G., Bikales, N. M., editors. *Encyclopedia of polymer science and technology*, vol. 6. New York: Interscience, **1964**.

II.B. SYNTHÈSE DES CHROMOPHORES SYMÉTRIQUES

Pour ce type de molécules, nous avons choisi la méthode de couplage de type Wadsworth-Emmons pour obtenir le motif stilbène (**Figure 31**). Cette méthode présente en plus d'une facilité de préparation des synthons périphériques (dérivés aldéhydes) contenant les groupements oligo-éthylène glycol, contrairement au couplage de Heck, qui nécessite la préparation des dérivés styréniques d'oligo-éthylène glycol dont qu'il était difficile de séparer de l'oxyde de triphénylphosphine formé au cours de la réaction par les simples méthodes chromatographiques (chromatographie sur silice ou alumine).

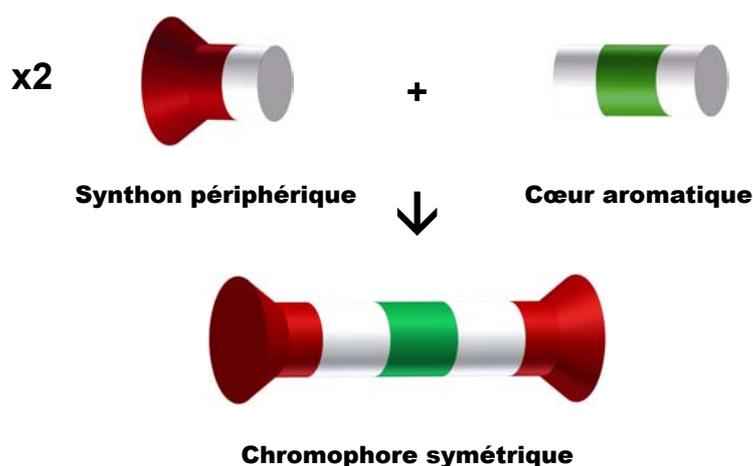


Figure 31 Représentation graphique des parties constituant un chromophore symétrique

Le couplage de Wadsworth-Emmons nécessite la préparation de deux types de synthons : les groupements périphériques électrodonneurs (avec une fonction aldéhyde) et les cœurs aromatiques (avec une fonction phosphonate).

II.B.1. PRÉPARATION DES GROUPEMENTS PÉRIPHÉRIQUES ÉLECTRODONNEURS

Afin de préparer des chromophores présentant une bonne solubilité dans l'eau, trois synthons périphériques ont été synthétisés. Ils se différencient par la longueur des chaînes oligo-éthylène glycol utilisées. Rappelons que la longueur de la chaîne OEG joue un rôle très important dans la détermination de la solubilité dans l'eau de la molécule ainsi que son coefficient de partage *n*-octanol/eau ($\log P$). Ces groupements périphériques porteront aussi le groupe électrodonneur « le doublet électronique de l'oxygène du premier groupement éthoxy de l'OEG » qui est un élément essentiel dans la constitution du chromophore ADP. Dans un premier temps, nous avons préparé les tosylates d'oligo-éthylène glycol monométhyl éther de différente longueur de

chaîne selon la méthode de Gokel¹³⁹ avec un rendement de l'ordre de 75%. Ces dérivés ont été synthétisés à partir des éthers monométhyliques d'oligo-éthylène glycol commerciaux et de chlorure de *p*-toluènesulfonyl (Schéma 1).

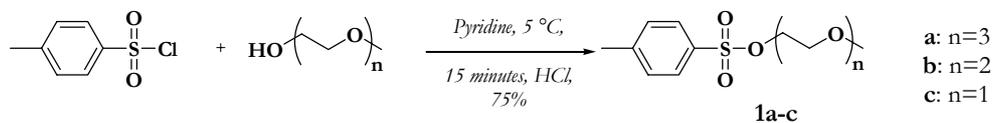


Schéma 1 Synthèse des de tosylates d'oligo-éthylène glycol **1a-c**.

Dans un second temps, les groupes terminaux ont été obtenus par substitution nucléophile de type Williamson des tosylates par les groupes phénolates du 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle. Les dérivés esters **2a-c** ont été réduits en alcools par l'action de l'hydrure mixte de lithium et aluminium. Les aldéhydes **4a-c** ont été obtenus par oxydation douce des dérivés alcools **3a-c** par l'oxyde de manganèse (II) MnO₂ (Schéma 2).

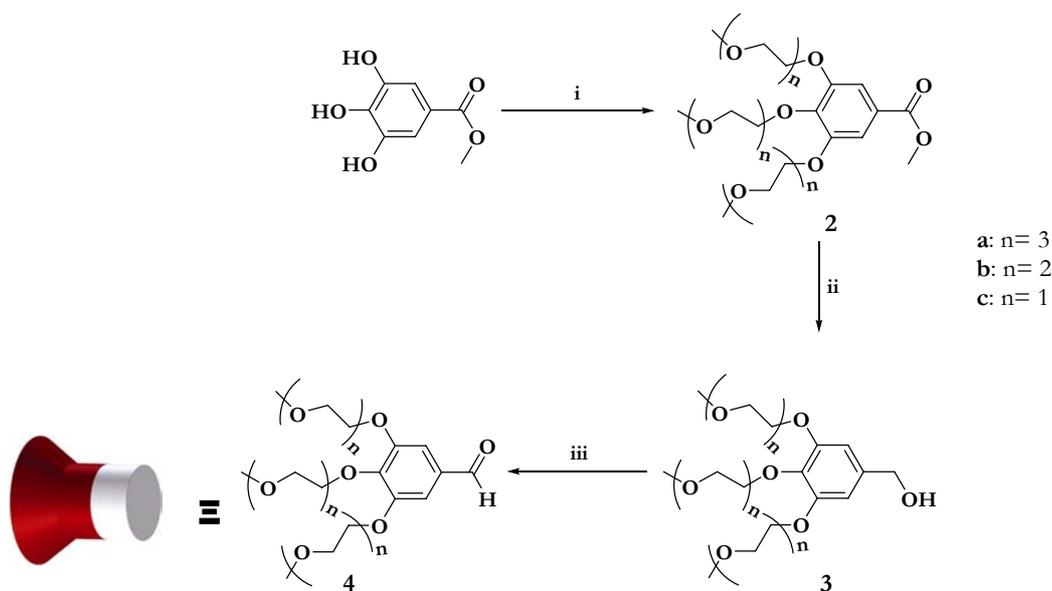


Schéma 2 Synthèse de synthons périphériques.

(i) K₂CO₃, acétone, 58 °C, 60 % ; (ii) LiAlH₄, THF, rt, 99 % ; (iii) MnO₂, CH₂Cl₂, rt, 96 %.

Les bons rendements de différentes étapes de synthèse et la purification aisée, nous ont permis de synthétiser ces différents dérivés d'aldéhydes en grandes quantités.

¹³⁹ Allcock, H. R., O'Connor, S. J. M., Olmeijer, D. L., Napierala, M. E., Cameron, C. G. *Macromolécules*, **1996**, 29, 7544-7552.

II.B.2. PREPARATION DES CŒURS AROMATIQUES

Pour pouvoir étudier l'influence de la conjugaison sur les propriétés photophysiques de la molécule, nous avons utilisé deux types de synthons centraux (biphényle et fluorényle). Pour pouvoir réaliser le couplage de type Wadsworth-Emmons entre ces deux cœurs et les synthons périphériques **4a-c** obtenus, nous avons préparé les dérivés bis-phosphonate de chaque cœur aromatique, biphényle **6** et fluorényle **9** (**Figure 32**).

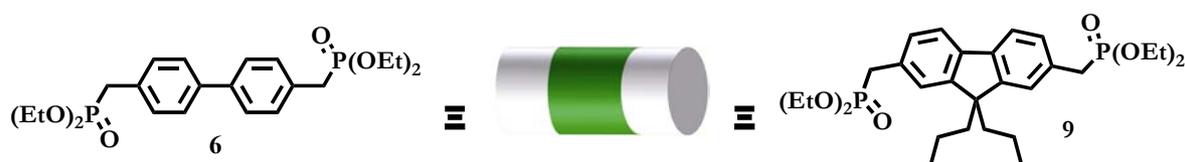


Figure 32 Structure des deux cœurs aromatiques préparés.

Le composé **6** a été préparé en partant du 4,4'-diméthylbiphényle commercial par bromation radicalaire avec le N-Bromosuccinimide pour donner le 4,4'-bis(bromométhyl)biphényle **5** avec un rendement de l'ordre de 50%.¹⁴⁰ Ce dernier a été transformé en **6** par réaction de type Arbuzov¹⁴¹ en présence de phosphite de triéthyle (**Schéma 3**).

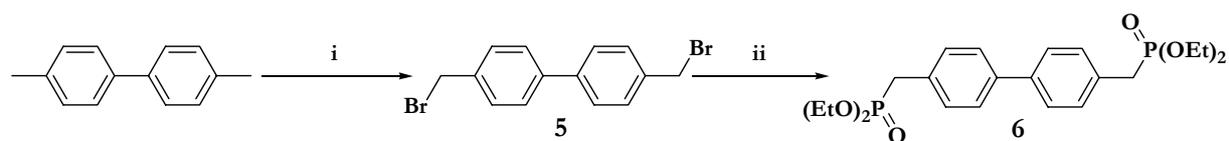


Schéma 3 Synthèse du cœur aromatique **6**.

(i) NBS, AIBN, CCl_4 , 76 °C, 18h, 50% ; (ii) $P(OEt)_3$, reflux, 4h, 95%.

Le cœur aromatique **9** a été préparé à partir du fluorène commercial. Pour s'affranchir des protons acides portés par le carbone en position 9 du fluorène, nous les avons substitués par deux groupements propyle par réaction de Williamson avec le 1-bromopropane en milieu alcalin (*t*-BuOK) pour donner **7**.¹⁴² Le produit **7** ainsi obtenu est réagit en milieu acide (acide bromhydrique) avec le formaldéhyde pour donner le dérivé d'halogénure **8**.¹⁴³ De même que pour le cœur aromatique **6**, le produit **9** a été obtenu par réaction d'Arbuzov entre le composé **8** et le phosphite de triéthyle (**Schéma 4**).

¹⁴⁰ Plater, M.J., Jackson, T. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 4673-4685.

¹⁴¹ Michaelis, A., Kaehne, R. *Chem. Ber.*, **1898**, 31, 1408.

¹⁴² Zheng, M., Ding, L., Lin, Z., Karasz, F. E. *Macromolecules*, **2002**, 35, 9939-9946.

¹⁴³ Jin, S.-H., Kim, M.-Y., Koo, D.-S., Kim, Y.-I. *Chem. Mater.*, **2004**, 16, 3299-3307.

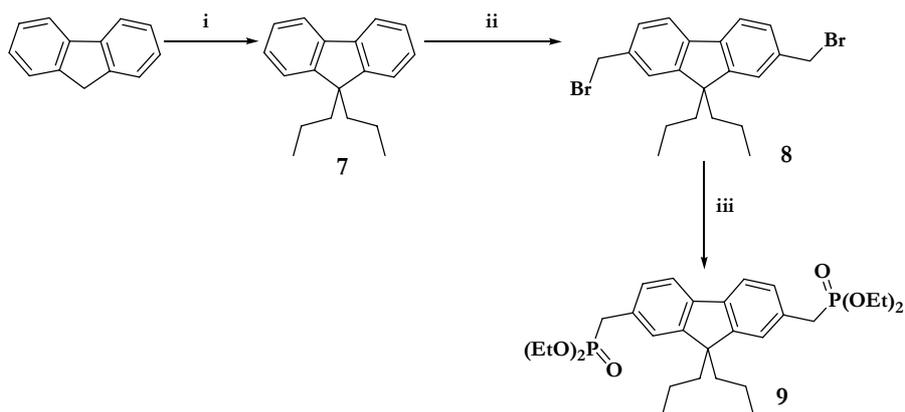


Schéma 4 Synthèse du cœur aromatique **9**.

(*i*) $PrBr$, $tBuOK$, rt , 80% ; (*ii*) $(CH_2O)_n$, H_3PO_4 , HBr , 60 °C, 24h, 45% ; (*iii*) $P(OEt)_3$, reflux, 4h, 95%.

II.B.3. SYNTHÈSE DES CHROMOPHORES FINAUX

Les chromophores finaux à cœur biphenyle **12**, **11** et **10** ont été obtenus par un double couplage de type Wadsworth-Emmons entre le cœur aromatique **6** et les dérivés aldéhydiques **4a**, **4b** et **4c** respectivement (**Schéma 5**).¹⁴⁴

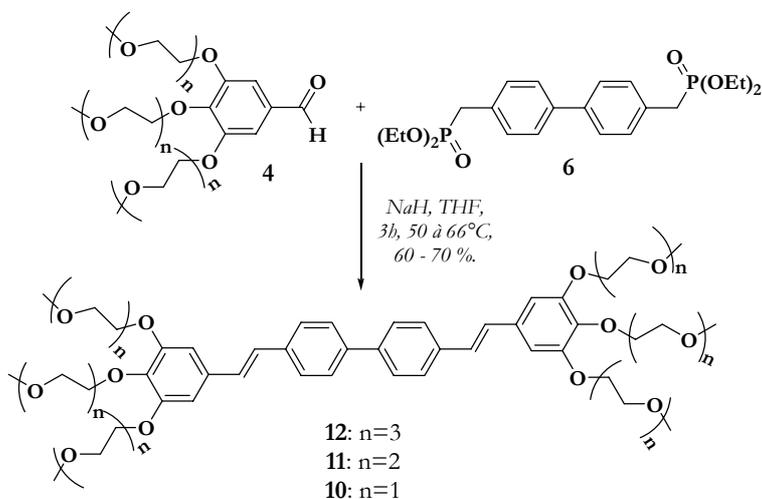


Schéma 5 Synthèse des chromophores finaux **10**, **11** et **12**.

Le couplage entre le cœur aromatique **9** et les dérivés aldéhyde **4a** et **4b** a donné les chromophores **13** et **14** respectivement (**Schéma 6**).¹⁴⁴

¹⁴⁴ Hayek, A., Bolze, F., Nicoud, J.-F., Baldeck, P. L., Mély., Y. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2006**, 5, 102-106.

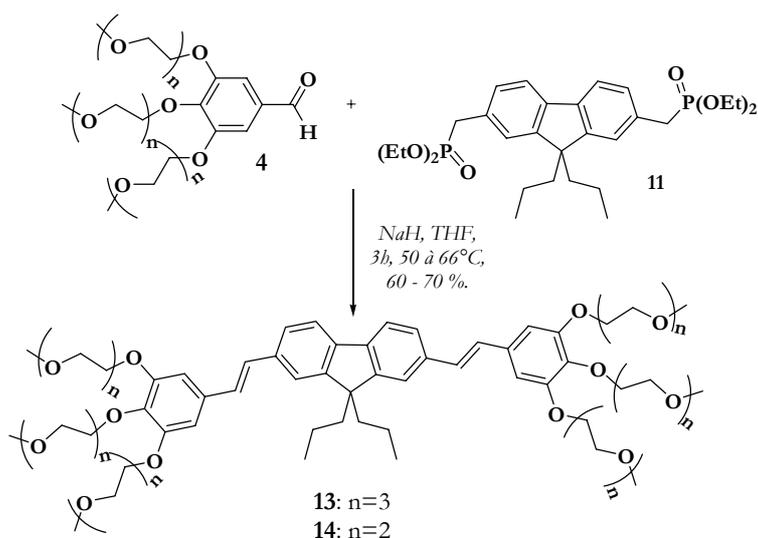


Schéma 6 Synthèse des chromophores finaux **13** et **14**.

Nous constatons que, dans notre cas, cette méthode de synthèse (couplage de Wadsworth-Emmons) présente plusieurs avantages par rapport au couplage de Heck (la méthode utilisée pour préparer le **GMO-4**), en tenant compte du temps de la réaction (trois heures pour un couplage Wadsworth-Emmons et une semaine pour un couplage Heck) ainsi que pour la préparation des synthons. De plus le sous-produit phosphoré formé pendant le couplage de Wadsworth-Emmons est soluble en milieux aqueux ce qui facilite sa séparation du milieu réactionnel en fin de réaction, ce qui n'est pas le cas du couplage de Heck où plusieurs réactions secondaires se font en parallèle, ce qui implique une purification plus délicate.

La stéréochimie d'un produit préparé par le couplage de type Wittig est Z (Zusammen), alors que sous les conditions du couplage de Horner nous obtenons un mélange inévitable de E (Entgegen) et Z. Quant au couplage de Wadsworth-Emmons, la stéréochimie du produit final est E.¹⁴⁵ Expliquons maintenant comment on peut déterminer la stéréochimie à partir de la Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN-¹H). Prenons la molécule **12** comme exemple (**Figure 33**).

¹⁴⁵ Reichwein, J. F., Pagenkopf, B. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 1821-1824.

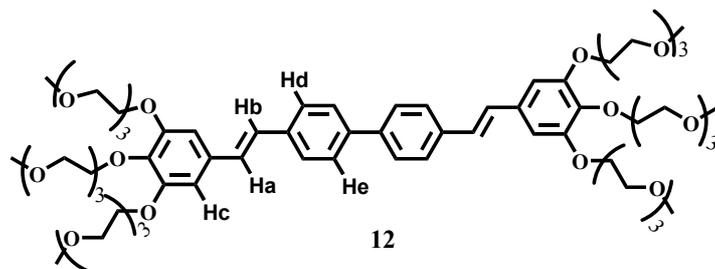


Figure 33 Structure de la molécule **12** montrant les différents types d'hydrogènes aromatiques.

Dans le cas de la molécule **12**, nous aurons pour Ha et Hb deux doublets (système AB). Comme Ha est plus blindé que Hb, voici dans la **Figure 34** le résultat simulé que l'on devait obtenir :

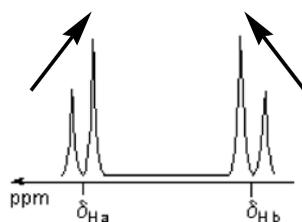


Figure 34 Effet de toit dans un système AB.

Il est alors difficile de voir que l'on a bien deux doublets, car les raies extérieures sont d'intensités plus faibles (Effet de toit). Pour le proton Ha, dans ce cas là, la constante de couplage entre Ha et Hb devrait être une constante J^3_{trans} .

Il faut noter que, la constante de couplage J n'a rien à voir avec la différence de déplacement chimique entre Ha et Hb ($\delta_{Ha} - \delta_{Hb}$). Pour la même molécule, mais avec une isomérisation Z ou *cis*, on aura les mêmes valeurs de déplacement chimique, mais avec des doublets plus resserrés, puisque la constante J^3_{cis} (5 à 12 Hz) est plus petite que la constante J^3_{trans} (12 à 18 Hz).

Ceci sera plus clair en montrant la partie du spectre RMN- 1H dans le chloroforme deutéré correspondante aux protons du système aromatique de la molécule **12** (**Figure 35**).

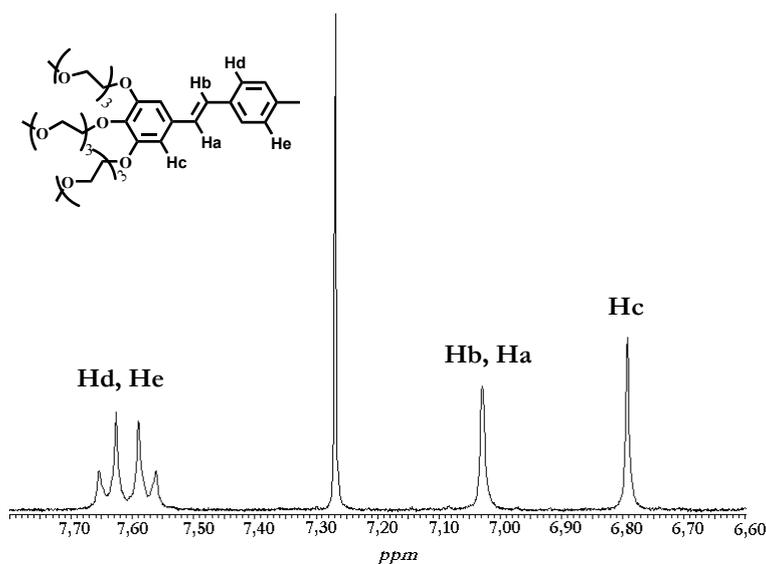


Figure 35 Spectre RMN- ^1H dans le CDCl_3 du système aromatique de la molécule **12**.

Comme il est montré dans la **Figure 35**, pour les protons Ha et Hb, à la place du système AB nous avons obtenu un singulet. Donc la stéréochimie E n'est pas prouvée. Une question que nous nous sommes posée. Pour pouvoir répondre à cette question, nous avons chauffé à reflux la molécule **12** dans le toluène en présence d'une petite quantité de cristaux d'iode pendant une nuit,¹⁴⁶ nous avons retrouvé le même spectre RMN- ^1H décrit dans la **Figure 35**, ce qui confirme la présence de la stéréochimie E de la molécule **12**.

Cet effet peut être expliqué par le fait que la constante de couplage J_{ab} est très supérieure à la valeur absolue de la différence entre les déplacements chimiques de Ha et Hb. $J_{ab} \gg |\delta\text{Ha} - \delta\text{Hb}|$ (avec $\delta\text{Ha} < \delta\text{Hb}$) et dans ce cas là, nous avons ce qu'on appelle un système A_2 , où la constante de couplage J_{AA} n'est plus mesurable ou déductible du spectre.¹⁴⁷

Egalement nous avons étudié le spectre RMN- ^1H de la molécule **12** dans l'eau lourde (D_2O). Cette fois nous n'avons pas obtenu un singulet pour les hydrogènes Ha et Hb mais un système AB avec une constante de couplage de 15,6 Hz, qui est caractéristique de la stéréochimie E ou *trans*. La partie du spectre RMN- ^1H dans le D_2O correspondante aux protons du système aromatique de la molécule **12** est illustrée dans la **Figure 36**.

¹⁴⁶ Eckert, J.-F., Nicoud, J.-F., Nierengarten, J.-F., Liu, S.-G., Echegoyen, L., Bargelletti, F., Armaroli, N., Ouali, L., Krasnikov, V., Hadziannou, G., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 7467-7479.

¹⁴⁷ Harald Günther, Préface de Guy Ourisson, « *La spectroscopie de RMN, Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone 13 en chimie* », **1994**.

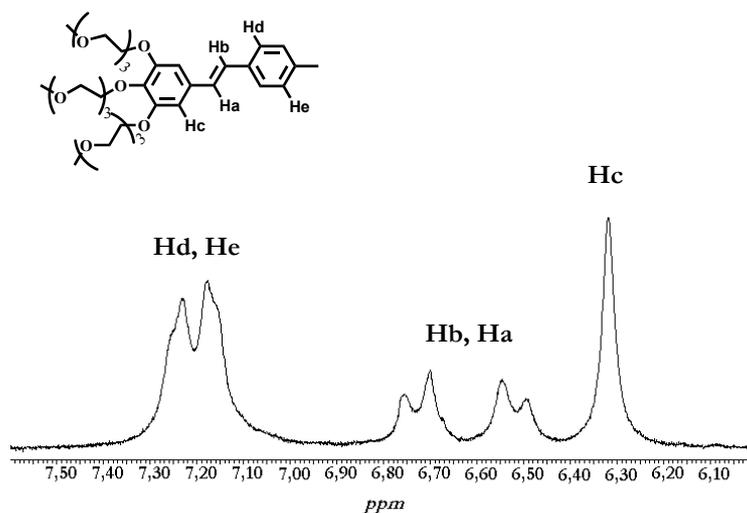


Figure 36 Spectre RMN- ^1H dans le D_2O du système aromatique de la molécule **12**.

Les spectres RMN- ^1H des toutes les molécules **10-14** ont montré les mêmes caractéristiques au niveau de la double liaison. Comme il a été montré avec la molécule **12**, et comme il est connu pour la stéréochimie du produit du couplage de type Wadsworth-Emmons nous pouvons conclure que la stéréochimie de toutes nos molécules est la E.¹⁴⁵

II.C. SYNTHÈSE DES CHROMOPHORES DISSYMMÉTRIQUES

Nous avons utilisé la notion de « dissymétrique », pour montrer que les deux extrémités périphériques de la molécule ne sont pas identiques. Une des deux parties périphériques reste inchangée, afin de garder la solubilité dans l'eau, et on modifie l'autre périphérie en y ajoutant un groupement fonctionnel sans affecter notablement les propriétés électroniques du système (système gallique).

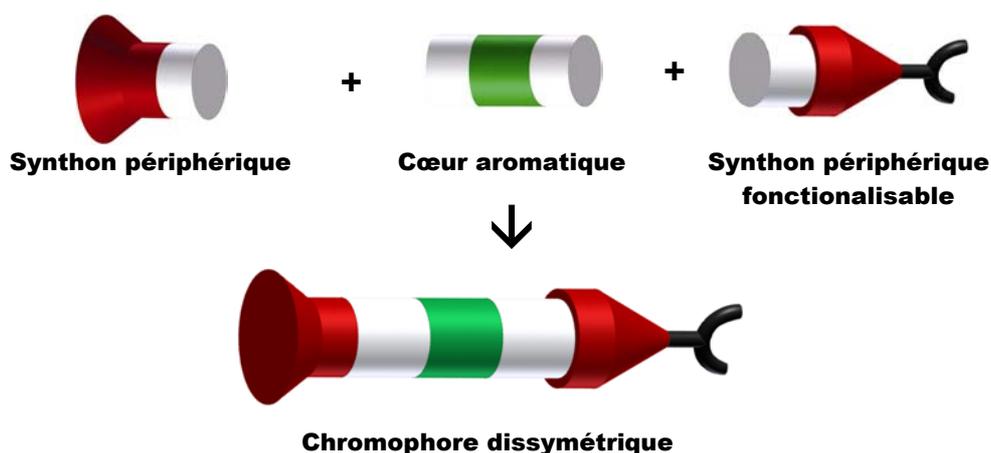


Figure 37 Représentation graphique des parties constituant un chromophore dissymétrique

Les dérivés fonctionnalisés (isothiocyanate et cyclène) peuvent être obtenus à partir de leurs dérivés aminés correspondant, qui sont eux-mêmes obtenus à partir de leurs dérivés phénoliques (Figure 38).

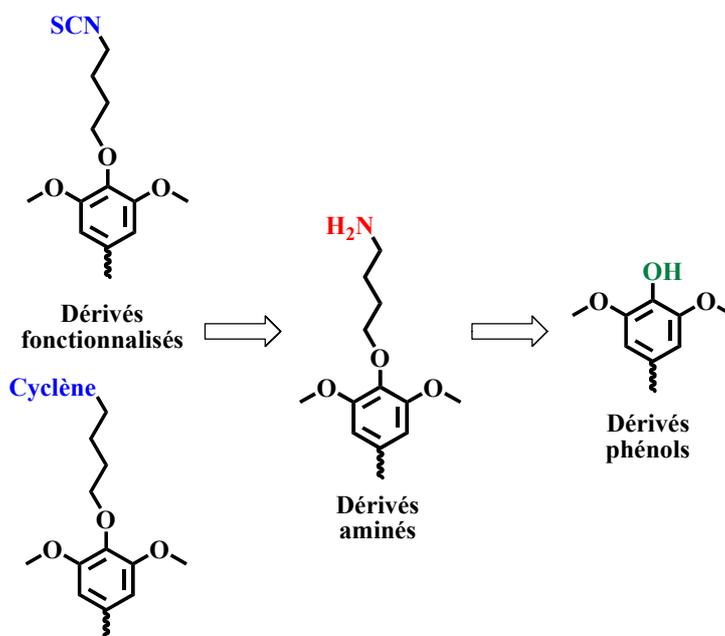


Figure 38 Schéma rétrosynthétique envisagé pour la préparation des dérivés fonctionnalisés amino-réactifs et cyclène.

II.C.1. SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS AMINÉS

L'étape clé de la synthèse des dérivés aminés est l'étape de synthèse des dérivés phénoliques pour chaque cœur aromatique (biphényle et fluorényle).

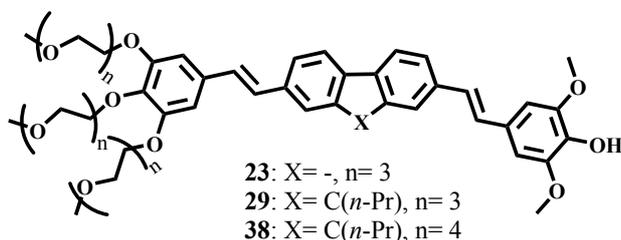


Figure 39 Les dérivés phénols préparés **23**, **29** et **38**.

II.C.1.a. Dérivé phénol à cœur biphényle

Nous avons préparé le dérivé phénol à cœur biphényle par deux voies de synthèse différentes. Ces deux voies se différencient l'une de l'autre par le nombre d'étapes, le rendement total, le temps global de la synthèse et l'échelle de synthèse.

II.C.1.a.1 Synthèse du dérivé phénol à cœur biphényle par la voie A

Cette méthode de synthèse a été proposée en premier temps pour réaliser la synthèse de chromophore dissymétrique à cœur biphényle. Avec cette voie nous étions limités à la synthèse du dérivé phénol à cœur biphényle seulement. Le rendement global est de l'ordre de 70%. Nous avons utilisé un seul synthon déjà préparé lors de la synthèse des molécules symétriques (le dérivé aldéhyde **4a**). Les autres étapes ont consisté à préparer le cœur aromatique d'architecture dissymétrique, ainsi que le deuxième synthon périphérique fonctionnalisable.

II.C.1.a.1.i Synthèse du dérivé phénol à cœur biphényle par la voie A

Dans cette voie de synthèse, l'étape déterminante de l'architecture finale de la molécule est l'étape de la synthèse du cœur aromatique. Nous avons envisagé d'obtenir les deux stilbènes en utilisant dans un premier temps un couplage de type Wadsworth-Emmons et dans un second temps, un couplage de type Heck. Pour ce faire, le cœur aromatique devra porter un groupement halogénure d'un côté et un groupement phosphonate de l'autre (**Schéma 7**).

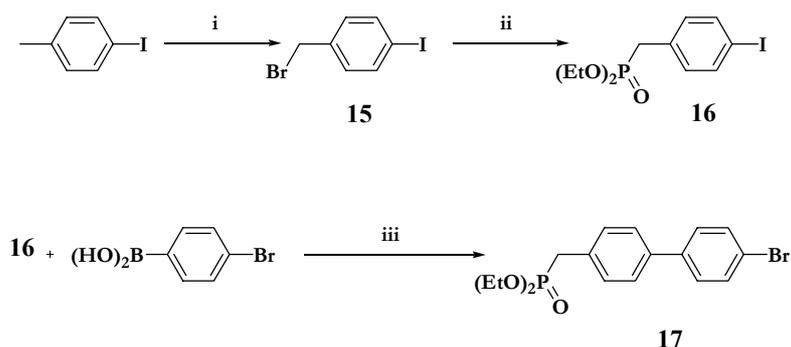


Schéma 7 Synthèse du cœur aromatique asymétrique **17**.

(**i**) Bromosuccinimide, AIBN, CCl₄, 76 °C, 18h, 50% ; (**ii**) P(OEt)₃, reflux, 4h, 95% ;
 (**iii**) (PPh₃)₄, benzène, Na₂CO₃(aq)/EtOH, 80 °C, 3h, 73%.

Par une réaction radicalaire avec le N-bromosuccinimide amorcée par l'AIBN, le 4-Iodotoluène conduit au composé **15**,¹⁴⁸ qui réagit ensuite avec le phosphite de triéthyle pour donner le phosphonate **16**.¹⁴⁹ Enfin un couplage de type Suzuki¹⁵⁰ entre le produit **16** et l'acide *p*-bromophényl boronique commercial, conduit au cœur aromatique **17** avec un bon rendement (de l'ordre de 73 %).

Ce cœur nous permettra de réaliser un couplage de Wadsworth-Emmons sur le groupement phosphonate, et un couplage de Heck sur le groupement bromure.

Nous avons réalisé le couplage de Wadsworth-Emmons sur le cœur aromatique **17** sur le groupement phosphonate (**Schéma 8**). Ce couplage a été envisagé en premier temps pour éviter les réactions secondaires qui pourraient avoir lieu sur les hydrogènes benzyliques en voisinage de phosphonate. Nous avons utilisé le synthon périphérique **4a** synthétisé précédemment au cours de la préparation des molécules symétriques.

¹⁴⁸ Wilson, A. A., Dannals, R. F., Ravert, H. T., James Frost, J., Wagner, H. N. *J. Med. Chem.*, **1989**, 32, 1057-1062.

¹⁴⁹ Kung, H. F., Lee, C.-W., Zhuang, Z.-P., Kung, M.-P., Hou, C., Plössl, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 12740-12741.

¹⁵⁰ Larios-López, L., Navarro-Rodríguez, D., Arias-Marín, E.M., Moggio, I., Reyes-Castañeda, C.V., Donnio, B., LeMoigne, J., Guillon, D., *LIQUID CRYSTALS*, **2003**, Vol. 30, No. 4, 423-433.

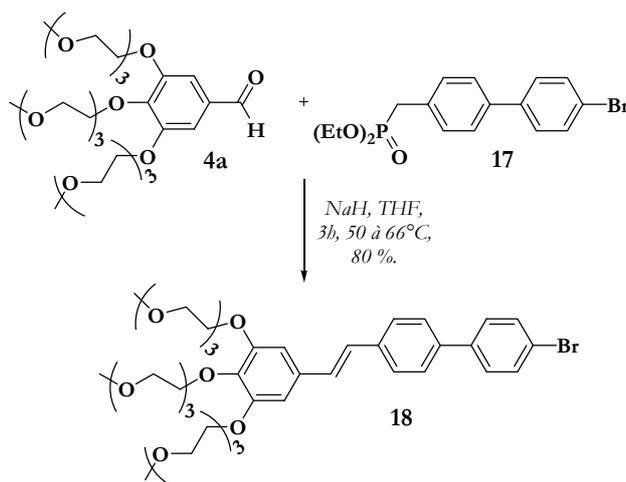


Schéma 8 Synthèse de **18** par couplage de Wadsworth-Emmons.

Pour l'obtention du deuxième dérivé stilbénique, nous avons envisagé un couplage de type Heck, d'où la nécessité d'un dérivé styrénique. Dans la partie suivante nous allons présenter la synthèse du dérivé styrénique fonctionnalisable.

Nous avons choisi le syringaldéhyde comme synthon fonctionnalisable (**Figure 40**). C'est un dérivé naturel de benzaldéhyde commercial substitué par deux groupes méthoxy en positions 3 et 5 et un groupe hydroxyle en position 4. Les trois oxygènes en positions 3, 4 et 5 vont jouer le rôle des groupements électrodonneurs pour maintenir la « symétrie électronique » de la molécule (molécule centrosymétrique).

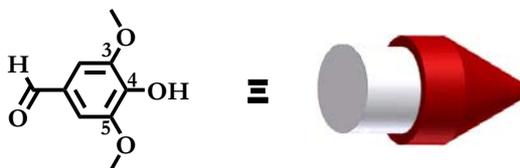


Figure 40 Structure chimique du syringaldéhyde.

La première étape consiste à protéger la fonction phénol. Le groupe protecteur utilisé est le *tert*-butyldiméthylsilyl (TBDMS).¹⁵¹ Cette protection est nécessaire car dans une deuxième étape, on forme le dérivé styrénique **20**. Or, ce dernier est très instable et polymérise spontanément à température ambiante (**Schéma 9**).

¹⁵¹ Shida, Y., Sakaguchi, T., Shiotsuki, M., Sanda, F., Freeman, B. D., Masuda, T. *Macromolecules*, **2005**, *38*, 4096-4102.

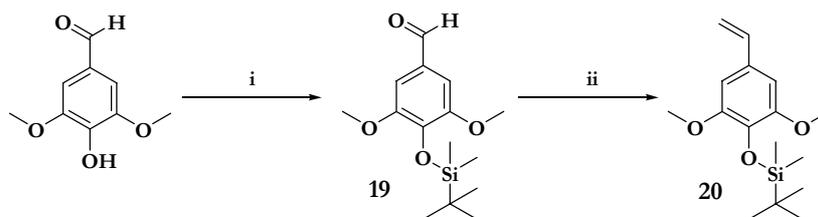


Schéma 9 Synthèse de dérivé styrenique **20**.

(*i*) TBDMSCl, Imidazole, DMF/CH₂Cl₂, 80 °C, 12h, 62% ; (*ii*) PPh₃CH₃Br, *t*BuOK, THF, 12h, rt, 65%.

Nous avons réalisé un couplage de type Heck entre le produit **18** obtenu par le premier couplage de Wadsworth-Emmons sur le cœur aromatique **17**¹⁵² et le dérivé styrenique fonctionnalisable **20**. Ce couplage a abouti à la molécule phénol-protégé **22** (Schéma 10).

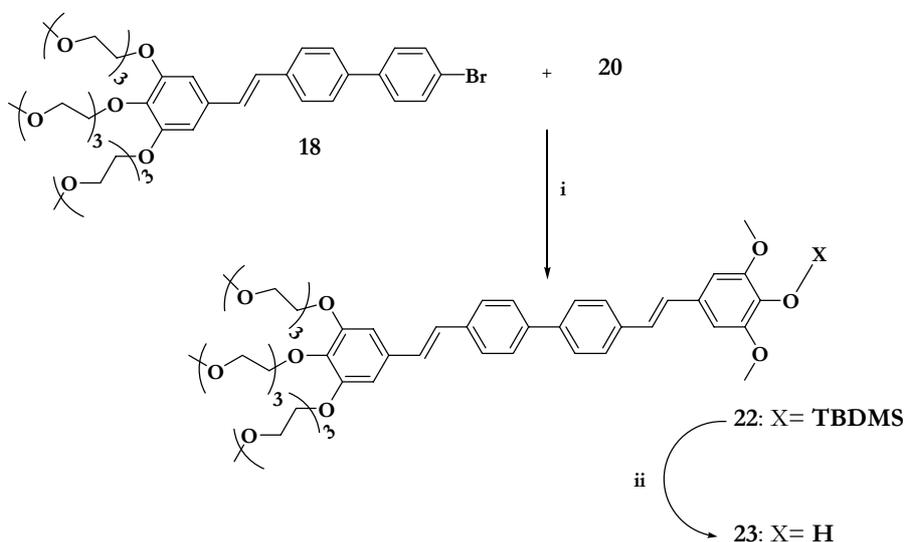


Schéma 10 Schéma de synthèse de **23**.

(*i*) Et₃N, Xylène, Pd(OAc)₂, TOP, 120 °C, 48 heures, 60% ; (*ii*) TBAF, THF, 1 heure, 95 %.

La déprotection a été effectuée par de TBAF dans le THF.¹⁵³ La molécule **23** ainsi obtenue sera le point de départ pour l'obtention du dérivé amine-libre. Intéressons nous maintenant à la synthèse de la molécule **22** par la « voie B ».

¹⁵² Lincker, F., Bourgun, P., Masson, P., Didier, P., Guidoni, L., Bigot, J.-Y., Nicoud, J.-F., Donnio, B., Guillon, D. *Org. Lett.*, **2005**, Vol. 7, No. 8, 1505-1508.

¹⁵³ Feldman, K. S., Sambadam, A., Bowers, K. E., Appel, H. M. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5794.

II.C.1.a.2 Synthèse du dérivé phénol à cœur biphenyle par la voie B

La voie B se différencie de la voie A par le nombre d'étapes (7 étapes pour la voie A pendant une semaine et 3 étapes pour la voie B pendant deux jours) donc la durée de la synthèse, ainsi que par le rendement global (72% pour la voie A et 55% pour la voie B). L'avantage de la voie B est qu'on peut utiliser les synthons déjà préparés lors de la synthèse des molécules symétriques préparées à grande échelle. L'étape supplémentaire est la protection du syringaldéhyde par le TBDMS (composé **19**). Par cette voie, nous allons synthétiser les deux stilbènes par deux couplages de type Wadsworth-Emmons successifs, mais dans des conditions de réaction différentes.

Pour éviter le bis-couplage sur le cœur aromatique nous avons réalisé la réaction entre l'aldéhyde **19** et le cœur aromatique **6** à froid ($\sim 0^\circ\text{C}$) avec des stœchiométries définies (**Schéma 11**).¹⁵⁴

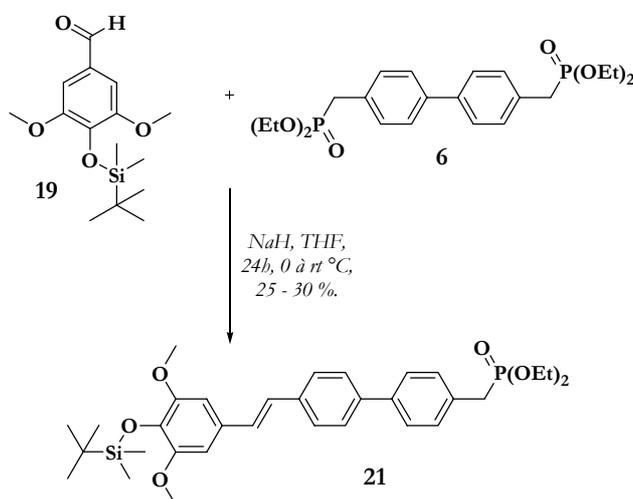


Schéma 11 Couplage de Wadsworth-Emmons à froid.

Le produit mono-couplé **21** a été obtenu avec un rendement de 25-30 %. Le produit majoritaire (60 % des produits finaux) de ce couplage est la molécule symétrique (**Figure 41**).

¹⁵⁴ Liang, T.-T., Azechara, H., Ishida, T., Mizutani, W., Tokumoto, H., *Synthetic Metals*, **2004**, 140, 139–149.

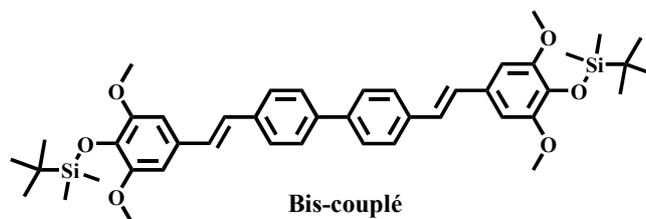


Figure 41 Sous-produit bis-couplé.

Nous ne pouvons pas empêcher la formation de ce produit en grande quantité vu la forte réactivité qui présentent les hydrogènes benzyliques à côté du groupement phosphonate. Cette réactivité peut être avantageuse en utilisant ce produit bis-couplé pour élaborer de composés ayant deux groupements fonctionnels et conduire à une double bio-conjugaison par exemple (cross linking). D'autre part, la formation en grande quantité de la molécule symétrique peut être empêché en réalisant le couplage de Wadsworth-Emmons à très basse température.

La deuxième étape est encore un couplage de type Wadsworth-Emmons, mais cette fois sous les conditions normales (c.à.d. de 50 à 66 °C pendant 3 heures). Ce couplage a été réalisé entre le produit **21** obtenu lors de l'étape précédente et l'aldéhyde **4a** préparé lors de la synthèse des molécules symétriques (**Schéma 12**).

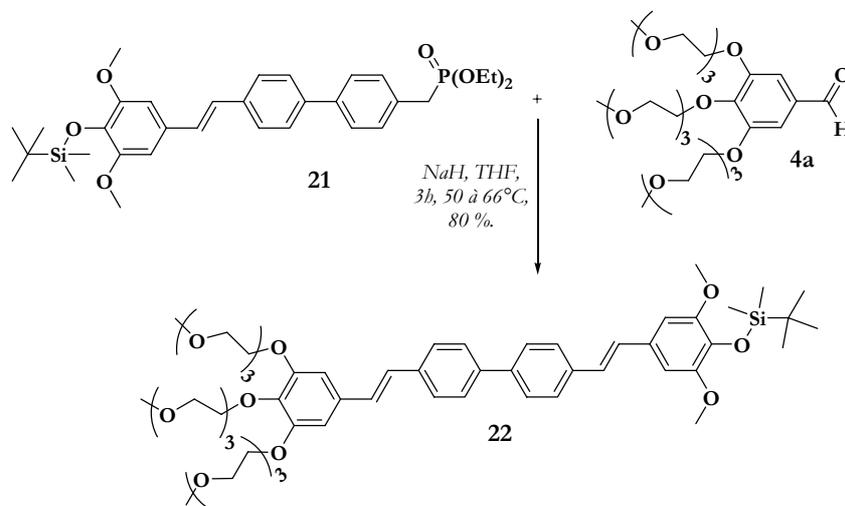


Schéma 12 Deuxième couplage de Wadsworth-Emmons.

Le produit **22** est obtenu avec un rendement de 80 %. L'avantage de cette voie est le gain du temps pour l'obtention d'une grande quantité de la molécule protégée non-fonctionnalisée **22**. Le temps estimé pour la synthèse du dérivé phénol par la voie A est de l'ordre de deux semaines, alors que pour la synthèse par la voie B, si on utilise les synthons déjà préparés lors de la synthèse des molécules symétriques, est de l'ordre de 3 jours. Le seul inconvénient de la voie B est le rendement global (~ 55 %).

II.C.1.b. Dérivés phénoliques à cœur fluorényle

La synthèse des dérivés phénoliques à cœur fluorényle ne peut se faire que par la voie de synthèse B. Donc, nous avons utilisé le cœur aromatique **11** et l'aldéhyde **4a** déjà synthétisés lors de la synthèse des molécules symétrique. Pour maintenir une bonne solubilité dans l'eau, nous avons préparé un nouveau dérivé d'aldéhyde **4d** avec quatre groupements oxyéthylène par chaîne latérale (**Figure 42**).

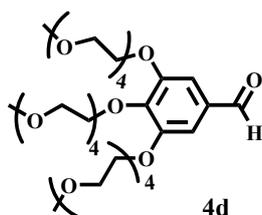


Figure 42 Dérivé aldéhyde **4d**.

La synthèse de **4d** est identique à celle de **4a**. Pour ce faire, nous avons préparé le tosylate de tétra-éthylène glycol **1d**, en suivant le protocole que pour les dérivés tosylate **1**, en partant de l'éther monométhyle de tétra-éthylène glycol commercial. Dans un second temps, nous avons réalisé un couplage de type Wadsworth-Emmons entre le cœur aromatique **11** et l'aldéhyde protégé **19** à froid ($\sim 0^\circ \text{C}$). Ce couplage a abouti à la formation du produit mono-couplé **27** avec un rendement de l'ordre de 25 % (**Schéma 13**).

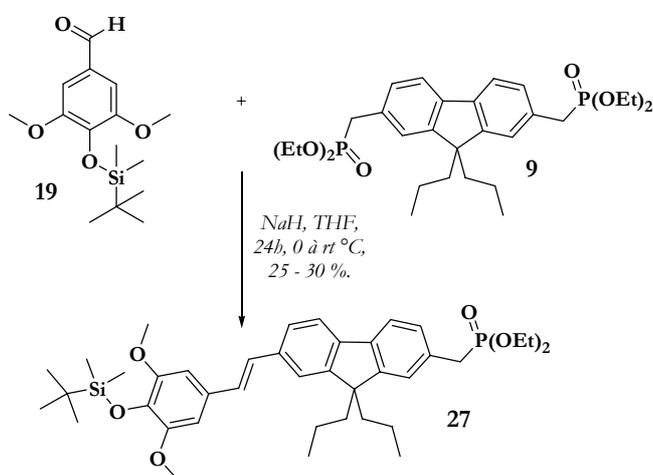


Schéma 13 Couplage de Wadsworth-Emmons à froid.

Comme dans le cas du dérivé phénol à cœur biphenyle, le produit majoritaire de ce couplage est le bis-couplé (65 % de produits finaux), dont les avantages sont les mêmes que la molécule bis-couplée à cœur biphenyle (**Figure 43**).

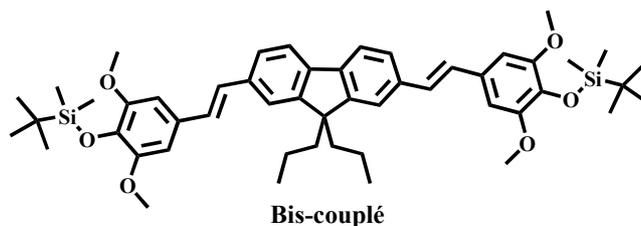
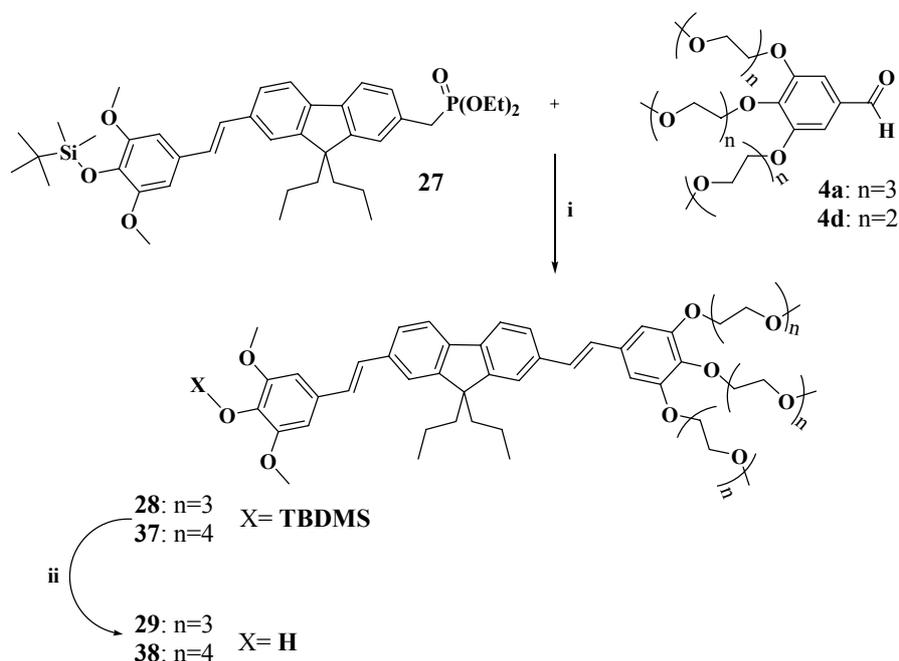


Figure 43 Sous-produit bis-couplé.

La deuxième étape de cette synthèse est un deuxième couplage de type Wadsworth-Emmons entre le produit obtenu **27** et les dérivés aldéhydes **4a** et **4d**. Ces couplages ont abouti à la formation de deux molécules de dérivés phénol-protégé **28** et **37** respectivement.



Les groupements phénols des molécules **28** et **37** ont été déprotégés par l'action du TBAF dans le THF, pour obtenir les molécules **29** et **38** respectivement (**Schéma 14**). Les molécules **29** et **38** sont les points de départ de la synthèse des dérivés aminés à cœur fluorényle.

II.C.1.c. Dérivés aminés

Nous avons tout d'abord choisi, de préparer le dérivé aminé à partir de l'azoture, par réaction de Staudinger (**Figure 44**), mais nous avons été confrontés dans la dernière étape au problème de séparation de l'oxyde de triphénylphosphine formé du produit final.

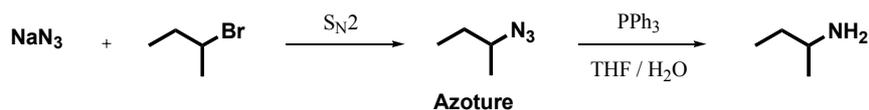


Figure 44 Equation bilan de la formation d'une amine primaire par la réaction de Staudinger.

Pour résoudre ce problème, nous avons suivi une autre méthode de préparation de l'amine, la synthèse de Gabriel qui permet l'obtention d'une amine primaire à partir d'un dérivé de phthalimide (**Figure 45**).

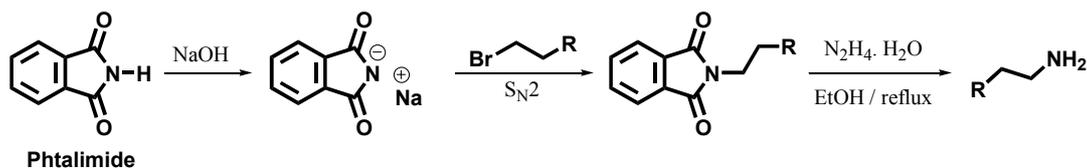


Figure 45 Equation bilan de la formation d'une amine primaire suivant la synthèse de Gabriel.

Nous avons obtenu les dérivés aminés **25** (à cœur biphényle) et **31** et **40** (à cœur fluorényle) en deux étapes (**Schéma 15**).

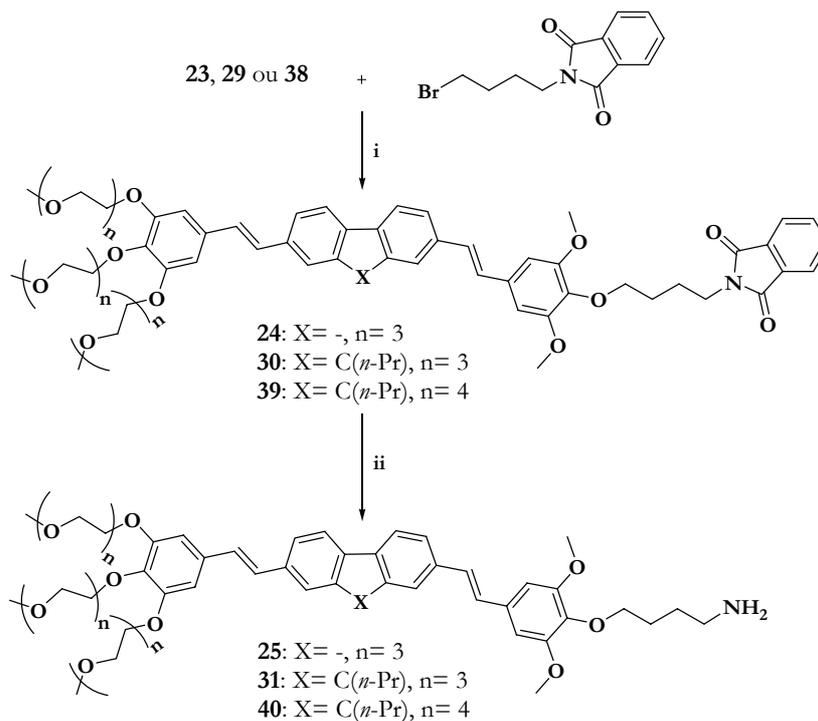


Schéma 15 Schéma de synthèse de dérivés de l'amine-libre **25**, **31** et **40**.

(i) K_2CO_3 , DMF, 80 °C, 48 h, 75% ; (ii) $N_2H_4.H_2O$, EtOH, reflux, 48 h, 95%.

La première étape est une substitution nucléophile de type Williamson du brome du N-(4-bromobutyl)phthalimide par le groupement phénolate des molécules **23**, **29** et **38**,¹⁵⁵ nous avons

¹⁵⁵ Milgrom, L. R., O'Neill, F., *Tetrahedron*, **1995**, Vol. 51, No. 7, 2137-2144.

ainsi obtenu les dérivés du phtalimide **24**, **30** et **39** respectivement. La deuxième étape est une déprotection de l'amine par l'action de l'hydrazine hydratée dans l'éthanol à chaud,¹⁵⁶ pour aboutir finalement aux dérivés aminés **25**, **31** et **40** respectivement.

II.C.1.d. Conclusion

Nous avons réalisé la synthèse de trois molécules de dérivé aminé, une à cœur biphenyle et les deux autres sont basées sur une structure à cœur fluorényle. La synthèse du dérivé phénol à cœur biphenyle a été réalisée par deux voies de synthèse différentes.

II.C.2. FONCTIONNALISATIONS

Pour des applications en imagerie cellulaire, nous avons prévu deux types de fonctionnalisation. Selon le type de fonctionnalisation utilisée, nous pouvons distinguer deux séries de chromophores fonctionnalisés : les chromophores amino-réactifs et le chromophore-cyclène.

II.C.2.a. Chromophores amino-réactifs

Les chromophores amino-réactifs sont des fluorophores capables de réagir avec une amine primaire. La fonction la plus utilisée dans ce domaine est l'isothiocyanate (comme dans le cas de TRITC≡TétraméthylRhodamine IsoThioCyanate et le FITC≡Fluoresceine IsoThioCyanate). L'équation bilan de la réaction d'un groupement isothiocyanate avec une amine primaire est illustrée dans la **Figure 46**.

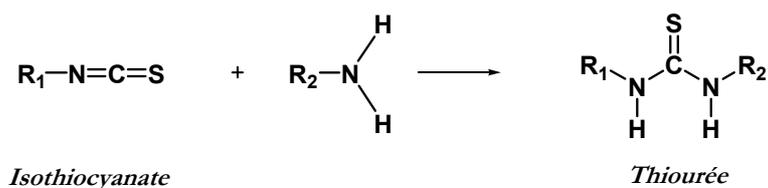


Figure 46 Réaction d'une amine primaire avec un isothiocyanate.

Les fonctions amines, sont présentes en grandes quantités dans les systèmes biologiques (comme les protéines). Pour cela, nous avons décidé d'introduire une fonction isothiocyanate sur la partie fonctionnalisée du chromophore.

¹⁵⁶ Compton, D. R., Prescott, W. R., Martin, J. B. R., Siegel, C., Gordon, P. M., Razdan, R. K., *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 3310-3316.

Nous avons réalisé la synthèse des dérivés isothiocyanate **26**, **32** et **41**, en faisant réagir le thiophosgène avec les molécules **25**, **31** et **40** respectivement en présence de diméthylaminopyridine (DMAP).¹⁵⁷ C'est une réaction très rapide, au bout de 15 minutes la conversion est totale. Il faut noter que le thiophosgène est un liquide rouge très toxique, nous l'avons manipulé avec grandes précautions (analogue des plusieurs gaz de combat). Le schéma de synthèse de ces chromophores est représenté dans le **Schéma 16**.

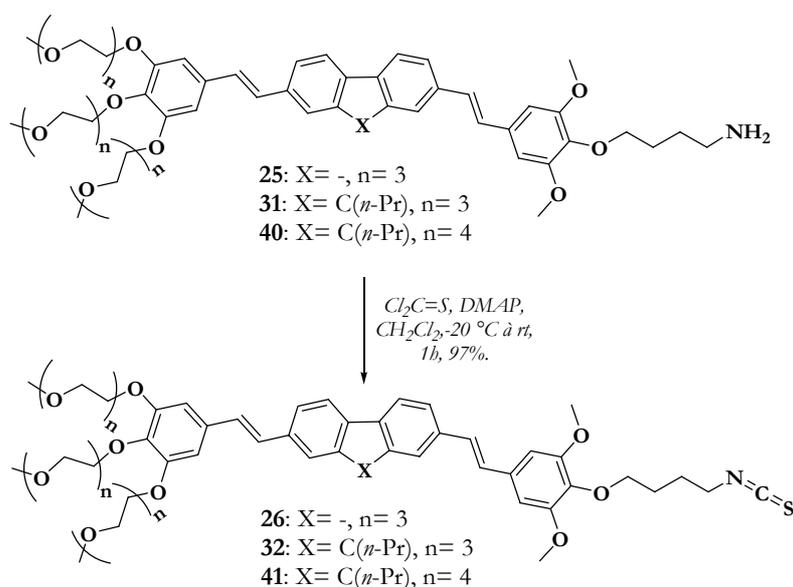


Schéma 16 Schéma de synthèse de dérivés d'isothiocyanate **26**, **32** et **41**.

Ces chromophores finaux sont tous solubles dans l'eau, et ils sont capables de réagir avec une fonction amine primaire d'une biomolécule, ou d'un polymère d'intérêt biologique, comme dans le cas du polyéthylène imine que nous allons présenter à la fin de ce chapitre.

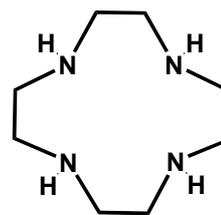
¹⁵⁷ Périon, R., Lemée, L., Ferrières, V., Duval, R., Plusquellec, D., *Carbohydrate Research*, **2003**, 338, 2779-2792.

II.C.2.b. Chromophore-cyclène

Afin de combiner l'imagerie à deux photons et l'imagerie par résonance magnétique IRM, nous avons décidé de relier le chromophore ADP à un agent de complexation de lanthanides : le cyclène. Ceci nous permet d'accéder à de nouveaux fluorophores multifonctionnels, très recherchés actuellement dans le domaine bio-moléculaire.

II.C.2.b.1.i - Les dérivés du cyclène

Le cyclène, portant également le nom de 1,4,7,10-tétraazacyclododécane, est une molécule hétérocyclique contenant quatre atomes d'azote espacés par quatre groupes éthyléniques (tétraazomacrocycle, **Figure 47**). Les quatre amines du cyclène sont secondaires, des réactions d'alkylation y sont donc possibles, et on appelle communément ces substituants des « bras ».



Cyclène

Figure 47 La structure chimique du cyclène.

Nous nous sommes intéressés dans notre étude à un dérivé du cyclène comportant trois bras carboxylates pour différentes raisons :

- Les fonctions acides carboxyliques, lorsqu'elles sont déprotonées, sont très solubles dans l'eau et ont un fort pouvoir complexant de lanthanide (elle complète la sphère de coordination de l'ion métallique).
- Le dérivé du cyclène que nous avons choisi est commercial (CheMatech^{*}) ce qui nous évite des étapes supplémentaires de synthèse.

La première étape de cette partie de synthèse est la transformation de la fonction amine de la molécule **31** en dérivé amide en la faisant réagir avec le chlorure de chloroacétyle en milieu basique pour donner la molécule **42** (**Schéma 17**).¹⁵⁸

^{*} www.chematech-mdt.com

¹⁵⁸ Li, C., Law, G.-L., Wong, W.-T., *Org. Lett.*, **2004**, Vol. 6, No. 26, 4841-4844.

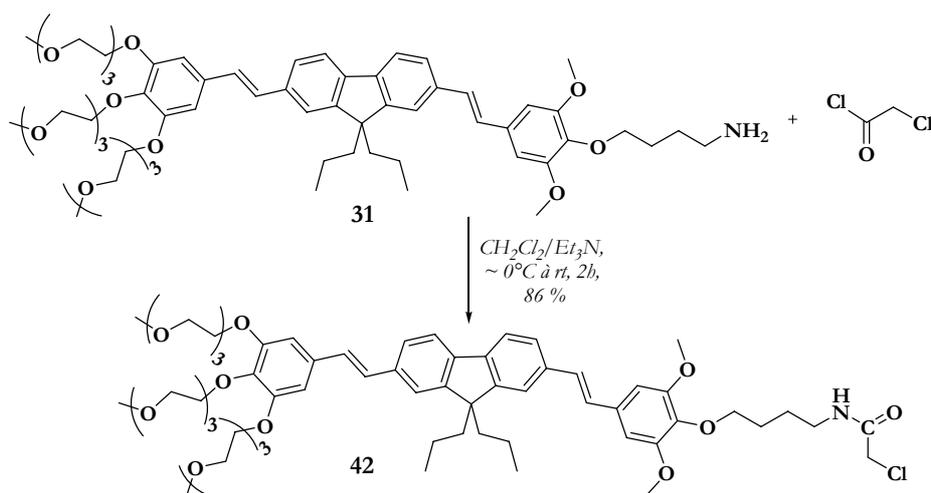


Schéma 17 Schéma de synthèse du **42**.

Le dérivé carboxylate du cyclène est disponible commercialement sous la forme protégée par le groupement *tert*-butyle, connu sous le nom de tri-*tert*-butyl-1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7-tri-acétate, ce que nous allons dénommer par la suite Cyclène. La structure chimique de ce dérivé du cyclène est présentée dans la **Figure 48**.

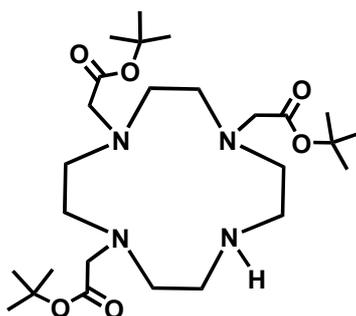


Figure 48 La structure chimique du dérivé carboxylate du cyclène.

L'amine secondaire du cyclène permet la substitution d'un fluorophore, qui permet par la suite d'étudier la luminescence du composé final obtenu. Pour cela, la deuxième étape de synthèse est une substitution de type Williamson du groupement chlorure de la molécule **42**, par le Cyclène,¹⁵⁸ cette étape de synthèse a abouti à la formation du chromophore **43** contenant un cyclène protégé (**Schéma 18**).

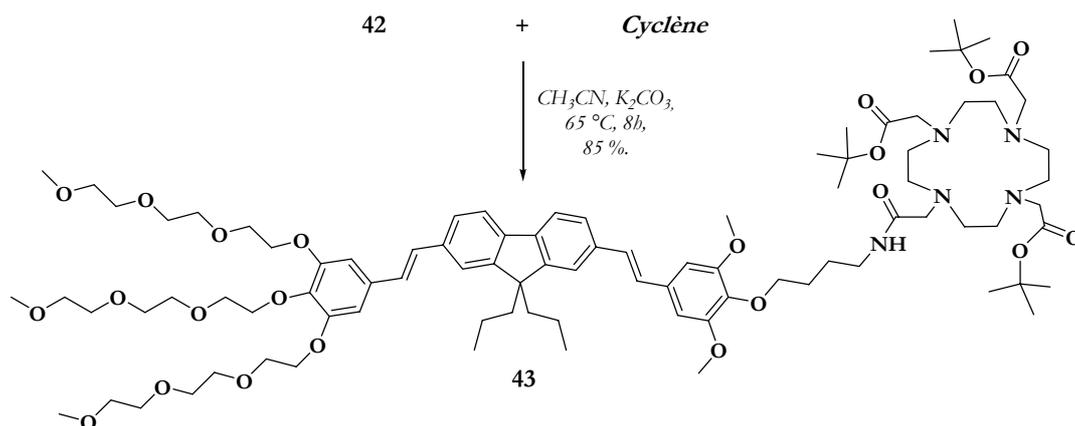


Schéma 18 Schéma de synthèse de la molécule 43.

La dernière étape est la complexation d'un lanthanide (Gadolinium III dans notre cas) qui est précédée par la déprotection des fonctions esters du dérivé du cyclène dans un milieu acide, par l'action de l'acide trifluoroacétique.¹⁵⁸ Le dérivé déprotégé ainsi obtenu réagit avec le trichlorure de gadolinium hexahydraté, en solution aqueuse de Na_2CO_3 pour donner le chromophore final 44.¹⁵⁸ Le schéma de synthèse est présenté dans le **Schéma 19**.

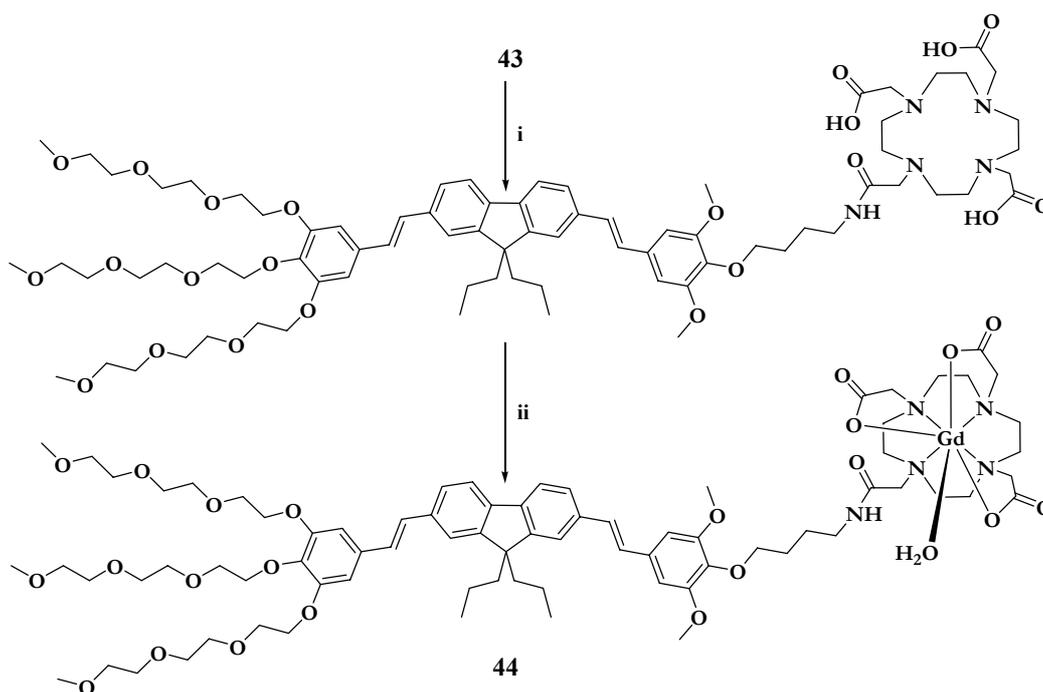


Schéma 19 Complexation du gadolinium par le dérivé du cyclène déprotégé.

(i) TFA, CH_2Cl_2 , rt, 12h (ii) $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq.})$, 80 °C, 12h, 90 %.

Nous avons choisi de travailler avec le chromophore dérivé aminé 31, car la solubilité dans l'eau de la molécule est renforcée par les ions carboxylates du dérivé du cyclène déprotoné, donc

nous n'avons pas besoin des longues chaînes d'oligo-éthylène glycol, et d'un autre côté les chromophores à cœur fluorényle ont montré une meilleure photo-stabilité par rapport aux chromophores à cœur biphényle. Nous allons expliquer cette propriété des différents chromophores dans la suite du chapitre. Nous dénommerons le chromophore **44** par la suite, le chromophore-cyclène.

II.C.2.c. Conclusion

Selon le type de la fonctionnalisation, nous pouvons distinguer deux types d'applications, soit pour étudier les propriétés de luminescence des systèmes bio-conjugués, en utilisant les chromophores amino-réactifs, soit l'imagerie par résonance magnétique IRM, en utilisant le chromophore-cyclène en la combinant à la microscopie à deux photons.

III. CARACTERISATION DES CHROMOPHORES

Ces chromophores sont voués à être utilisés comme colorants en microscopie à deux photons *in-vivo*. La fluorescence, par ses propriétés transitoires et non-invasives nous donne accès à différentes informations à partir desquelles la construction d'une image sera aisée. Nous avons étudié, dans cette partie la solubilité de ces chromophores et leur coefficient de partage entre un milieu lipidique et un milieu aqueux, ainsi que leurs propriétés photophysiques à un photon et à deux photons.

III.A. SOLUBILITE ET COEFFICIENT DE PARTAGE

III.A.1. SOLUBILITE

Tous les chromophores préparés sont solubles dans les solvants organiques usuels (Chlorure de méthylène, éthanol, DMSO, ...). Pour les applications biologiques choisies, la solubilité dans l'eau est un facteur essentiel. Elle a été estimée pour les chromophores **10-14** par la méthode turbidimétrique.¹⁵⁹ Les résultats sont présentés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 Solubilité dans l'eau pour les chromophores **10-14**.

Chromophore	10	11	12	13	14
Solubilité dans l'eau (g.L ⁻¹)	< 0,02	20	190	3	100

Dans la série de chromophores symétriques à cœur biphényle, la solubilité dans l'eau varie entre 20 et 200 g/L. Cependant la solubilité de **10** est faible, ce qui signifie que l'hydrophilie du groupement monoéthylène glycol ne peut pas compenser l'hydrophobie du système conjugué bis-stilbénique. Pour les chromophores symétriques à cœur fluorényle, l'introduction de deux groupements propyle sur le cœur aromatique a augmenté l'hydrophobie de la molécule. Par conséquent, la solubilité dans l'eau du chromophore **13** substitué par les chaînes diéthylène glycol est faible, mais celle du chromophore **14** substitué par des chaînes triéthylène glycol reste de l'ordre de 100 g/L.

Pour les chromophores dissymétriques, nous avons sélectionné la longueur de la chaîne oligo-éthylène glycol capable de rendre ces molécules bien solubles dans l'eau. Ainsi, les chaînes triéthylène glycol sont capables de rendre le chromophore à cœur biphényle **26** soluble dans l'eau ce qui n'est pas le cas avec le chromophore à cœur fluorényle **32**. Pour résoudre ce problème,

¹⁵⁹ Avdeef, A., Testa, B., *Cell. Mol. Life Sci.*, **2002**, 59, 1681–1689.

nous avons préparé le chromophore **41** avec des chaînes tétraéthylène glycol pour maintenir une solubilité dans l'eau importante.

La solubilité dans l'eau de ces chromophores est indépendante de la force ionique même dans une solution physiologique saline, à cause du caractère non-ionique des chaînes solubilisantes OEG.

III.A.2. COEFFICIENT DE PARTAGE *n*-OCTANOL/EAU

La répartition d'une molécule entre une phase aqueuse et une phase lipidique conditionne en partie ses propriétés biologiques, telles que le transport, le passage à travers les membranes, la biodisponibilité (distribution et accumulation),... Le coefficient de partage P d'une molécule dans un système biphasique constitué de deux solvants non-miscibles (le plus souvent le système *n*-octanol/eau), est reconnu pour sa faculté à modéliser les propriétés de cette molécule à passer à travers les membranes biologiques. Pour des solutions diluées, ce coefficient de partage *n*-octanol/eau est le rapport de la concentration d'une molécule de soluté dans le *n*-octanol sur sa concentration dans l'eau lorsque le système biphasique est en équilibre.

En fait, comme les valeurs de P mesurées s'étendent sur au moins douze ordre de grandeur ($10^{-4} - 10^8$), on utilise de préférence les logarithmes décimaux ($\log P$). Le coefficient de partage est donc une propriété physico-chimique importante qui peut être utilisée pour représenter la nature lipophile ou hydrophile d'une molécule. Quant au $\log P$, il constitue un paramètre unique qui regroupe plusieurs effets : tous les types d'interactions non-covalentes et la solvation.

Pour ce faire, nous avons mesuré le $\log P$ des chromophores symétriques par la méthode des flacons agités ou « shake-flask » recommandée par l'union européenne.¹⁶⁰ Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 Coefficient de partage pour les chromophores **10-14**.

Chromophore	10	11	12	13	14
$\log P$	---	1,7	1,9	---	1,5

Les différentes tailles de chaînes oligo-éthylène glycol et la structure du cœur aromatique ont induit de valeurs de $\log P$ qui varient entre 1,5 pour le chromophore à cœur fluorényle **14** à 1,9

¹⁶⁰ Simeonov, A., Matsushita, M., Juban, E. A., Thompson, E. H., Hoffman, T. Z., Beuscher, A. E. t., Taylor, M. J., Wirsching, P., Rettig, W., McCusker, J. K., Stevens, R. C., Millar, D. P., Schultz, P. G., Lerner R. A., Janda, K. D., *Science*, **2000**, 290, 307–313.

pour le chromophore **12** à cœur biphényle. Ces valeurs sont intéressantes, car la fenêtre optimale pour la pénétration dans le système nerveux central et l'absorption orale est $\log P \sim 2 \pm 0,7 - 1,8$ respectivement.¹⁶¹

III.B. ETUDES PHOTOPHYSIQUES DES CHROMOPHORES

Les propriétés photophysiques des chromophores préparés ont été étudiées dans différents solvants. Avant de présenter les résultats expérimentaux de cette étude, nous allons présenter rapidement les différents phénomènes photophysiques à un photon.

III.B.1. APPROCHE THEORIQUE DES PHENOMENES PHOTOPHYSIQUES

III.B.1.a. Diagramme de Perrin-Jablonski

Pour qu'un photon soit absorbé (A) par une molécule, il doit avoir l'énergie suffisante pour induire la transition d'un état singulet de basse énergie S_0 (état fondamental) vers les niveaux vibrationnels d'un état singulet d'énergie plus grande S_1 ou S_n (états excités). Ces différentes transitions sont présentées dans le diagramme de Perrin-Jablonski (**Figure 49**).

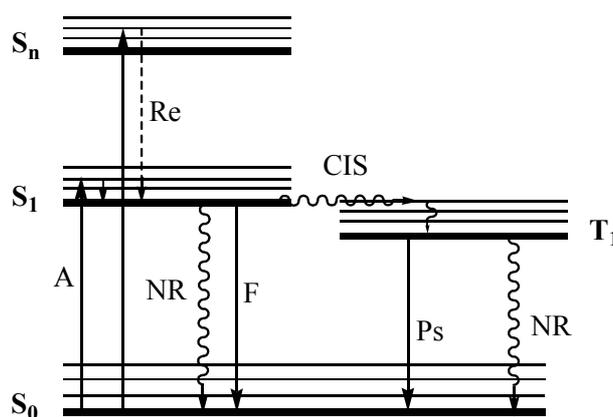


Figure 49 Diagramme de Perrin-Jablonski

L'état excité d'une molécule est instable. Cependant, après la relaxation (Re) vers le premier niveau singulet excité S_1 , la molécule se désexcite en retournant à un état plus stable (état fondamental S_0 ou état triplet T_1). Ce retour peut avoir lieu de manière radiative ou non-radiative. Le passage de l'état S_1 vers l'état T_1 ne se produit que par une transition non-radiative appelée croisement inter-système (CIS), alors que, la transition $S_1 \rightarrow S_0$ peut être non-radiative (émission de la chaleur, transfert d'énergie,...) ou radiative (fluorescence « F »). L'état triplet T_1 n'ayant pas

¹⁶¹ Zalipsky, S., *Bioconjugate Chem.*, **1995**, 6, 150–165.

le même spin que l'état S_0 , le phénomène de désexcitation vers l'état fondamental S_0 (plus stable) est plus lent. Cette transition $T_1 \rightarrow S_0$, peut être aussi non-radiative ou radiative (phosphorescence « Ps »).

III.B.1.b. Spectre d'absorption, d'excitation, d'émission et déplacement de Stoke

Le spectre d'absorption d'une molécule représente la variation du coefficient d'extinction molaire (ϵ), ou l'efficacité d'absorption en fonction de la longueur d'onde de la lumière absorbée. Un spectre d'absorption est décrit par les longueurs d'onde maximales d'absorption et l'intensité de cette absorption (absorbance « A »).

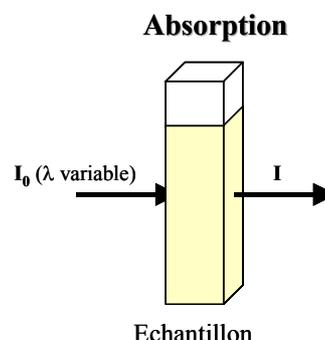


Figure 50 Spectroscopie UV-visible

L'absorbance est définie comme le logarithme du rapport entre l'intensité de la lumière incidente (I_0) et l'intensité de la lumière transmise (I_t) :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I_t}\right) \quad \text{équation-1}$$

Le coefficient d'extinction molaire ϵ ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$) et l'absorbance A sont reliés par la loi de Beer-Lambert,

$$A = \epsilon \times c \times l \quad \text{équation-2}$$

où, c ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) est la concentration de l'espèce absorbante et l (cm) le trajet optique de la lumière. Cette méthode implique une concentration donnée, de sorte que l'absorbance soit toujours inférieure à 1.

Le spectre d'excitation est mesuré en traçant la variation de l'intensité de fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'excitation, sachant que pour une population homogène de chromophores, l'intensité de fluorescence dépend du nombre de molécules excitées. Généralement le spectre d'excitation et le spectre d'absorption sont superposables.

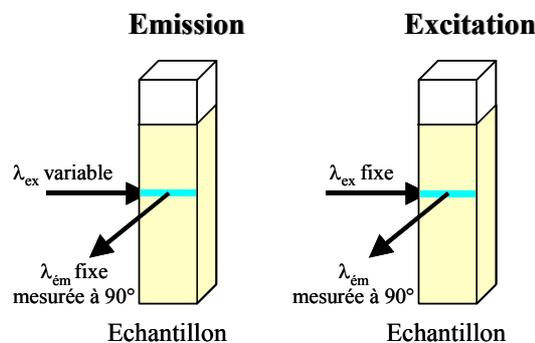


Figure 51 Spectroscopie UV-visible

Prenons comme exemple les courbes d'excitation et d'émission de la molécule **11** dans l'eau (Figure 52).

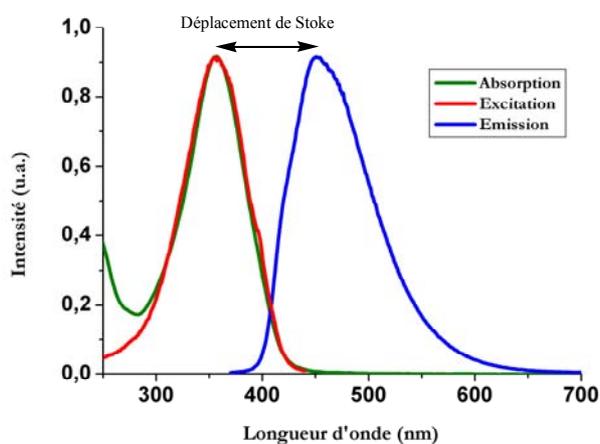


Figure 52 Spectres d'absorption, d'excitation et d'émission de la molécule **11** dans l'eau.

Les photons émis n'ont pas tous la même énergie. Celle-ci dépend du niveau vibrationnel de l'état fondamental dans lequel se trouve le chromophore après sa désexcitation : le spectre d'émission rend compte des propriétés spectrales de la lumière émise. Le spectre d'émission ne varie généralement pas en fonction de la longueur d'onde d'excitation. Le spectre d'émission semble être l'image du spectre d'absorption à travers un miroir (Figure 52). Le déplacement vers le rouge du spectre d'émission par rapport au spectre d'absorption correspond à la perte d'énergie entre photon absorbé et photon émis. Cet effet est connu sous le nom de déplacement de Stoke. Il s'explique par les réorganisations du chromophore et sa sphère de solvation à l'état excité.

III.B.1.c. Rendement quantique

Le rendement quantique (ϕ) est le rapport entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbé par un chromophore (équation-1).

$$\phi = \frac{\text{nombre de photon émis}}{\text{nombre de photon absorbés}} \quad \text{équation-1}$$

S'il n'y avait pas de perte d'énergie le rendement quantique serait égal à 1 (un photon émis par photon absorbé). Ce cas se produit très rarement, parce que les désexcitations radiatives sont normalement accompagnées par des processus non-radiatifs, comme dans le cas d'une conversion interne ou l'extinction de fluorescence. Le rendement quantique est important quand les chemins de désactivation non-radiatifs sont faibles.

En fait, la mesure directe de ϕ est difficile, la plupart du temps on détermine le rendement quantique d'un composé par comparaison avec une référence, dont on connaît précisément le rendement quantique (sulfate de quinine, fluorescéine,...). Pour cela, on mesure, pour l'inconnu X et la référence R, l'absorbance A_X et A_R à une longueur d'onde donnée, ainsi que I_X et I_R par intégration de la bande d'émission obtenue par l'excitation à la longueur d'onde où nous avons mesuré les absorbances. En tenant compte de l'indice de réfraction du solvant (n) des deux produits X et R, on obtient alors :

$$\phi_X = \phi_R \times \frac{I_X}{I_R} \times \frac{A_R}{A_X} \times \frac{n_X^2}{n_R^2} \quad \text{équation-2}$$

Expérimentalement, il est important de mesurer le rendement en dehors de la présence d'atténuateurs bien connus comme les atomes ou ions lourds (I , NO_3^- , Ce^{3+}).

III.B.1.d. La durée de vie

La durée de vie de fluorescence est le temps moyen Δt où une molécule reste à l'état excité. Le temps de rémanence à l'état excité est variable selon les molécules. A chaque instant, chacune des molécules à l'état excité peut entre rester à l'état excité ou bien retourner à l'état fondamental. Pour une population de n molécules, la durée de vie de fluorescence est $\tau = (\Delta t_1 + \Delta t_2 + \dots + \Delta t_n)/n$.

La représentation sous forme d'histogramme des différents Δt par rapport au nombre de molécules qui sont restées à l'état excité à un temps donné, on obtient la courbe représentée dans la **Figure 53** à gauche.

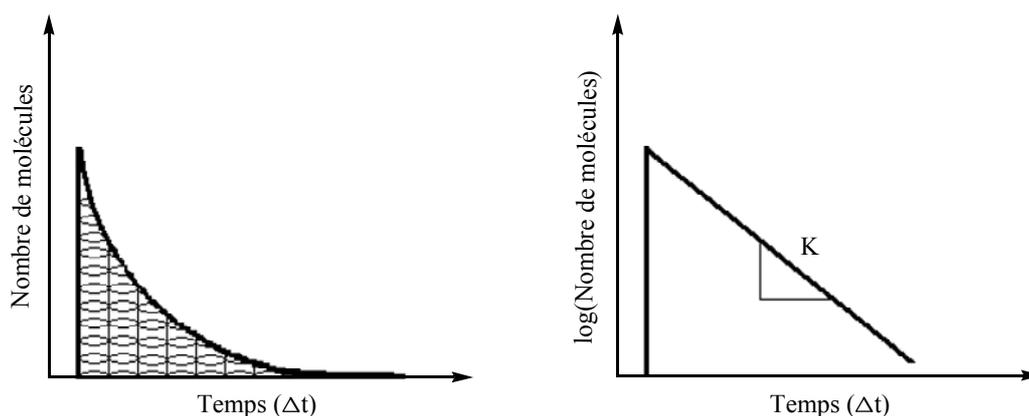
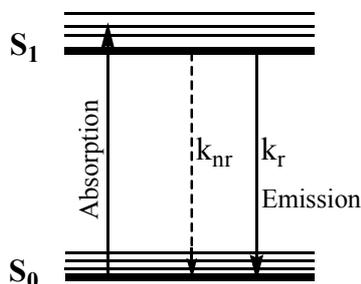


Figure 53 Représentation en histogramme de Δt (à gauche) et celle du semi log correspondant (à droite).

Supposons que $N(t)$ soit le nombre de molécules excitées par population au temps t et N_0 est le nombre de molécules excitées par population au temps t_0 . Prenons une forme simplifiée du diagramme de Perrin-Jablonski.



k_{nr} est la constante de désexcitation non-radiative.

k_r est la constante de désexcitation radiative.

Soit K est la constante cinétique du processus de désexcitation, donc $K = k_{nr} + k_r$.

L'équation différentielle de N est présentée telle que :

$$-\frac{dN(t)}{dt} = N(t) \times K \rightarrow -\frac{dN(t)}{N(t)} = K \times t \quad \text{équation-3}$$

Après intégration de cette équation, entre un intervalle du temps t_0-t , on obtient l'équation suivante :

$$N(t) = N_0 e^{-Kt} \quad \text{équation-4}$$

Sachant que pour une population hétérogène de molécules fluorescentes, considérons le temps moyen de décroissance de la population de molécules excitées simultanément :

$$\langle t \rangle = \frac{\int_0^t N(t) dt}{\int_0^t N(t) dt} \quad \text{équation-5}$$

Remplaçons $N(t)$ par sa valeur $N_0 e^{-Kt}$ et intégrons par partie on obtient $\langle t \rangle = 1/K = \tau$. Dans ce cas, la représentation sous forme semi-logarithmique permet d'obtenir K et la durée de vie $\tau = 1/K$ (**Figure 53** à droite).

III.B.2. RESULTATS EXPERIMENTAUX A UN PHOTON

III.B.2.a. Chromophores symétriques

Les propriétés photophysiques de ces chromophores ont été étudiées principalement dans deux solvants : l'eau et le dichlorométhane. Les propriétés photophysiques qui ont été mesurées sont l'absorption UV-visible, le coefficient d'extinction molaire (ϵ), la fluorescence ainsi que l'excitation, le rendement quantique (ϕ) et finalement la durée de vie de fluorescence (τ).

Nous avons mesuré le spectre d'absorption UV-visible dans le dichlorométhane pour tous les chromophores et dans l'eau pour **10**, **11**, **13** et **14**. Les spectres d'absorption sont illustrés dans la **Figure 54**. Dans le même solvant, les chromophores de même cœur (biphényle ou fluorényle) présentent les mêmes spectres d'absorption, ce qui indique que la longueur de chaîne oligo-éthylène glycol n'intervient pas dans la détermination des propriétés photophysiques linéaires de la molécule. Par contre, le type du cœur aromatique affecte clairement ces propriétés.

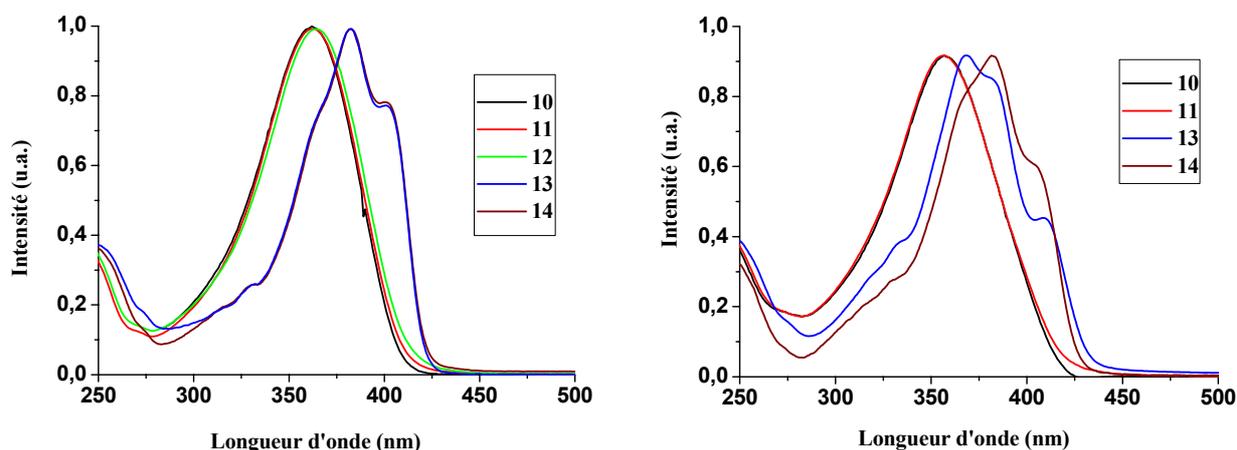


Figure 54 Spectres d'absorption UV-visible dans le dichlorométhane (à gauche) et dans l'eau (à droite) des chromophores d'architecture symétrique.

Nous avons observé pour les chromophores à cœur fluorényle **13** et **14** un déplacement du maximum d'absorption vers le rouge (effet bathochrome) de 9 nm et 25 nm respectivement. Nous pouvons expliquer cet effet par la géométrie quasi-planaire du système conjugué imposé par le fluorène, qui est caractérisé par le pont carboné qui bloque la rotation de la liaison σ entre les deux phényles (**Figure 55**). Cette conformation quasi-planaire augmente le recouvrement entre les orbitales moléculaires et par la suite augmente la délocalisation des électrons tout au long du système et par conséquent augmente sa conjugaison.

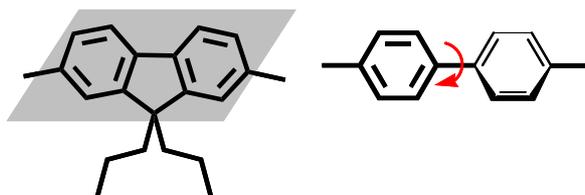


Figure 55 Blocage de la rotation de la liaison σ centrale entre les deux phényles dans le fluorène.

Rappelons qu'à l'état solide l'angle entre les deux phényles du groupement biphenyle est de l'ordre de 39° .¹⁶² En solution, il y a une libre rotation autour de la liaison σ centrale. Cette rotation peut être bloquée par le pont carboné du groupement fluorène.

Les coefficients d'extinction molaire des différents chromophores ont été mesurés dans les deux solvants (eau et dichlorométhane). Il faut noter que les spectres d'excitation de tous les chromophores se superposent parfaitement aux spectres d'absorption correspondant. Les valeurs des longueurs d'onde maximales d'absorption et celles des coefficients d'extinction molaire sont présentées dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 Longueurs d'onde maximales d'absorption et coefficient d'extinction molaire des chromophores dans le dichlorométhane et dans l'eau.

Chromophore		12	11	10	13	14
H ₂ O	λ_{\max} (nm)	358	357	---	382	382
	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	4,7	5,0	---	5,7	---
CH ₂ Cl ₂	λ_{\max} (nm)	362	363	363	383	383
	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	7,0	7,2	7,6	8,0	8,2

Nous avons également mesuré les spectres d'émission des différents chromophores dans les deux solvants (dichlorométhane et eau). Nous avons observé qu'ils présentent une forte fluorescence dans le bleu. Comme a été mentionné auparavant, les chromophores de même cœur aromatique présentent de spectres d'émission très similaires. Les spectres d'émission des chromophores dans le dichlorométhane et dans l'eau sont illustrés dans la **Figure 56**.

¹⁶² K. K. Zhuravlev, M. D. McCluskey, *J. Chem. Phys.*, **2002**, 117, No. 8, 3748-3752.

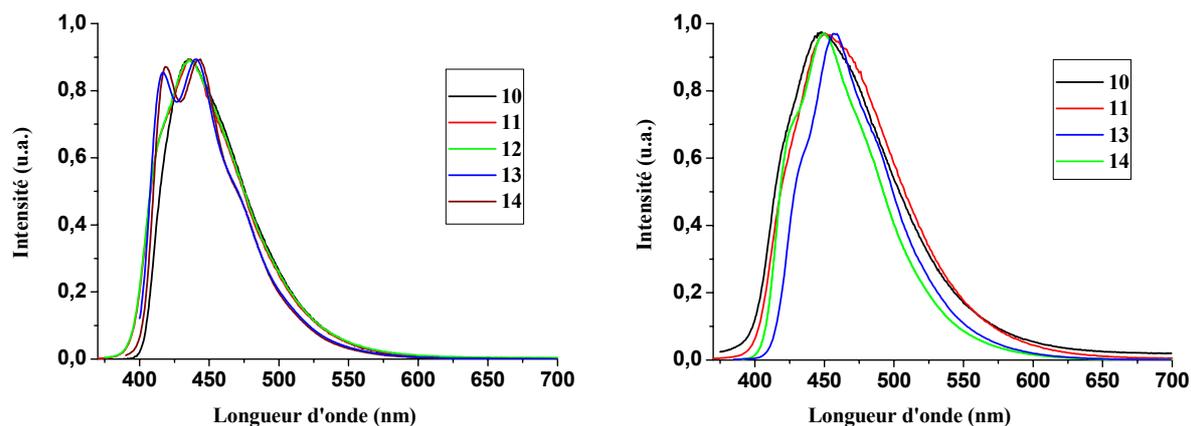


Figure 56 Spectres d'émission dans le dichlorométhane (à gauche) et dans l'eau (à droite) des chromophores symétriques.

Pour les chromophores à cœur fluorényle **13** et **14**, les spectres d'émission présentent une progression vibrationnelle à cause de la rigidification de la molécule.

Nous avons mesuré le rendement quantique de chaque chromophore dans les deux solvants par la méthode indiquée au paragraphe III.B.1.c. Nous avons utilisé le sulfate de quinine dans une solution de l'acide sulfurique 0,1 M comme référence. La durée de vie de fluorescence a été mesurée pour chaque chromophore. Les valeurs des longueurs d'onde maximales d'émission et celles des rendements quantiques ainsi que les valeurs des durées de vie de fluorescence sont présentées dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 Longueurs d'onde maximales d'émission et rendements quantiques des chromophores **10-14** dans le dichlorométhane et dans l'eau.

Chromophore		12	11	10	13	14
H ₂ O	λ_{max} (nm)	454	451	---	450	455
	ϕ (%)	39	46	---	72	72
	τ (s)	7,1/1,7/0,2	18/5/1,4/0,2	---	---	3,25/1,15
CH ₂ Cl ₂	λ_{max} (nm)	434	434	432	439	440
	ϕ (%)	75	79	70	85	81
	τ (s)	1,12	1,05	1,10	---	1,26

Dans le dichlorométhane, nous avons observé un déclin mono-exponentiel de fluorescence, alors que dans l'eau nous avons un déclin multi-exponentiel. L'explication proposée pour un tel phénomène repose sur des interactions qui peuvent avoir lieu entre la molécule et l'eau comme les liaisons hydrogène par exemple qui sont inexistant dans le cas de dichlorométhane.

III.B.2.b. Chromophores amino-réactifs

Nous avons réalisé les mêmes mesures photophysiques linéaires pour les chromophores amino-réactifs **26**, **32** et **41** dans le chlorure de méthylène et pour **26** et **41** dans l'eau. Pour le chromophore **32**, l'augmentation de la lipophilie par addition des deux groupements propyle au cœur fluorényle, a affaibli la solubilité dans l'eau, pour cela les mesures photophysiques précises dans l'eau n'étaient pas aisées. Nous avons observé les mêmes caractéristiques que les chromophores symétriques, au niveau des spectres d'absorptions UV-visible (**Figure 57**) et des spectres d'émission (**Figure 58**).

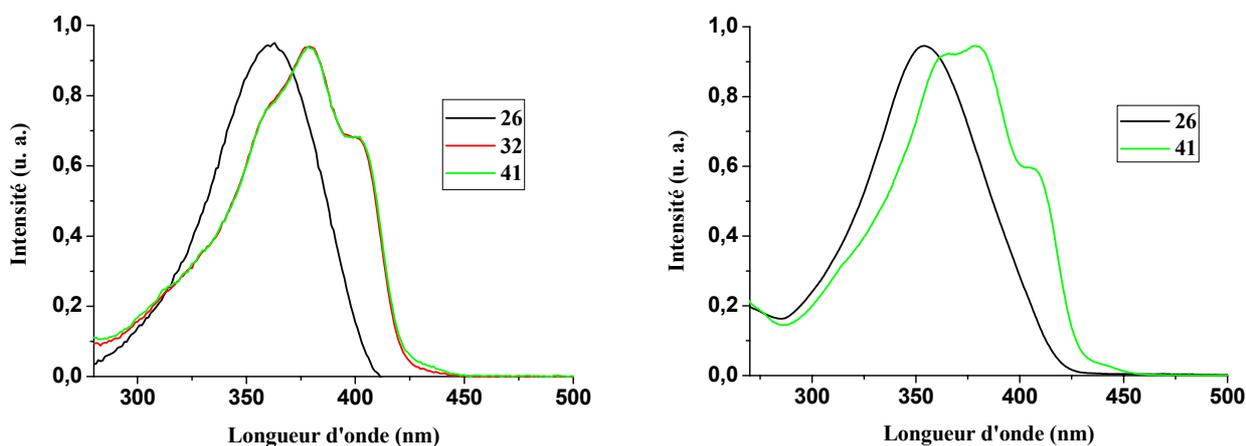


Figure 57 Spectres d'absorption UV-visible dans le dichlorométhane (à gauche) et dans l'eau (à droite) des chromophores d'architecture dissymétrique.

Le seul facteur qui affecte les propriétés photophysiques du chromophore est la géométrie du cœur aromatique contrairement à la géométrie dissymétrique du chromophore qui n'a pas un effet remarquable.

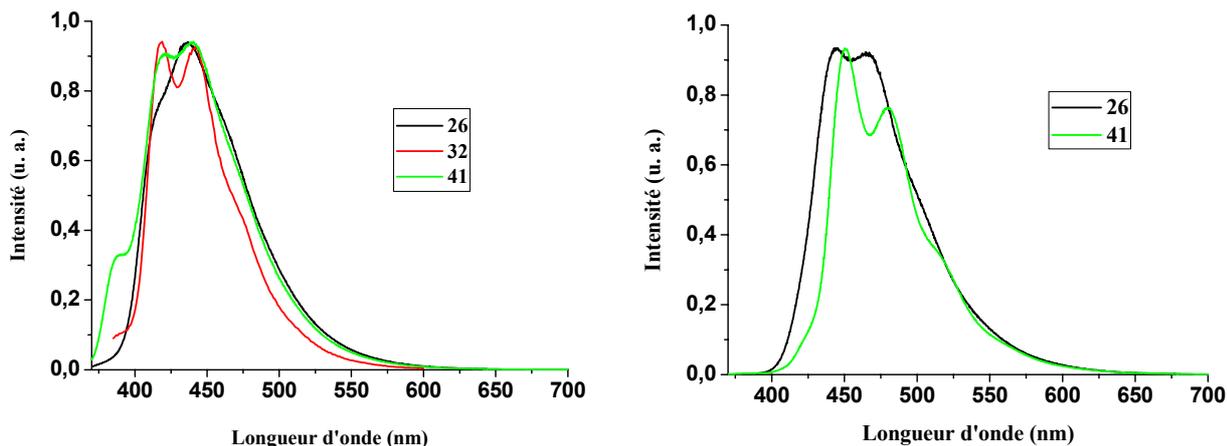


Figure 58 Spectres d'émission dans le dichlorométhane (à gauche) et dans l'eau (à droite) des chromophores d'architecture dissymétrique.

Nous avons également mesuré pour ces chromophores, de la même façon que pour les chromophores symétriques, le coefficient d'extinction molaire, le rendement quantique et la durée de vie de fluorescence, dans le chlorure de méthylène et dans l'eau. Les données photophysiques sont présentées dans le **Tableau 5**.

Tableau 5 Données photophysiques des chromophores amino-réactifs **26**, **32** et **41** dans le dichlorométhane et dans l'eau.

Chromophore		26	32	41
H ₂ O	$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$ (nm)	354	---	378
	$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$ (nm)	450	---	450
	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	3,8	---	3,8
	ϕ (%)	15	---	12
CH ₂ Cl ₂	$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$ (nm)	365	379	378
	$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$ (nm)	435	442	440
	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	6,9	6,1	5,9
	ϕ (%)	83	88	74

III.B.2.c. Chromophore-cyclène

III.B.2.c.1 Résultats expérimentaux

Nous avons étudié les propriétés photophysiques linéaires du chromophore **44** et le ligand correspondant **43** dans l'eau. Nous avons observé une différence claire au niveau des spectres d'absorption et celle des niveaux vibrationnels des deux molécules, où les intensités de différents épaulements changent, ce qui entraîne un changement au niveau longueur d'onde maximale d'absorption, et dans l'allure générale du spectre d'absorption UV-visible. Un déplacement vers le bleu de 4 nm du spectre d'émission de la molécule **44** par rapport à celui de la molécule **43** a été observé. Les spectres d'absorption UV-visible et d'émission sont illustrés dans la **Figure 59**.

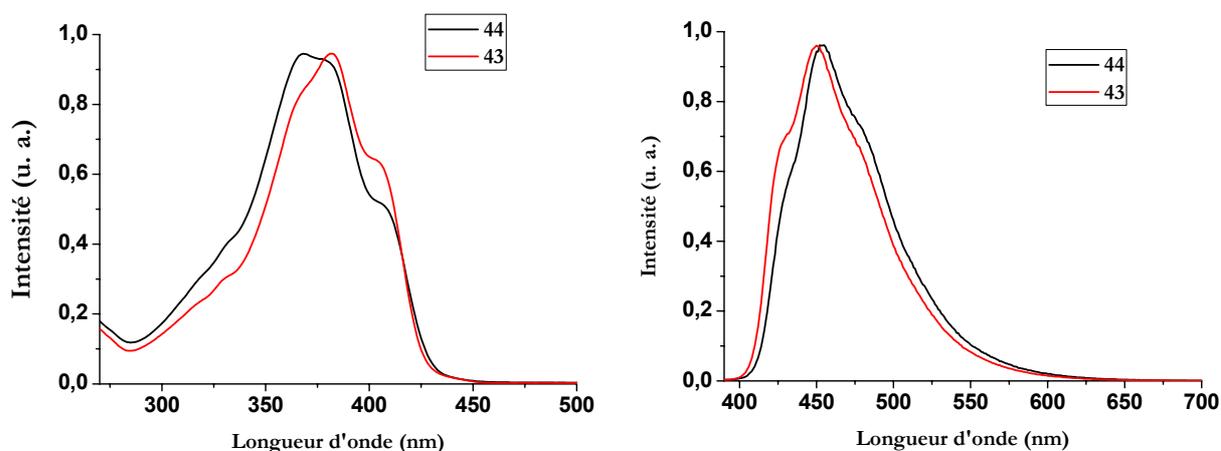


Figure 59 Spectres d'absorption UV-visible (à droite) et spectres d'émission (à gauche) dans l'eau du chromophore à effet magnétique **44** et son ligand correspondant **43**.

Nous avons aussi mesuré le coefficient d'extinction molaire et le rendement quantique de fluorescence de ces deux molécules dans l'eau. Pour la mesure du rendement quantique, nous avons utilisé le sulfate de quinine comme référence ($\phi=54\%$ dans une solution aqueuse 0,1 M d'acide sulfurique). Les données photophysiques de cette étude sont présentées dans le **Tableau 6**.

Tableau 6 Données photophysiques des molécules **44** et **43** dans l'eau.

Chromophore		43	44
H ₂ O	$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$ (nm)	382	368
	$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$ (nm)	454	450
	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	4,2	2,0
	ϕ (%)	33	33

Nous pouvons conclure que le groupement cyclène ne modifie pas les propriétés photophysiques de la molécule. La complexation avec le gadolinium a entraîné un changement

dans les niveaux vibrationnels de la molécule, alors qu'aucun transfert d'énergie du système conjugué vers le gadolinium n'a été observé.

III.B.3. RESULTATS EXPERIMENTAUX A DEUX PHOTONS

La détermination de la section efficace par la mesure de la quantité de la lumière absorbée en traversant l'échantillon en fonction de l'intensité lumineuse du laser (méthode par transmission non-linéaire) nécessite l'utilisation d'une forte intensité du laser pour produire un signal mesurable, et par conséquent la saturation, l'absorption à l'état excité ainsi que le photoblanchiment peuvent compliquer l'interprétation de la mesure. Pour cela, nous avons déterminé la section efficace d'absorption à deux photons (σ_2) de nos chromophores par la mesure de leur intensité de fluorescence par excitation à deux photons, suivant le protocole expérimental décrit par Xu et Webb.¹⁶³

Ces mesures ont été réalisées au laboratoire de spectrométrie physique (LSP) au sein du groupe MOTIV (Matériaux, Optique et Techniques instrumentales pour le Vivant) sous la direction du Dr Patrice L. Baldeck, à l'Université Joseph Fourier à Grenoble.

III.B.3.a. Mode opératoire

Pour réaliser ces mesures, nous avons utilisé deux lasers différents. Pour la zone 450-650 nm, nous avons utilisé un laser Nd:YAG associé à un oscillateur paramétrique optique produisant d'impulsions de l'ordre de 2,6 ns [full width at half maximum (FWHM)]. Pour la zone 700-900 nm, nous avons utilisé un laser Ti:sapphire à impulsion femtoseconde. La fluorescence est collectée à 90° du faisceau d'excitation par une fibre optique reliée à un spectromètre. L'intensité du faisceau incident a été réglée d'une façon à avoir une dépendance quadratique de l'intensité de fluorescence dans toute la zone mesurée. La calibration dans la zone 450-650 nm s'est faite par comparaison avec le spectre du *p*-bis(*o*-méthylstyryl)benzène, et pour la zone 700-900 nm la référence utilisée a été la Rhodamine B (avec le spectre publié par W. W. Webb).¹⁶³

III.B.3.b. Résultats et discussion

Dans le cas des chromophores symétriques, tous les chromophores présentent une σ_2 élevée. Comme nous avons déjà observé dans les propriétés photophysiques de ces chromophores par excitation à un photon, la longueur de chaîne oligo-éthylène glycol n'affecte pas significativement les propriétés d'absorption à deux photons. Pour cela nous présenterons dans cette partie les propriétés d'absorption à deux photons pour les chromophores les plus solubles dans l'eau **12** et **14**. La **Figure 60** illustre les spectres d'absorption à deux photons pour les chromophores **12** et

¹⁶³ Xu, C., Guild, J., Webb, W. W., Denk, W., *optics letters*, **1995**, 20, No.23, 2372-2374.

14 respectivement dans le dichlorométhane et dans l'eau, dans la région comprise entre 450 et 900 nm.

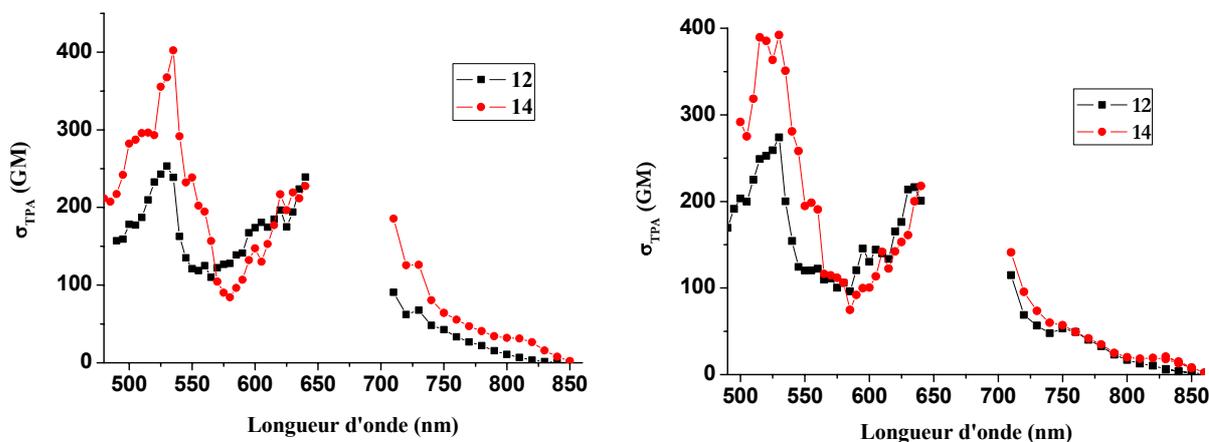


Figure 60 Spectre d'absorption à deux photons de **12** et **14** dans le chlorure de méthylène (à gauche) et dans l'eau (à droite).

Les valeurs de la section efficace d'absorption à deux photons dans l'eau sont similaires à celles obtenues dans le chlorure de méthylène pour les deux séries. Nous avons observé un maximum d'absorption dans le visible à 520 nm ($\sigma_2 = 275$ GM) pour **12** et à 530 nm ($\sigma_2 = 400$ GM) pour **14**. Pour la région située 600-650 nm, nous avons observé le début de la partie ascendante de la bande d'absorption à deux photons dans la région proche infrarouge du spectre. En raison du non-recouvrement de l'émission de deux différents lasers utilisés, il y a une fenêtre aveugle dans notre spectre. En conséquence, nous n'avons pas pu mesurer les valeurs exactes du maximum d'absorption qui se trouve dans la zone entre 650 et 700 nm (> 250 GM).

D'autre part, nous avons retrouvé l'effet du blocage de la rotation de la liaison σ entre les deux phényles dans le cœur fluorényle, où nous avons observé que le chromophore **14** présente une section efficace d'ADP plus élevée que celle du chromophore **12**, ainsi qu'un décalage bathochromique de la deuxième bande d'absorption à deux photons.

Nous avons mesuré également les propriétés d'absorption à deux photons des chromophores amino-réactifs dans le dichlorométhane pour les chromophores **26**, **32** et **41** et dans l'eau pour les chromophores **26** et **41**. Du point de vue photophysique, le squelette moléculaire des chromophores amino-réactifs est similaire à celui des chromophores symétriques, donc en principe nous devrions obtenir des propriétés ADP similaires. Mais la structure chimique dissymétrique de ces chromophores n'a pas un effet négligeable, ce qui a été observé dans les spectres d'absorption à deux photons présentés dans la **Figure 61**.

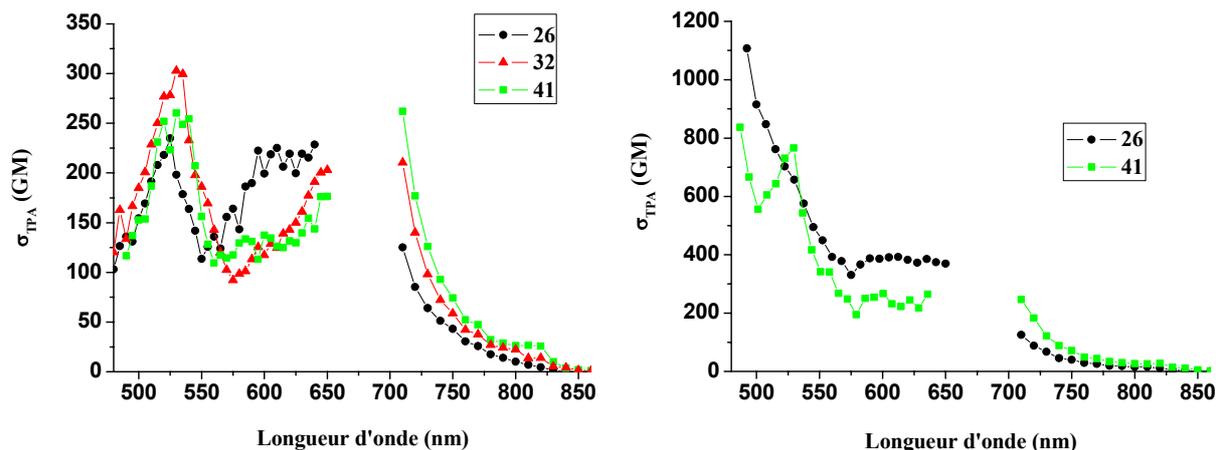


Figure 61 Spectre d'absorption à deux photons de **26**, **32** et **41** dans le chlorure de méthylène (à gauche) et de **26** et **41** dans l'eau (à droite).

Nous avons observé la même allure spectrale pour le spectre ADP avec les mêmes valeurs du maximum de la bande d'absorption dans la région entre 450 et 600 nm pour tous les chromophores. En ce qui concerne la bande d'absorption dans la région de proche infrarouge, nous avons observé une augmentation de la valeur des sections efficaces vers 710 nm, ce qui peut être expliqué par un effet bathochrome du maximum d'absorption tout en restant dans la fenêtre aveugle (650-700 nm) du spectre. Nous avons également remarqué, qu'en plus de l'effet de l'amélioration de la conjugaison dans les chromophores à cœur fluorényle **32** et **41** par rapport au chromophore à cœur biphényle **26**, se rajoute l'effet de la longueur des chaînes oligo-éthylène glycol où une augmentation de 50 GM environ de la valeur de la section efficace d'ADP a été nettement observée (**Figure 62**).

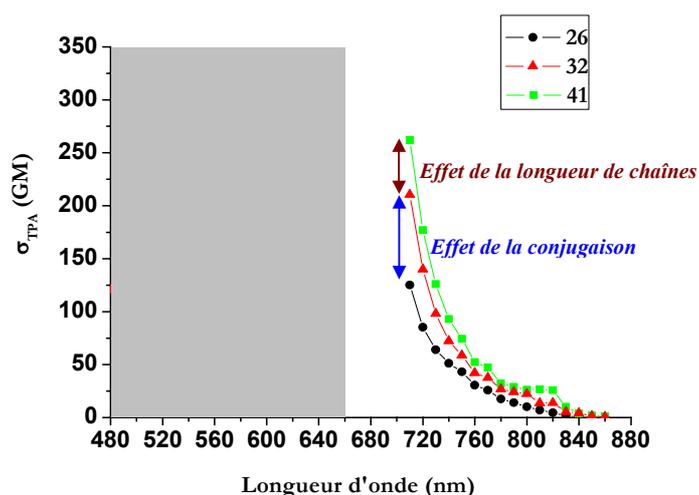


Figure 62 Spectre d'absorption à deux photons de **26**, **32** et **41** dans le chlorure de méthylène montrant l'effet de la conjugaison et de la longueur des chaînes OEG sur la section efficace d'ADP.

III.B.4. CONCLUSION

Nous avons mesuré toutes les propriétés photophysiques à un et à deux photons pour tous les chromophores, dans le chlorure de méthylène (solvant organique) et dans l'eau. Nous avons observé l'effet du blocage de la rotation de la liaison σ entre les deux groupements phényles dans le fluorène, qui contribue à l'augmentation de la conjugaison, ce qui se traduit par un effet bathochrome dans les spectres d'absorption UV-visible pour les chromophores à cœur fluorényle symétriques et dissymétriques.

Dans le cas des chromophores symétriques, la longueur de chaînes oligo-éthylène glycol, n'a pas d'influence sur les propriétés photophysiques. Alors que nous avons observé, dans le cas de chromophores amino-réactifs d'architecture dissymétrique, que la différence de la longueur de chaînes oligo-éthylène glycol affecte les propriétés photophysiques en plus de l'effet du blocage de la rotation dans le cœur fluorényle.

Nous signalons aussi que les valeurs de la section efficace d'ADP obtenues pour les différents chromophores symétriques et amino-réactifs, sont de un à deux ordres de grandeur¹⁶⁴ supérieures à celles des colorants commerciaux utilisés actuellement en microscopie à deux photons.

¹⁶⁴ Xu, C., Zipfel, W., Shear, J. B., Williams, R. M., Webb, W. W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, 10763-10768.

IV. UTILISATION DES CHROMOPHORES SYNTHETISES EN MICROSCOPIE A DEUX PHOTONS

Les sections efficaces d'ADP (σ_2) ainsi que les rendements quantiques de fluorescence (ϕ) des chromophores synthétisés sont suffisamment élevés pour permettre une utilisation en biologie. Ainsi, ces chromophores peuvent être utilisés en microscopie de fluorescence à deux photons en utilisant puissance laser bien inférieure à celle nécessaire pour les colorants commerciaux (qui ne sont pas optimisés pour leurs propriétés non-linéaires). Ainsi, nous avons collaboré avec trois équipes (Dr. Jean-Claude Vial et Dr. Patrice Baldeck à Grenoble, Dr. Alain Duperray à Grenoble et Pr. Yves Mély à Illkirch) pour tester ces nouveaux chromophores en conditions réelles d'utilisation pour répondre à différentes problématiques biologiques (tant au niveau cellulaire (cellules vivantes et cellules fixées) que du petit animal). Ce sont ces résultats que nous allons exposer dans le paragraphe qui suit.

IV.A. IMAGERIE CELLULAIRE

Les tests d'imagerie cellulaires ont été effectués à l'Institut Albert Bonniot, Ontogenèse et Oncogenèse Moléculaire (IAB), au sein de l'équipe de Dr. Alain Duperray à Grenoble. Les chromophores d'architecture symétrique ont été utilisés sur des cellules vivantes et les chromophores amino-réactifs ont été combinés à des anticorps monoclonaux pour effectuer des tests d'immunofluorescence sur cellules fixées.

Nous avons également étudié la bio-conjugaison des chromophores amino-réactifs avec un vecteur de transfection non virale, le polyéthylène imine (PEI) pour étudier le mécanisme de ce phénomène, sur des cellules vivantes. Ces expériences ont été effectuées au laboratoire de Pharmacologie et Physico-chimie des Interactions Cellulaires et Moléculaires, en collaboration avec le Pr. Yves Mély de la faculté de pharmacie à Illkirch (Université Louis Pasteur, ULP).

IV.A.1. IMAGERIE SUR CELLULES VIVANTES

Avec nos différents collaborateurs plusieurs lignées cellulaires ont été utilisées pour étudier le comportement des fluorophores préparés. Une caractérisation complète du comportement de ces fluorophores a été effectuée sur des cellules CHO (Chinese Hamster Ovaries).

IV.A.1.a. Caractérisations des fluorophores en milieu biologique : Imagerie de cellules CHO

IV.A.1.a.1 Bio-compatibilité

Pour étudier la toxicité des colorants préparés, un test de prolifération en culture cellulaire a été mis au point, en intégrant au cours du cycle de culture l'injection d'une forte concentration de colorant à tester. Deux flacons de cultures de cellules CHO, obtenues à partir d'une même culture confluente (surface de culture occupée à plus de 90%) ont été contrôlés en parallèle par microscopie à contraste de phase. L'un des flacons de culture a été incubé avec les chromophores étudiés (concentration finale de 10^{-4} mol.L⁻¹ sans utiliser de solvant autre que l'eau). La prolifération cellulaire est ensuite étudiée et comparée pour les deux cultures (témoin et en présence de colorant).

Pour les deux séries d'architecture symétrique (biphényle et fluorényle), les cellules ont continué de proliférer jusqu'à atteindre la confluence, et ce trois jours après la culture. Ces deux séries de colorants ne présentent aucun signe de toxicité à court terme.

IV.A.1.a.2 Dynamique de pénétration cellulaire

La technique utilisée, la micro-spectroscopie de fluorescence, est basée sur l'utilisation d'un microscope d'épifluorescence UV, qui permet de sonder localement avec une fibre optique la fluorescence d'un chromophore pour obtenir un spectre d'émission. Cette mesure étant locale on peut exposer au faisceau UV seulement une partie ou un seul objet d'un échantillon multiple comme un tapis de culture cellulaire (**Figure 63**).

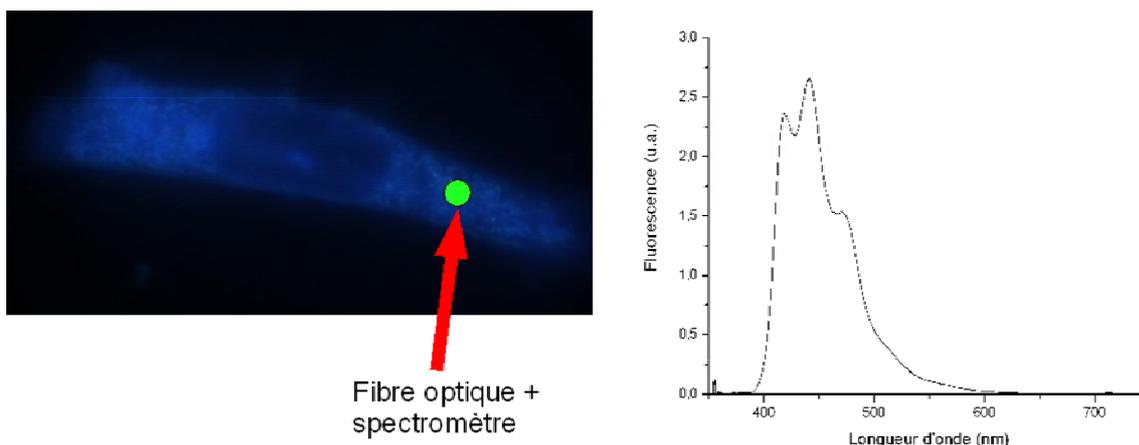


Figure 63 Représentation schématique du principe de la micro-spectroscopie de fluorescence.

Les cellules vivantes d'une même lignée possèdent les mêmes caractéristiques et elles diffèrent un peu en taille et en surface d'échange avec le milieu. Si la mesure était faite sur une seule cellule, la photo-dégradation interférerait lors de la mesure de la cinétique d'accumulation suivie par fluorescence UV.¹⁶⁵

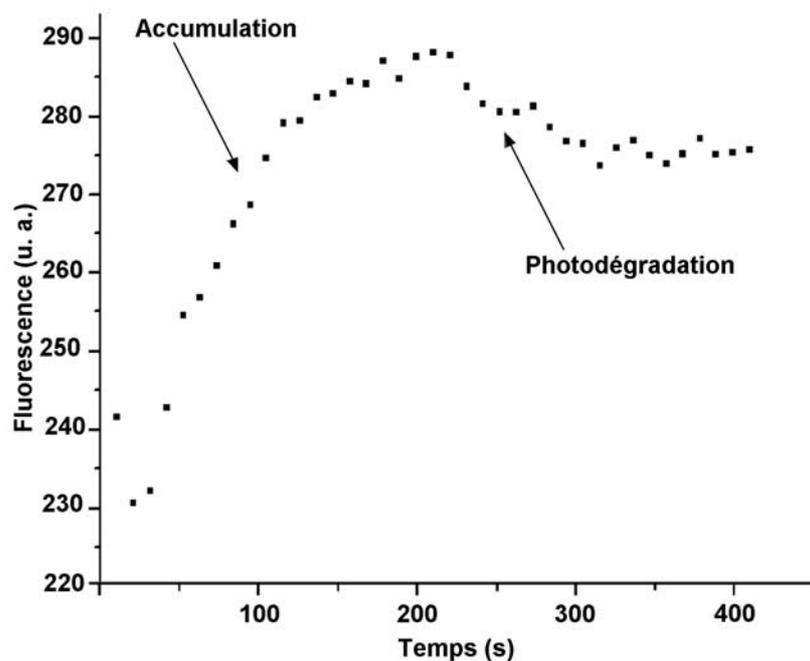


Figure 64 Mesure locale de la fluorescence d'une seule cellule marquée avec le colorant 14.

Sur cette courbe on note que la fluorescence augmente pour atteindre un maximum puis redescend à cause des effets de photo-dégradation. A priori, il n'y a aucune raison pour que ce processus n'intervienne qu'en fin de mesure. La dynamique observée n'est donc pas caractéristique du réel équilibre entre la cellule et le milieu. Pour s'affranchir des effets de photoblanchiment, on va donc étudier chaque mesure de la dynamique d'accumulation sur une cellule différente (**Figure 65**).

¹⁶⁵ Thomas Huault : Mémoire de stage de Master 2 Recherche – Laboratoire de Spectrométrie Physique – Grenoble (2 février à 30 juin 2006) sous la direction de Dr. Patrice Baldeck et Dr. Jean-Claude Vial.

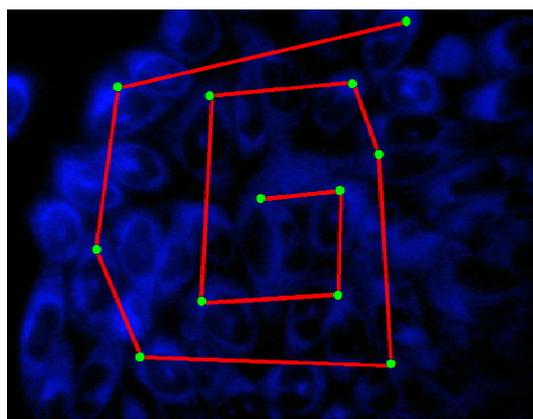


Figure 65 Mesures locales de la fluorescence de cellules uniques pour la détermination de la dynamique d'accumulation d'un colorant (un point vert correspond à une mesure).

L'intensité de la fluorescence obtenue au cours du temps (sur chaque cellule) est représentée sur le graphique **Figure 66**.

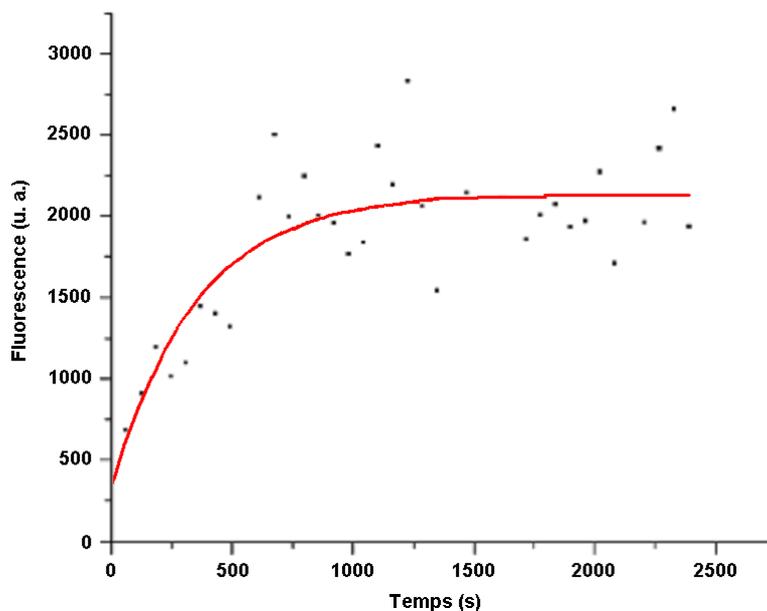


Figure 66 Dynamique d'accumulation du colorant **14** dans les cellules CHO (1 point-cellule/30 s).

L'accumulation cellulaire présente l'allure générale du comportement théorique attendu (diffusion simple à travers d'une membrane).

Les deux séries de chromophores symétriques (biphényle et fluorényle) ont été étudiées en utilisant cette méthode. Les dynamiques d'accumulation des chromophores **11** et **12** se sont avérées être très rapide (équilibre atteint au moins d'une minute). Dans le cas des chromophores **13** et **14** la cinétique est plus lente, mais reste rapide et l'équilibre est atteint en 5 et 8 minutes respectivement. A concentration égale, la série biphényle pénètre plus rapidement dans la cellule

que la série fluorényle. Ceci peut s'expliquer par la dégradation du coefficient de partage liée aux chaînes propyle du groupement fluorényle ($\log P=1,9$ pour **12** et $\log P=1,5$ pour **14**).

IV.A.1.a.3 Imagerie *in-vivo* à deux photons

L'imagerie à deux photons de cellules CHO a été réalisée en utilisant les fluorophores **12** et **14** comme sondes fluorescentes. La concentration en fluorophore a été fixée à 5×10^{-6} mol.L⁻¹, et les images ont été réalisées 5 minutes après injection du fluorophore par un microscope type Zeiss LSM 510 associé à une source laser type Ti:Saphire de 150 femtoseconde à 730 nm avec une puissance en sortie d'objectif (x 63/1,4 immersion à l'huile) de 0,7 mW (**Figure 67**).

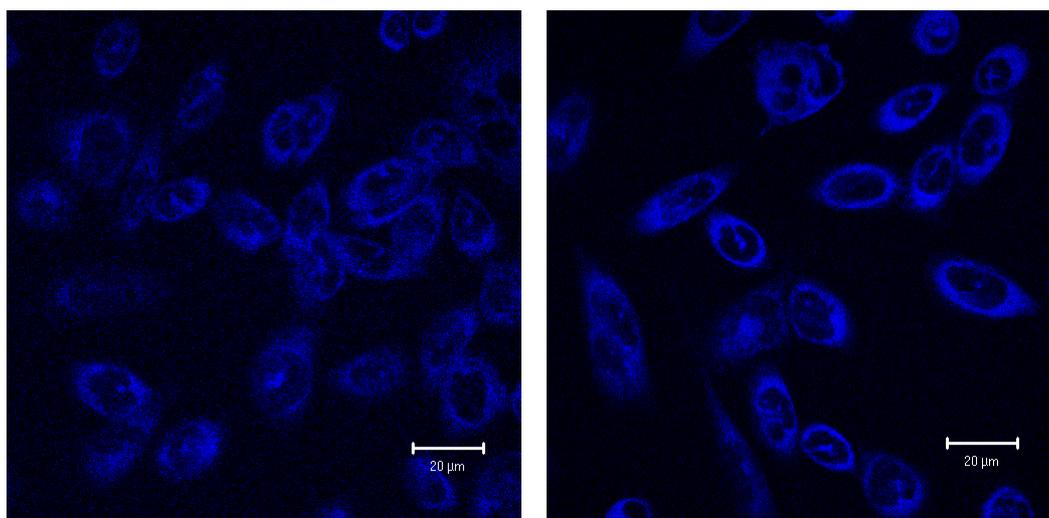


Figure 67 Imagerie à deux photons de cellules CHO marquées au chromophore **14** (à droite) et au chromophore **12** (à gauche).

Les chromophores des deux séries se localisent dans le cytoplasme d'une façon homogène sans pénétrer dans le noyau. La faible valeur du rendement quantique de fluorescence du fluorophore **12** par rapport à celle de **14** a nécessité une plus forte puissance laser (environ 12 fois) que celle utilisée pour exciter le chromophore **14** (0,7 mW) afin d'obtenir un signal de fluorescence détectable.

La fluorescence bleue de ces chromophores peut être exploitée lors d'expérience de double marquage, même en utilisant un deuxième colorant fluorescent lui aussi dans le bleu qui marque spécifiquement le noyau, comme le Hoechst 33258. Les images réalisées par microscopie à deux photons, et présentées dans la **Figure 68** (à gauche), montrent une fluorescence bleue à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau. Cependant, la distinction entre les deux colorants reste possible en réalisant une imagerie en durée de vie de fluorescence (FLIM, Fluorescence Life Time Imaging). Cette dernière permet de visualiser les durées de vie des sondes fluorescentes présentes dans la cellule. La différence de durée de vie (1,1 ns pour le fluorophore **14** et 1,5 ns pour le

Hoechst 33258) permet d'obtenir une image contrastée à la fois du noyau (longue durée de vie) et du cytoplasme (courte durée de vie, **Figure 68** à droite).

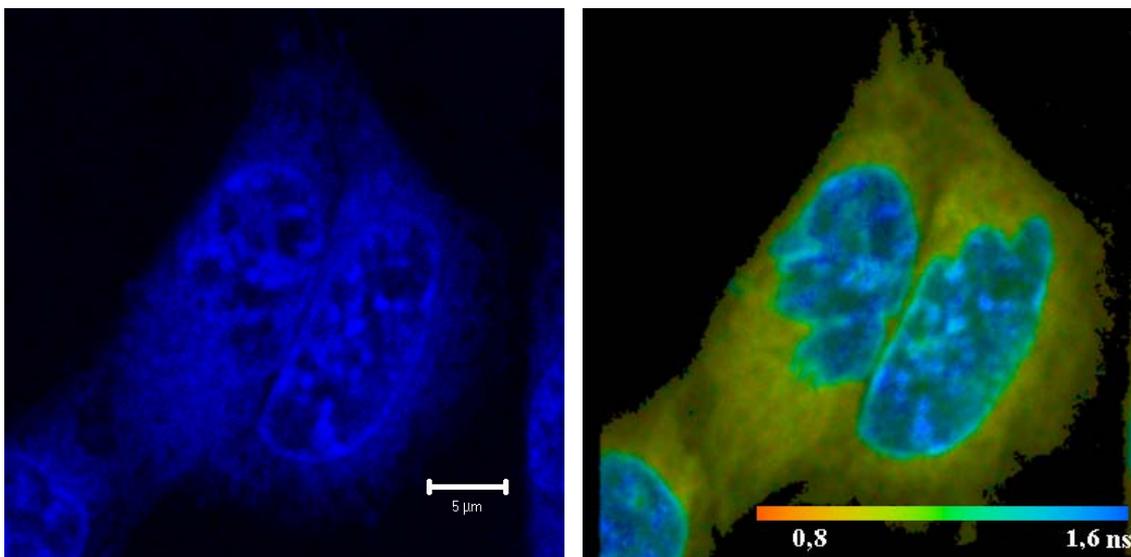


Figure 68 *Imagerie à deux photons de cellules CHO marquées au chromophore 14 et Hoechst 33258 (à gauche) et Imagerie en durée de vie de fluorescence des mêmes cellules (à droite).*

Les résultats prometteurs obtenus sur les cellules CHO nous ont conduits à étudier d'autres lignées cellulaires (cellules saines : COS7 et NIH3T3, cellules cancéreuses : HeLa) afin de généraliser les conclusions obtenues.

IV.A.1.b. Imagerie *in-vivo* à deux photons d'autres lignées cellulaires

Des cellules type HeLa ont été incubées dans une solution aqueuse 10^{-6} mol.L⁻¹ du chromophore 14 à 37° C. Après 5 minutes, des images en microscopie à deux photons ont été réalisées. La valeur élevée de la section efficace d'absorption à deux photons a permis d'utiliser une puissance laser inférieure à 1 mW. Les images ainsi obtenues sont présentées dans la **Figure 69**.

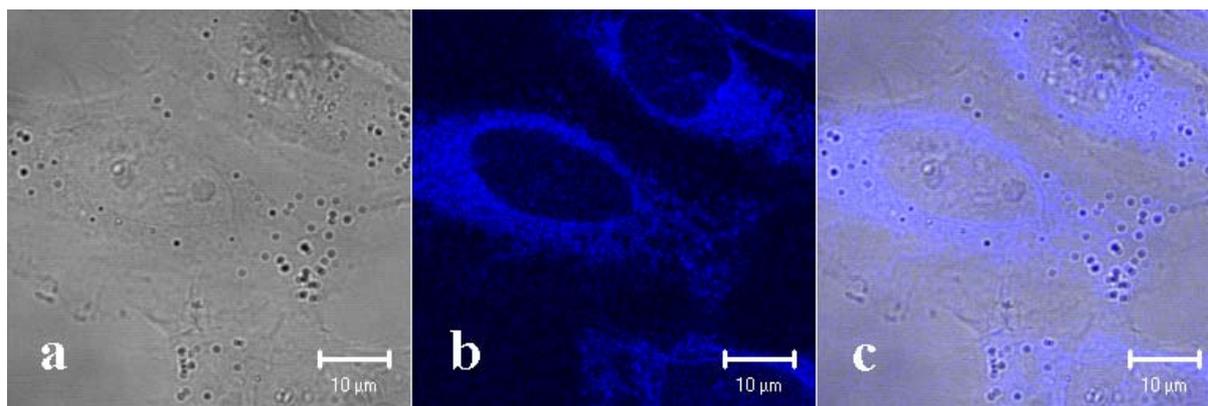


Figure 69 Cellules HeLa incubées pendant 5 minutes à 37° C dans une solution aqueuse 10^{-6} mol.L⁻¹ de **14**. (a) : contraste de phase, (b) : fluorescence à deux photons, (c) : superposition des deux images.

Nous avons observé une pénétration rapide dans les cellules (< 5 minutes), et une coloration homogène du cytoplasme sans observer de pénétration dans le noyau.

Des images des mêmes cellules ont été réalisées en durée de vie de fluorescence (FLIM). Nous avons observé un déclin de fluorescence mono-exponentiel ainsi qu'une coloration homogène du cytoplasme. De plus, aucune coloration dans le noyau n'est détectée (**Figure 70**). La valeur moyenne de la durée de vie de fluorescence est de l'ordre de 1,23 ns (proche de la valeur de durée de vie mesurée de **14** en solution aqueuse, 1,15 ns). Les mesures expérimentales ont montré une bonne photostabilité du chromophore **14**, vis-à-vis de l'excitation biphotonique, ce qui a permis de réaliser les mesures sur une longue durée.

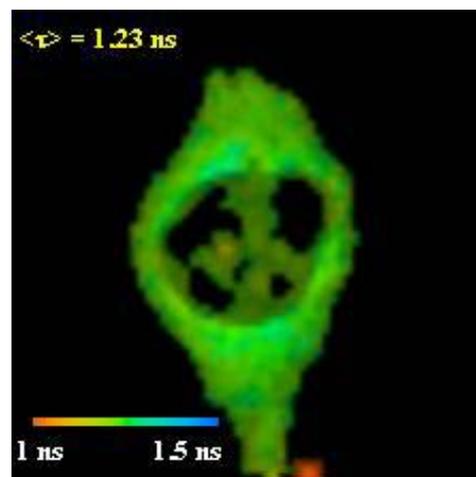


Figure 70 Image de durée de vie moyenne de fluorescence (FLIM) d'une cellule HeLa incubée avec le chromophore **14**.

D'autres cellules, COS7 et NIH3T3 ont été incubées dans une solution aqueuse 10^{-6} mol.L⁻¹ du chromophore à cœur biphenyle **12** pendant 5 minutes à 37° C. Ces cellules ont été ensuite imagées en microscopie à deux photons. Les images obtenues sont présentées dans la **Figure 71** et la **Figure 72** respectivement.

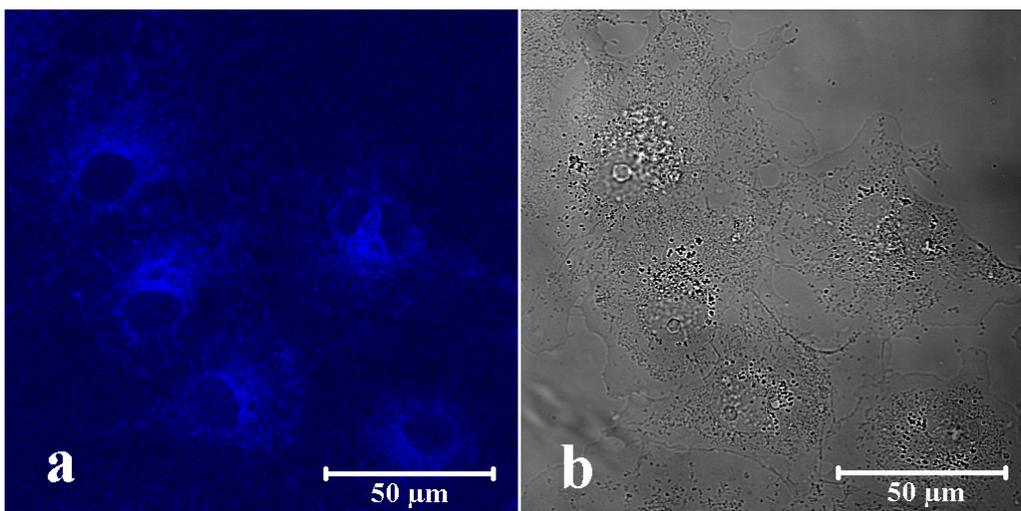


Figure 71 Cellules *COS7* incubées pendant 5 minutes à 37° C dans une solution aqueuse 10^{-6} M de **12**. (a) : fluorescence à deux photons, (b) : contraste de phase.

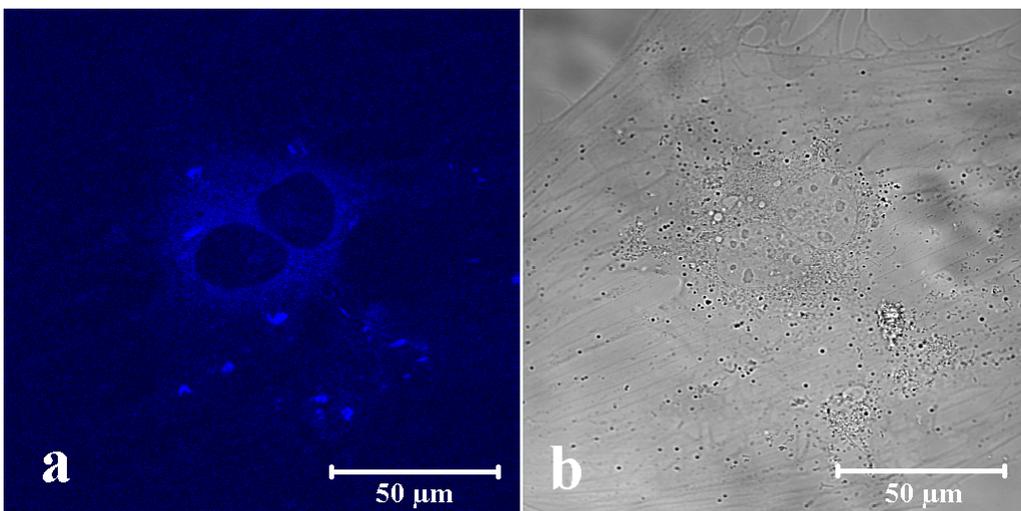


Figure 72 Cellules *NIH3T3* incubées pendant 5 minutes à 37° C dans une solution aqueuse 10^{-6} M de **12**. (a) : fluorescence à deux photons, (b) : contraste de phase.

Les observations sont très similaires à celles obtenues pour les cellules HeLa incubées avec le chromophore **14** : pénétration rapide dans le cytoplasme (< 5 minutes), pas d'accumulation dans le noyau et puissance laser inférieure à 1 mW. De plus, dans le cas des cellules NIH3T3, des granules (organites) dans le cytoplasme de plus forte intensité de fluorescence ont été observés.

L'imagerie en durée de vie de fluorescence des cellules COS7 a montré l'homogénéité de la coloration du cytoplasme. Les images obtenues, et la courbe de déclin de fluorescence sont présentées dans la **Figure 73**.

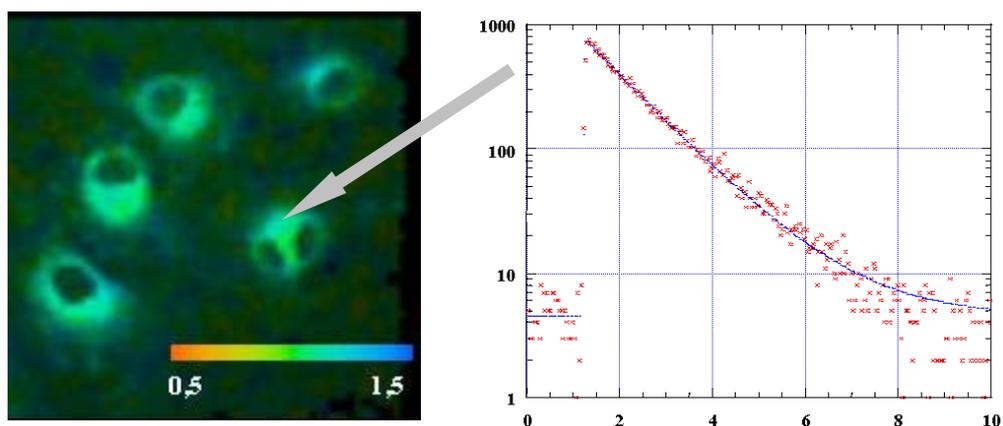


Figure 73 Image des durées de vie moyennes de fluorescence (FLIM) des cellules COS7 incubées avec le chromophore **12** (à gauche), et courbe de déclin de fluorescence (à droite).

Les images FLIM effectuées sur des cellules NIH3T3 ont montré que ses granules ont des durées de vie de fluorescence plus courtes (0,5 – 0,7 ns) que celles observées au sein du cytoplasme ($\sim 1,1$ ns). Cette différence dans les durées de vie indique un micro-environnement différent (**Figure 74**).

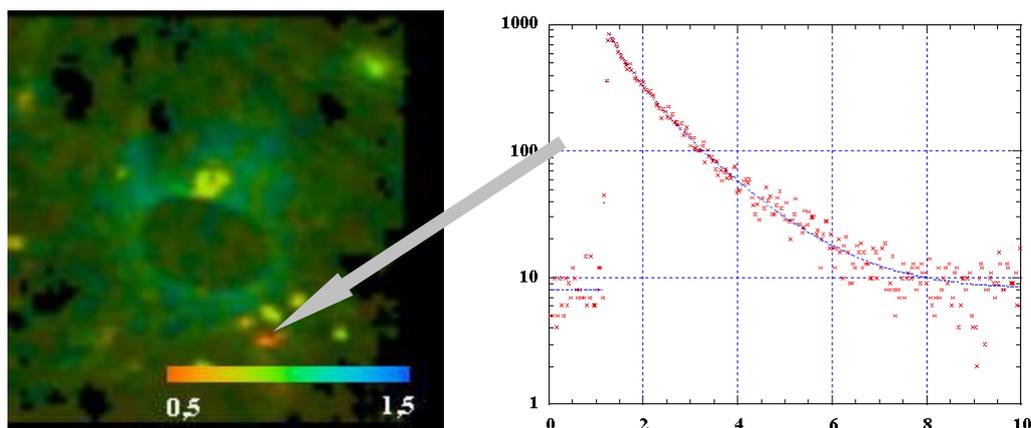


Figure 74 Image des durées de vie moyennes de fluorescence (FLIM) des cellules NIH3T3 incubées avec le chromophore **12** (à gauche), et courbe de déclin de fluorescence (à droite).

Ces chromophores symétriques se sont montrés efficaces en microscopie à deux photons. Leurs rendements quantique de fluorescence et leurs sections efficaces d'absorption à deux photons élevées, nous ont permis de les utiliser à faible concentration (10^{-6} M), et de travailler avec une faible puissance laser (< 1 mW). Ces colorants pénètrent rapidement dans le cytoplasme, et ne traversent pas la membrane nucléaire. De plus, le chromophore à cœur fluorényle **14** est photostable (peu de photoblanchiment) et présente un déclin de fluorescence mono-exponentiel. Cette donnée est très importante, car à notre connaissance il n'y a pas encore

sur le marché de chromophore marquants sélectivement le cytoplasme fluorescent dans le belu et efficaces par excitation à deux photons.

IV.A.2. IMAGERIE DU MECANISME DE LA TRANSFECTION NON VIRALE DE GENE

IV.A.2.a. Introduction

La transfection de gènes est un domaine des plus prometteurs qui vise à mettre au point un vecteur ou une méthode de transport d'ADN thérapeutique à la fois sûr et efficace. Les progrès de cette technologie reposent sur le développement des vecteurs appropriés qui peuvent transporter des molécules d'ADN dans le noyau d'une cellule hôte. Les vecteurs viraux possèdent une grande efficacité de transfection et d'expression d'ADN thérapeutique,^{166,167} mais leur utilité clinique demeure limitée, entre autres en raison du risque de réponses immunitaires importantes qui leur sont associés^{166,167}. Pour s'affranchir de ces limitations, plusieurs vecteurs non-viraux, typiquement des lipides ou des polymères cationiques, ont été mis en avant^{168,169,170}. Cependant, les systèmes non-viraux sont généralement beaucoup moins efficaces, et exigent diverses modifications pour augmenter leur efficacité^{171,172,173} ou pour les diriger vers des cibles précises.¹⁷⁴ Le polyéthylèneimine (PEI) est parmi les vecteurs non-viraux les plus efficaces développés actuellement.^{170,175} Le PEI a non seulement une grande efficacité *in-vitro*, mais il s'est également montré très prometteur pour des applications *in-vivo*.^{170,176,177}

Les expériences de transfert de gène en utilisant un complexe de PEI/ADN dans le cerveau de souris ont montré que celui ci est un bon vecteur pour le transfert de gène *in-vivo* chez les mammifères à différents stades de leur développement.¹⁷⁸ L'efficacité élevée de la transfection induite par le PEI est probablement due à plusieurs facteurs :

- pouvoir tampon élevé qui protège l'ADN,
- libération des endosomes au sein du cytoplasme de la cellule,

¹⁶⁶ Jolly, D. J., Yee, J. K., Friedmann T., *Methods Enzymol.*, **1987**, 149, 10-25.

¹⁶⁷ Behr, J. P., *Account. Chem.Res.* **1993**, 26, 274-278.

¹⁶⁸ Zabner, J., Fasbender, A. J., Moninger, T., Poellinger, K. A., Welsh, M. J., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 18997-19007.

¹⁶⁹ Tang, M. X., Szoka F. C., *Gene Ther.* **1997**, 4, 823-832.

¹⁷⁰ Boussif, O., Lezoualc'h, F., Zanta, M. A., Mergny, M. D., Scherman, D., Demeneix, B., Behr, J. P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 7297-7301.

¹⁷¹ Dauty, E., Remy, J. S., Blessing, T., Behr, J. P., *J. Amer. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 9227-9234.

¹⁷² Bettinger, T., Remy, J. S., Erbacher, P., *Bioconjug. Chem.*, **1999**, 10, 558-561.

¹⁷³ Erbacher, P., Zou, S., Bettinger, T., Steffan, A. M., Remy, J. S., *Pharm. Res.* **1998**, 15, 1332-1339.

¹⁷⁴ Zanta, M. A., Boussif, O., Adib, A., Behr, J. P., *Bioconjug. Chem.*, **1997**, 8, 839-844.

¹⁷⁵ Remy, J. S., Goula, D., Steffan, A. M., Zanta, M. A., Boussif, O., Behr, J. P., Demeneix, B., *Self Assembling Complexes for Gene Delivery*, **1998**, Wiley, Chichester, pp. 135-148.

¹⁷⁶ Abdallah, B., Hassan, A., Benoist, C., Goula, D., Behr, J. P., Demeneix, B. A., *Hum. Gene Ther.*, **1996**, 7, 1947-1954.

¹⁷⁷ Goula, D., Benoist, C., Mantero, S., Merlo, G., Levi, G., Demeneix, B. A., *Gene Ther.*, **1998**, 5, 1291-1295.

¹⁷⁸ Goula, D., Remy, J. S., Erbacher, P., Wasowicz, M., Levi, G., Abdallah, B., Demeneix, B. A., *Gene Ther.*, **1998**, 5, 712-717.

- petite taille du complexe formé avec l'ADN (< 100 nm),^{169,170,179}
- stabilité de ce complexe en conditions physiologiques,
- capacité de la translocation dans le noyau (**Figure 75**).

De plus, la facilité avec laquelle le PEI peut être chimiquement modifié est avantageuse, surtout en le conjuguant avec divers groupes d'identification pour l'optimisation de sa spécificité.^{179,180}

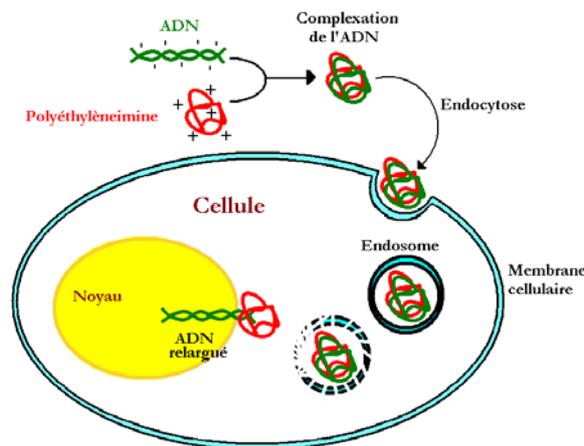


Figure 75 Mécanisme de la transfection non-virale de gènes par le PEI.

Une sérieuse limitation de l'utilisation de ces agents de transfection est leur toxicité.^{181,182} Elle provient de l'utilisation d'une forte concentration des agents nécessaires pour une transfection correcte. Dans cette partie, nous allons étudier l'effet du greffage d'un chromophore amino-réactif (chromophore **41**) sur le PEI, pour l'utiliser dans le suivi du mécanisme de la transfection non virale de gènes dans une cellule vivante. Dans un premier temps nous allons présenter les différentes caractéristiques du PEI, puis nous allons exposer les différents résultats obtenus lors de cette étude.

¹⁷⁹ Bettinger, T., Remy, J. S., Erbacher, P., *Bioconj. Chem.*, **1999**, 10, 558-561.

¹⁸⁰ Zanta, M. A., Boussif, O., Adib, A., Behr, J. P., *Bioconj. Chem.*, **1997**, 8, 839-844.

¹⁸¹ Godbey, W. T., Wu, K. K., Mikos, A. G., *Biomaterials*, **2001**, 22, 471-480.

¹⁸² Fischer, D., Bieber, T., Li, Y., Elsasser, H. -P., Kissel, T., *Pharmaceut. Res.*, **1999**, 16, 1273-1279.

IV.A.2.b. Caractéristiques de PEI

IV.A.2.b.1 Structure de PEI

Le PEI est un polymère qui est utilisé depuis des années dans des processus divers tels que la production de papier, la fabrication de shampooing, et la purification de l'eau. Le PEI se trouve sous deux formes: linéaire et branchée. Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à la forme branchée du PEI, vu son efficacité élevée en transfection de gènes par rapport à celle de la forme linéaire.^{173,179,180} La forme branchée est préparée par réaction de polymérisation cationique de monomères aziridine (mécanisme de croissance de chaîne). L'architecture branchée résulte des interactions spécifiques entre deux molécules croissantes de polymère (**Figure 76**).

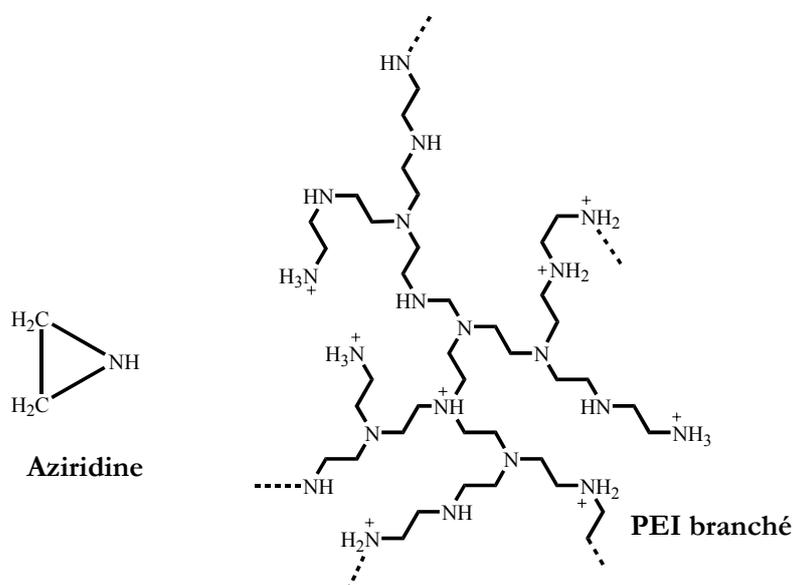


Figure 76 Structure du PEI branché et du monomère : Aziridine.

Cette forme branchée de PEI contient des amines primaires, secondaires et tertiaires, toutes pouvant être protonées. Avec une proportion d'un atome d'azote sur trois atomes par unité de base de PEI, le nombre de branchement et la protonation sont liés directement à la taille du polymère. Cette taille est variable d'un fournisseur à un autre. Dans notre cas, nous avons utilisé un PEI branché de masse molaire de l'ordre de 25 KDa (Aldrich).

La protonation du PEI est un facteur important de son efficacité en tant que vecteur de gènes à l'intérieur de la cellule. Les *pKa* des fonctions amines du PEI sont restés insaisissables car l'analyse rigoureuse des données expérimentales exigerait d'inclure les constantes d'ionisation pour chaque groupe aminé (primaire, secondaire et tertiaire).¹⁸³ Le nombre de groupes aminés

¹⁸³ Suh, J., Paik, H.J., Hwang, B.K., *Bioorg. Chem.*, **1994**, 22, 318-327.

peut facilement excéder 1000 unités, selon la masse moléculaire du PEI étudié. Suh *et al.* ont déterminé le pourcentage de groupes aminés non protonés à divers pH pour deux concentrations différentes du même PEI de masse molaire connue.¹⁸³ Les données rapportées montrent que le pourcentage de protonation du PEI dépend, en partie, de sa concentration. Pour chaque atome d'azote du PEI, c'est l'environnement local qui influence les propriétés acido-basiques. Notons qu'un facteur aussi important que les pKa du PEI, est le pouvoir tampon global sur une large gamme de pH.

IV.A.2.b.2 Caractérisation du complexe PEI/ADN

En présence d'une quantité suffisante de PEI, l'ADN peut se condenser à celui-ci et former un complexe PEI/ADN.¹⁸⁴ La condensation dépend du rapport des concentrations du couple polymère/ADN.¹⁸⁵ La structure branchée de PEI permet une meilleure condensation de l'ADN que la structure linéaire.¹⁸⁴ Cette condensation avec le PEI induit une protection de l'ADN contre l'hydrolyse par les nucléases comme cela a été démontré pour les complexes de PEG-poly(L-lysine)/ADN.¹⁸⁶ Le complexe PEI/ADN peut prendre différentes formes, selon la méthode de préparation.¹⁸⁷ La forme bâtonnet est défavorisée pour ce type d'application.¹⁸⁸ Un des facteurs déterminant la forme du complexe PEI/ADN est sa cinétique de formation.

IV.A.2.b.3 Toxicité

Le PEI à l'état libre peut nuire aux cellules, mais quand il est complexé avec l'ADN, l'effet nocif sur les cellules diminue. Une raison possible de cet effet toxique, est qu'il perméabilise la membrane cellulaire. Ces effets de perméabilité induite par le PEI ont été bien décrits sur la membrane externe de bactéries Gram-négatives.^{189,190} Par contre, aucun effet toxique du complexe PEI/ADN n'a été mentionné.^{189,190}

IV.A.2.c. Mode opératoire et résultats

IV.A.2.c.1 Préparation et caractérisation du conjugué PEI-Chromophore

Nous avons préparé le conjugué PEI-Chromophore en mélangeant dans un tube eppendorf une solution aqueuse du chromophore amino-réactif **41** avec une concentration 50 µM, avec une

¹⁸⁴ Dunlap, D.D., Maggi, A., Soria, M.R., Monaco, L., *Nucleic Acids Res.*, **1997**, 25, 3095-3101.

¹⁸⁵ Minagawa, K., Matsuzawa, Y., Yoshikawa, K., Matsumoto, M., Doi, M., *FEBS Lett.*, **1991**, 295, 67-69.

¹⁸⁶ Dash, P.R., Toncheva, V., Schacht, E., Seymour, L.W., *J. Control. Release*, **1997**, 48, 269-276.

¹⁸⁷ Chattoraj, D.K., Gosule, L.C., Schellman, J.A., *J. Mol. Biol.*, **1979**, 121, 327-337.

¹⁸⁸ Marx, K., Ruben, G., *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **1986**, 4, 23-39.

¹⁸⁹ Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Koski, P., *Microbiology*, **1997**, 143, 3193-3199.

¹⁹⁰ Helander, I.M., Latva-Kala, K., Lounatmaa, K., *Microbiology*, **1998**, 144, 385-390.

solution de PEI de concentration 50 μM en amine primaire libre, dans une solution tampon de phosphonate (pH=7,4). Le mélange est agité manuellement et laissé pendant deux jours à température ambiante. Après élimination du colorant non greffé sur le PEI par dialyse puis par filtration sur chromatographie d'extrusion sur gel, nous avons calculé la concentration en chromophore par spectroscopie UV-visible (15 chromophores par chaîne de PEI).

Pour étudier l'effet du greffage du chromophore sur ses propriétés photophysiques, nous avons mesuré les spectres d'absorption UV-visible et d'émission du conjugué chromophore/PEI dans l'eau. La **Figure 77** montre la superposition des spectres d'absorption UV-visible (à gauche), ainsi que celle des spectres d'émission (à droite) pour le chromophore **41** seul, et celui du couple chromophore/PEI. Nous avons observé que dans le spectre d'absorption du couple chromophore/PEI, un changement a lieu au niveau progression vibrationnelle des bandes d'absorption. En revanche, on n'observe pas de variation sur le spectre d'émission (**Figure 77** à droite).

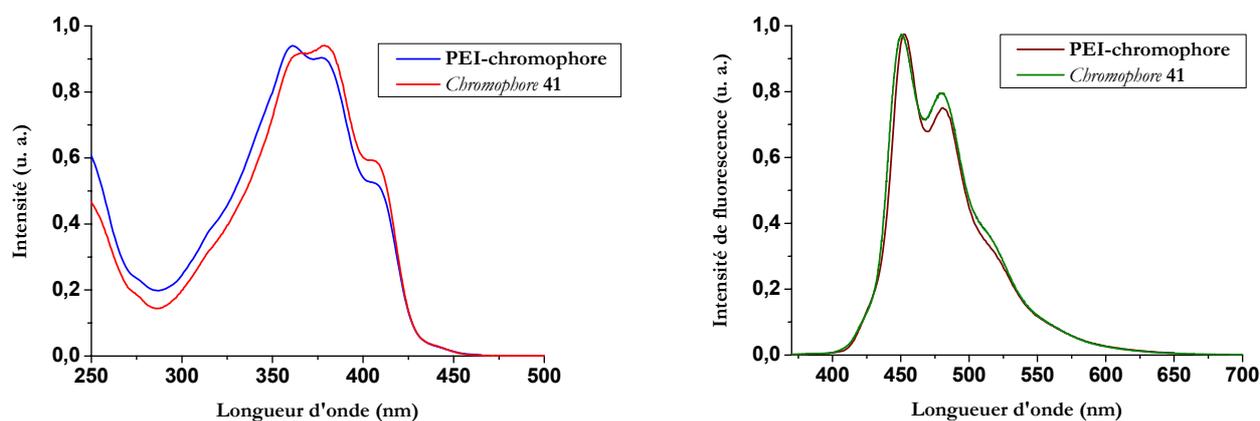


Figure 77 Spectres d'absorption UV-visible (à gauche) et spectres d'émission (à droite) du couple PEI-chromophore dans une solution tampon de NaCl à pH=7,4 et chromophore **41** seul dans l'eau.

Nous avons également mesuré le coefficient d'extinction molaire et le rendement quantique de fluorescence du couple chromophore/PEI dans l'eau (sulfate de quinine comme référence). Aucun changement significatif n'a été observé dans les propriétés photophysiques des deux composés. Les différentes données photophysiques du chromophore **41** et du couple chromophore/PEI dans l'eau sont représentées dans le **Tableau 7**.

Tableau 7 Données photophysiques du chromophore **41** et du couple chromophore/PEI dans l'eau.

Espèce	PEI-chromophore	41	
H ₂ O	$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$ (nm)	361	378
	$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$ (nm)	450	450
	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	3,8	3,8
	ϕ (%)	12	12

IV.A.2.c.2 Préparation et caractérisation du complexe chromophore/PEI/ADN

Ces études ont été réalisées en collaboration avec l'équipe du Pr. Yves Mély. La préparation du complexe chromophore/PEI/ADN et du complexe PEI/ADN (ADN extrait d'un veau) a été effectuée suivant le protocole expérimental décrit par Mély *et al.*¹⁹¹ Les tailles des particules formées par des complexes PEI/ADN ([ADN]=60 μM et [ADN]=6 μM) ou chromophore/PEI/ADN ([ADN]=60 μM) ont été mesurées par la technique de la diffusion dynamique de la lumière en fonction du rapport N/P situé entre 0,5 et 10 (N est le nombre de fonctions aminées du PEI par particule et P est le nombre de fonction phosphate par chaîne d'ADN par particule, **Figure 78**).

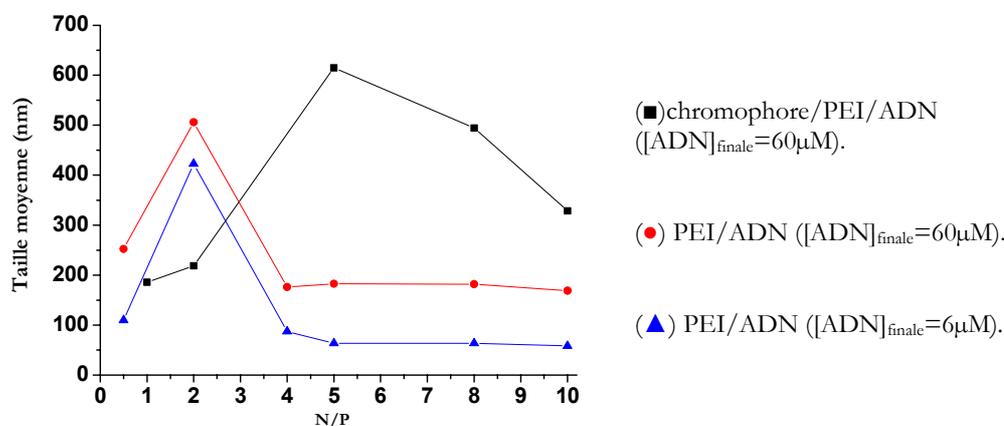


Figure 78 Taille moyenne des particules PEI/ADN et chromophore/PEI/ADN en fonction du N/P.

Pour le complexe chromophore/PEI/ADN, nous avons observé que la taille moyenne maximale pour une particule correspond au rapport N/P=5. Ce rapport correspond probablement aux conditions de neutralisation de toutes les charges négatives d'ADN. Ce résultat

¹⁹¹ Ira, Mély, Y., Krishnamoorthy, G., *Journal of fluorescence*, **2003**, 13, No. 4, 339-347.

est raisonnable car le pourcentage en charges positives (ammonium) portées par PEI a chuté après le greffage du chromophore. La taille moyenne maximale de la particule formée par le complexe PEI/ADN, sans chromophore correspond à un rapport N/P=2.

Les résultats obtenus par potentiométrie zêta sont comparables aux mesures de la taille du complexe PEI/ADN par diffusion dynamique de la lumière. Des particules neutres sont obtenues pour des rapports N/P compris entre 1 et 2 (**Figure 78**). Ces résultats sont tout à fait conformes à ceux décrits dans la littérature.¹⁹²

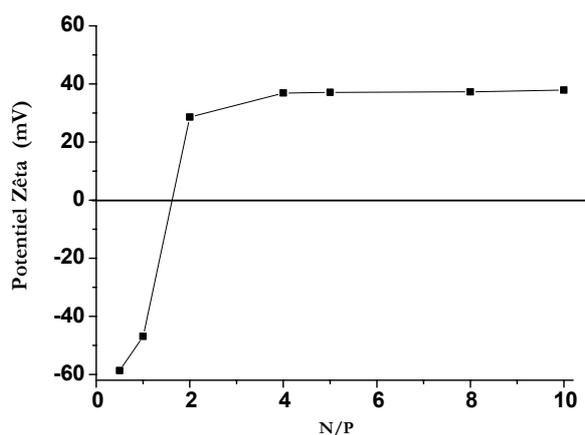


Figure 79 Effet du rapport N/P sur le potentiel zêta du complexe PEI/ADN.

IV.A.2.c.3 Etude de l'efficacité de transfection

Le ver luisant (*Photinus pyralis*), émet spontanément une lumière qui permet au mâle, capable de voler, de se rapprocher du ver femelle, qui lui ne vole pas. La production de lumière chez *P. pyralis* est le résultat de l'action d'une enzyme, appelée luciférase, sur un métabolite, la luciférine (**Figure 80**).



Figure 80 *Photinus pyralis* (ver luisant).

Pour pouvoir étudier l'efficacité du PEI en transfection de gènes, on introduit dans une cellule (souvent humaine) un ADN qui code la fabrication de la luciférase. L'addition de luciférine sur ces cellules, après leur destruction indique si la transfection a eu lieu (émission d'une lumière jaune) ou non. L'efficacité de la transfection est déterminée par quantification de la

¹⁹² Choosakoonkriang, S., Lobo, B. A., Koe, G. G., Koe, J. G., Middaugh C. R., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2003**, 92, No. 8, 1710-1722.

lumière émise. Les résultats sont exprimés en unité relative de lumière (Relative Light Units, RLU) par milligramme de luciférine ajoutée, RLU/mg.

Des cellules types HeLa ont été incubées avec un ADN pCMVLuc plasmide (ADN cyclique extrait du ver luisant codant la synthèse de la luciférase) complexé avec le conjugué chromophore/PEI. Après 3 heures et demi d'incubation, les cellules ont été lavées, puis incubées 24 heures. Elles ont ensuite été broyées pour réaliser l'essai luciférase (activité de la luciférase par mg de protéine dans une cellule détruite). Le jetPEI (PEI linéaire commercial, reconnu par sa très faible cytotoxicité) et le PEI ont été utilisés dans les mêmes conditions que le conjugué chromophore/PEI. L'efficacité de transfection des ces trois complexes a été mesurée en fonction de différents rapports N/P (**Figure 81**).

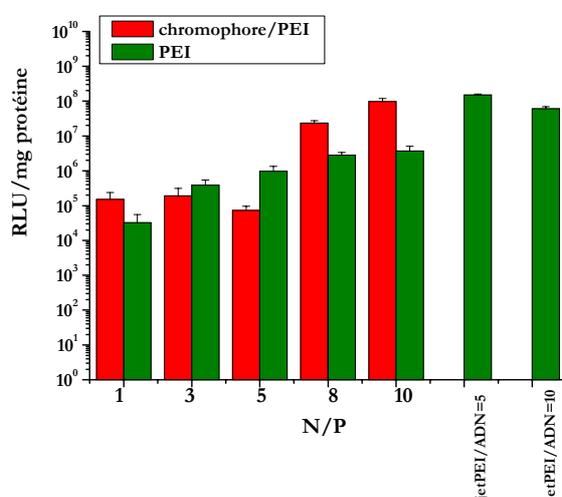


Figure 81 Efficacité de transfection des complexes PEI/ADN et chromophores/PEI/ADN.

Pour des rapports N/P inférieurs à 5, les efficacités de transfection des complexes PEI/ADN et chromophore/PEI/ADN sont proches. Cependant, pour des valeurs supérieures (8 et 10), le complexe chromophore/PEI/ADN présente une efficacité plus importante que celle du complexe PEI/ADN simple (5×10^7 et $\sim 10^8$ respectivement). Ces valeurs d'efficacité de transfection sont comparables à celles obtenues avec le complexe jetPEI/ADN pour N/P=5 ou 10.

IV.A.2.c.4 Imagerie à deux photons du chromophore/PEI/ADN

Deux lots de cellules type HeLa ont été utilisés. Les cellules du premier lot ont été incubées dans une solution tampon du conjugué chromophore/PEI (300 μ M de PEI), et celles du deuxième lot ont été incubées avec le complexe chromophore/PEI/ADN (N/P=10). Les différentes images obtenues par microscopie à deux photons de ces cultures cellulaires sont présentées dans la **Figure 82**.

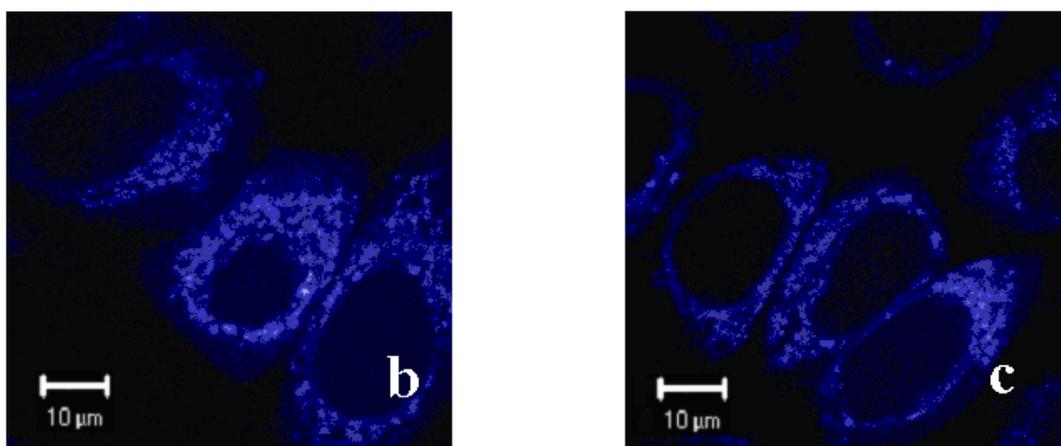


Figure 82 Images en microscopie à deux photons des cellules HeLa incubées avec :

(b) : le conjugué chromophore/PEI, (c) : le complexe chromophore/PEI/ADN.

Le comportement vis à vis de la cellule du chromophore conjugué à un PEI ou conjugué à un PEI complexé à un ADN reste le même. L'espèce fluorescente (chromophore/PEI ou chromophore/PEI/ADN) franchit la membrane cellulaire et s'accumule dans certaines parties du cytoplasme (certainement dans des endosomes) sans traverser la membrane nucléaire. Donc la conjugaison du PEI avec un chromophore amino-réactif n'affecte pas ses propriétés (pénétration dans la cellule, transfection,...).

IV.A.2.c.5 Conclusion

La conjugaison du chromophore amino-réactif **41** avec le PEI a été effectuée sans diminuer son efficacité. Nous avons observé une augmentation de la taille du complexe chromophore/PEI/ADN vers un rapport N/P plus élevé que celle du complexe PEI/ADN au rapport N/P correspondant. Ceci peut être expliqué par la diminution du pourcentage de charges positives due au greffage des chromophores sur les chaînes des PEI. De plus, l'efficacité de transfection est plus importante pour des rapports N/P compris entre 8 et 10 (même ordre d'efficacité que le jetPEI).

L'imagerie par microscopie à deux photons a montré que le greffage du chromophore sur le PEI n'affecte pas la pénétration du complexe avec l'ADN dans la cellule, qui pénètre probablement par endocytose.

IV.A.3. OBSERVATIONS DE CELLULES FIXEES : IMMUNOFLUORESCENCE

Les chromophores dissymétriques ont été greffés sur des anticorps de protéines d'adhésions. Les protéines d'adhésion, véritables liens entre les cellules et leur environnement, jouent un rôle primordial dans l'organisation des tissus et leurs propriétés fonctionnelles. Lors de certains processus pathologiques comme, l'inflammation ou les cancers métastatiques, les cellules sont amenées à se déplacer pour migrer vers d'autres sites. La possibilité d'imager par les techniques de fluorescence les protéines impliquées dans les phénomènes d'adhérence permet de quantifier les nucléations et la croissance des contacts cellulaires.

La protéine d'adhésion que nous avons cherché à visualiser est l'ICAM-1 (Inter Cellular Adhesion Molecule 1) exprimée à la surface de différentes cellules. La lignée cellulaire HeLa est une lignée de cellules épithéliales qui exprime fortement l'ICAM-1 (**Figure 83**).

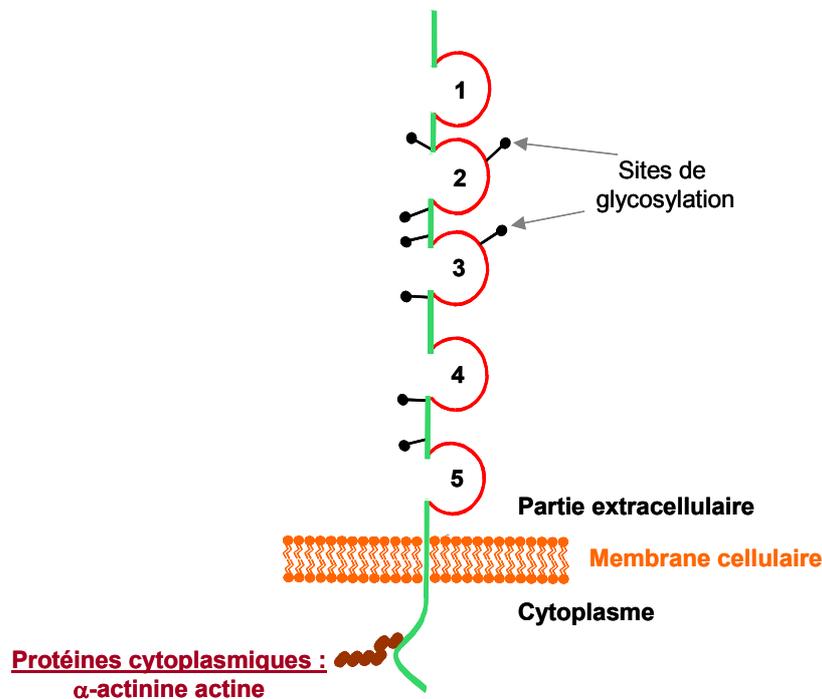


Figure 83 Représentation schématique de différentes parties de l'ICAM-1 et son environnement cellulaire.

ICAM-1 est une protéine trans-membranaire de la superfamille des immunoglobulines (Ig). Sa séquence protéique est composée de 532 acides aminés (aa) : la partie extracellulaire est constituée de cinq domaines de type Ig (454 aa), suivie d'un domaine hydrophobe trans-membranaire (22 aa) et d'une petite queue cytoplasmique de 28 aa. ICAM-1 est différemment glycosylée selon le type cellulaire, ce qui conduit à des masses molaires variant entre 80 et 115 kDa.

Pour localiser une protéine d'adhésion, on la couple à un marqueur fluorescent soit directement, soit à partir de son anticorps correspondant. La haute résolution des images obtenues en microscopie à deux photons nous permettra de préciser la localisation exacte de la protéine. La fonctionnalisation des chromophores amino-réactifs par un groupement isothiocyanate nous permet de réaliser une bio-conjugaison sur les fonctions amines libres de l'anticorps de la protéine ICAM-1. Ainsi, nous avons couplé le chromophore **26** sur un anticorps monoclonal antiICAM-1.

Pour imager la localisation des protéines ICAM-1 et comparer l'efficacité de nos chromophores à celles des colorants commerciaux, un anticorps commercial (antiAnticorps ACII) couplé à l'**Alexa488** a été utilisé. L'**Alexa488** a été choisi pour le non recouvrement de ses spectres d'absorption et d'émission avec ceux du chromophore amino-réactif **26** (**Figure 84**). Ceci nous permettra de séparer les signaux de fluorescence des deux colorants pendant les mesures.

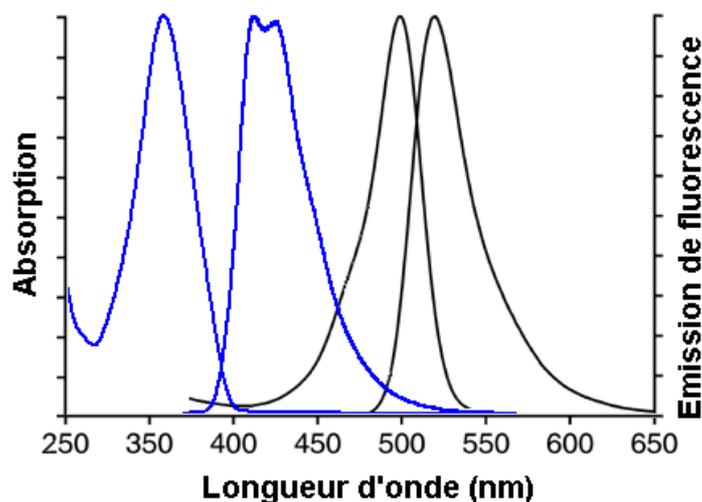


Figure 84 Spectres d'absorption (à gauche) et d'émission (à droite) de **26** en bleu, et spectres d'absorption (à gauche) et d'émission (à droite) de **Alexa488** en noir.

Le marqueur fluorescent **Alexa488** possède un spectre presque identique à celui de la fluorescéine mais les conjugués formés **Alexa488**-anticorps sont plus lumineux et plus stables que ceux formés avec la fluorescéine. Ses longueurs d'onde d'excitation et d'émission maximales sont respectivement à 495 et 515 nm (**Figure 84**). De plus, sa stabilité à la lumière et aux pH compris entre 4 et 10 permet une observation et une acquisition d'images facilitée. Sa structure chimique comprend un groupement ester succinimidyl permettant le couplage du fluorophore avec l'anticorps (**Figure 85**).

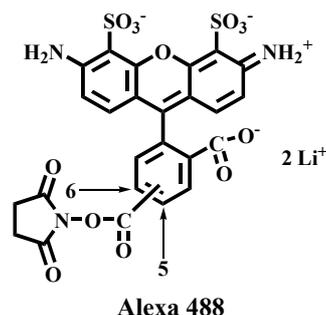


Figure 85 Structure du marqueur fluorescent **Alexa488**

Après l'incubation de cellules fixées de type HeLa avec les différents anticorps, des images en microscopie à deux photons ont été réalisées pour le chromophore **26** (en excitant à 720 nm), alors que pour l'**Alexa488** les images ont été obtenues par observation confocale classique (à un photon). Pour séparer les signaux de fluorescence deux filtres optiques, un bleu et un vert ont été utilisés (**Figure 86.a et b**).

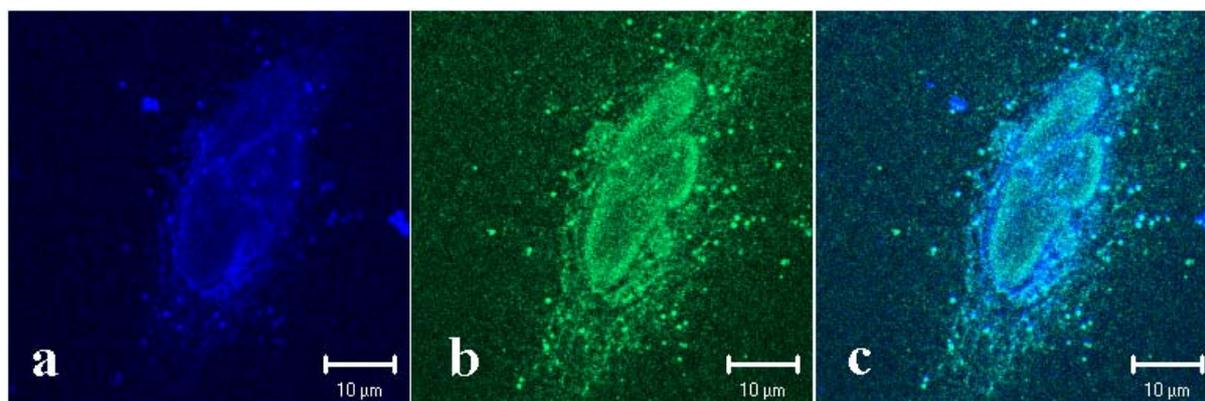


Figure 86 Etude de la bio-conjugaison sur de cellules de type **HeLa** fixées. (a) Localisation de la protéine ICAM-1 par le système bio-conjugué **26**-AntiICAM-1, (b) Localisation de la protéine ICAM-1 par le système conjugué Alexa488-ACII. (c) Superposition de deux images.

Ces résultats ont montré la possibilité de localiser la protéine ICAM-1 à l'aide du chromophore amino-réactif **26** sans recours à l'utilisation d'un deuxième anticorps, tout en utilisant une technique plus performante que la microscopie confocale, la microscopie à deux photons.

Pour savoir si les chromophores amino-réactifs se comportent en milieu cellulaire comme les chromophores symétriques, des cellules vivantes de type HeLa ont été incubées dans une solution aqueuse 10^{-6} M de **26**. Des images en microscopie à deux photons ont alors été réalisées (**Figure 87**).

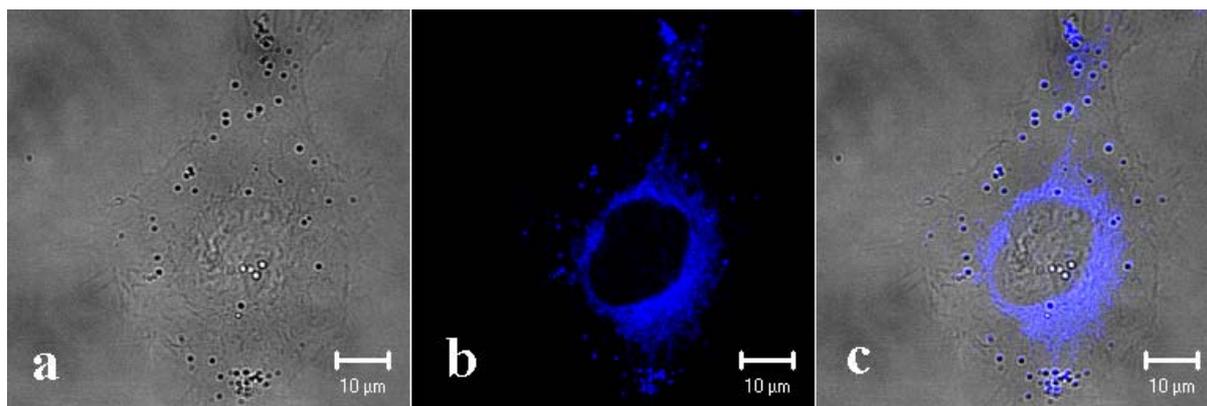


Figure 87 Cellules *HeLa* incubées pendant 5 minutes à 37° C dans une solution aqueuse 10^{-6} M de **26**. (a) contraste de phase, (b) fluorescence à deux photons, (c) superposition de deux images.

Nous avons observé que le colorant franchit rapidement la membrane cellulaire et colore le une grande partie du cytoplasme, mais des granules présentant une fluorescence plus intense ont été observés dans le cytoplasme. Donc, la fonctionnalisation du chromophore n'affecte pas sa pénétration dans le cytoplasme, mais elle permet sans doute la fixation ultérieure du chromophore à des résidus amine protéiques, donc la coloration de certains organites cellulaires.¹⁹³

¹⁹³ **Hayek, A.**, Bolze, F., Nicoud1, J.- F., Duperray, A., Grichine, A., Baldeck, P. L., Vial, J.- C., *Nonlinear Optics and Quantum Optics*, **2006**, *in press*.

IV.A.4. IMAGERIE DU PETIT ANIMAL

Cette partie de notre travail de thèse est axée sur l'imagerie intravitale du cerveau de souris par microscopie à deux photons afin d'étudier l'effet d'une irradiation par rayons X.

Les mesures effectuées actuellement dans ce domaine se basent sur la variation de la perméabilité de la BHE saine ou lésée vis à vis du passage d'un colorant (*via* une injection dans la circulation sanguine principale) à la suite d'une irradiation par rayons X (**Figure 88**). Cette méthode permet d'imager une réaction à très court terme (la minute) suite à une agression du cortex par les rayons X. Cette réaction rapide a bien sûr d'importantes conséquences à long terme. Il est donc fondamental de trouver un colorant efficace en ADP capable de passer la BHE, qui permettrait de comparer la perméabilité de la BHE avant et après traitement, sans avoir recours à des méthodes très invasives comme l'injection locale directe dans les capillaires cérébraux.

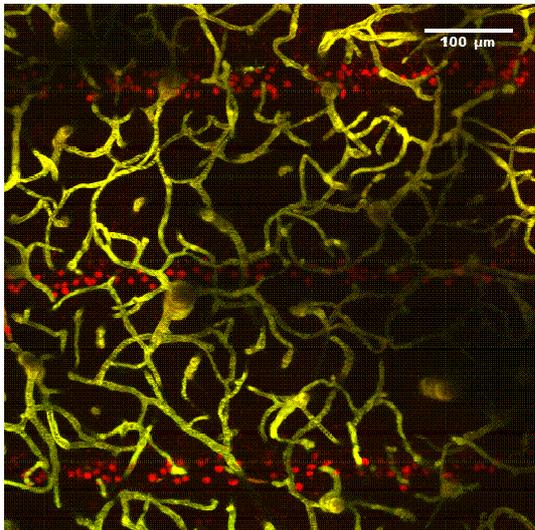


Figure 88 Projection verticale d'une pile d'images acquises *in vivo* de 150 à 300 μm sous la dure mère (par pas de 2 μm) dans le cortex d'une souris Nude 48b après radiothérapie par microfaisceaux. Les quantités de colorants injectés sont: 100 μl d'une solution de 100 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ de FITC-dextran et 50 μl d'une solution de 5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ de sulforhodamine B. La coloration des capillaires en jaune provient de l'émission simultanée des 2 colorants alors que les "boules rouges" sont des corps cellulaires (vraisemblablement des astrocytes) qui ont capté le colorant diffusible uniquement lorsqu'ils ont subi l'irradiation X (ici sous forme de surdosage en 3 bandes horizontales).

IV.A.5. ANALYSE DE LA MICRO VASCULARISATION CEREBRALE DE LA SOURIS PAR MICROSCOPIE NON-LINEAIRE

La barrière hémato-encéphalique (BHE) se situe au niveau des capillaires cérébraux. Elle est constituée d'une couche de cellules endothéliales solidement liées entre elles, et empêche de nombreuses molécules - notamment certains médicaments - de passer vers le cerveau. La base du mécanisme physiologique de la BHE est le blocage de la diffusion de substances des vaisseaux sanguins vers le cerveau par des espaces inter-endothéliaux liées par des jonctions de types serrées. Le transport intercellulaire étant pratiquement inexistant, l'accès d'une substance au cerveau dépend de ses propriétés physico-chimiques ou de son interaction avec un transporteur au niveau des membranes de la cellule endothéliale. Parmi les propriétés physico-chimiques, la liposolubilité constitue un facteur essentiel, mais interviennent également l'ionisation de la

molécule au pH physiologique ou sa liaison aux protéines plasmatiques. Les protéines d'adhérences quant à elles sont de bons candidats en ce qui concerne la modulation de la perméabilité de la jonction. Il est possible que la régulation de la perméabilité des jonctions dépende de l'altération des ces jonctions d'adhérence. Cependant il est connu que les astrocytes jouent un rôle inducteur dans la différenciation de l'endothélium pour former la BHE.

Des molécules aussi petites que des ions ne franchissent pas librement la BHE. Les cellules endothéliales sont dotées de mécanismes permettant une régulation de la composition ionique du milieu extracellulaire cérébral et en particulier du K^+ , dont la concentration dans le milieu extracellulaire reste stable (2,8 mM) en dépit des variations dont la concentration sanguine peut être l'objet (3 à 5 mM). La diffusion libre d'une substance dépend donc grandement de sa capacité de diffusion dans la phase lipidique de la membrane plasmique.

La diffusion libre d'une substance dépend donc de son coefficient de partition huile/eau. Les substances liposolubles comme l'éthanol diffuseront facilement alors que des substances peu liposolubles comme le manitol diffuseront très faiblement, ceci est dû au fait que le cerveau se caractérise par sa très grande richesse en lipides. Lorsque l'on porte sur un graphique l'extraction relative de la circulation sanguine dans le cerveau d'une substance en fonction de son coefficient de partage huile/eau, on peut noter trois groupes différents (**Figure 89**).

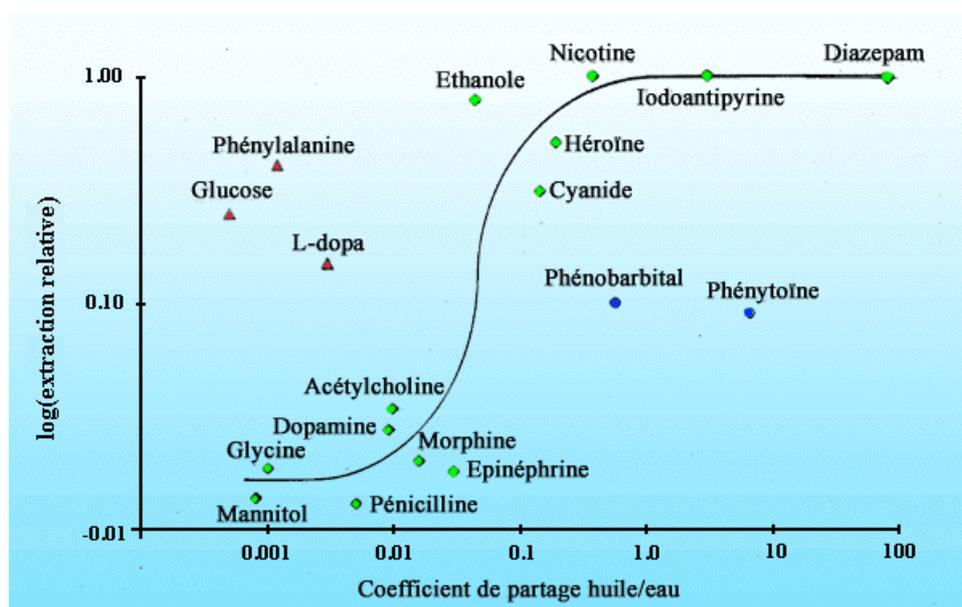


Figure 89 Coefficient de partage huile/eau en fonction de l'extraction relative.

Un premier groupe est formé par des molécules dont le passage est liée directement à leur liposolubilité (●). On constate que le coefficient de partition de 0,1 représente une valeur de transition au-delà de laquelle les molécules sont facilement extraites de la circulation. On trouve

d'autres substances (▲) présente une extraction supérieure à la valeur que l'on peut prédire à partir du $\log P$ ($> 0,1$). Ces molécules passent dans le système nerveux central (SNC) par l'intermédiaire d'un système de transport spécialisé. On trouve également un troisième groupe, qui se caractérise par des valeurs inférieures à celles qui peuvent être prédites (●). Cette valeur inférieure peut s'expliquer par le fait que les molécules sont liées à des protéines plasmatiques dans le compartiment sanguin.

Le passage des médicaments à travers la BHE est souvent un facteur limitant à l'action d'agents thérapeutiques sur le système nerveux central. Le ciblage des médicaments représente donc un important défi, en particulier pour le traitement des maladies neurodégénératives, ou pour celui des tumeurs cérébrales. Une difficulté majeure de ciblage est essentiellement due à la présence d'une *p*-glycoprotéine qui favorise l'extraction de nombreux agents pharmacologiques hydrophobes. Une stratégie envisagée pour contourner cette difficulté est d'augmenter la liposolubilité de la molécule.

Des stratégies utilisées pour améliorer le passage des médicaments à travers la BHE sont fondées sur une « lipidisation » des molécules, en se basant sur l'idée que, plus on augmente la lipophilie, plus on a de chances de faire passer une molécule à travers la BHE. Cette lipidisation doit être modérée, car des études ont montré que les molécules lipophiles ont tendance à se lier aux protéines plasmatiques et par suite leur extraction sera difficile.

IV.A.6. RESULTATS EXPERIMENTAUX

Les expériences ont été réalisées sur des souris Suisse nues saines, âgées de 4 à 6 semaines (15-24 g). Les souris ont été anesthésiées à l'aide d'un masque, relié à un courant de gaz contenant 70% de N_2O et 30% O_2 . A ce courant, 5% d'isoflurane ont été ajoutés pour induire l'anesthésie, puis 1,5% pour la maintenir. L'animal anesthésié a été fixé sur un support optimisé pour permettre la rotation autour les axes antéro-postérieurs. Le crâne a été exposé au-dessus du cortex pariétal et un trou de 3 millimètres de diamètre a été foré. La surface exposée du cerveau a été protégée de la dessiccation par un gel échographique (Gel aquosonique). 100 μ l d'une solution aqueuse de **14** à 10 mg/mL ont été ensuite injectés par voie intraveineuse dans la queue. Pendant les expériences, la souris a été disposée sur une serviette chaude pour éviter la chute brutale de la température corporelle. Pour les études *ex-vivo*, le cerveau a été extrait, et des coupes frontales ont été réalisées. Un microscope à balayage laser à deux photons constitué d'un microscope confocal comportant un scanner de type Biorad (MRC 1024) et d'un microscope type Olympus BX50WI a été utilisé. Le montage expérimental est illustré dans la **Figure 90**.

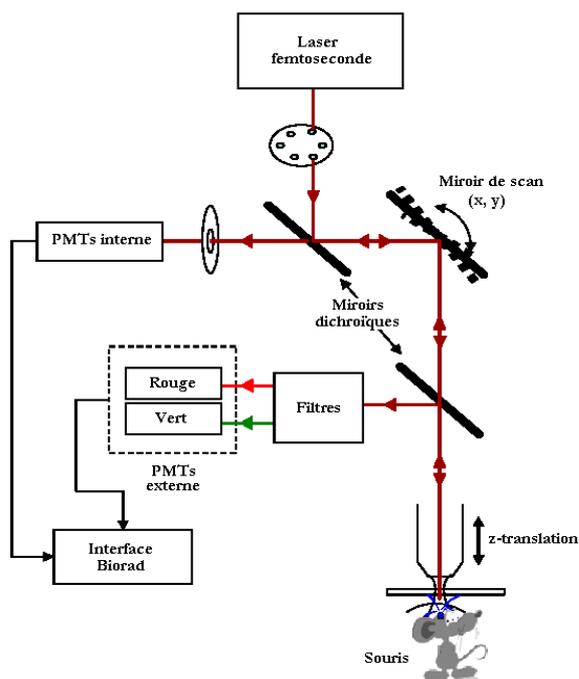
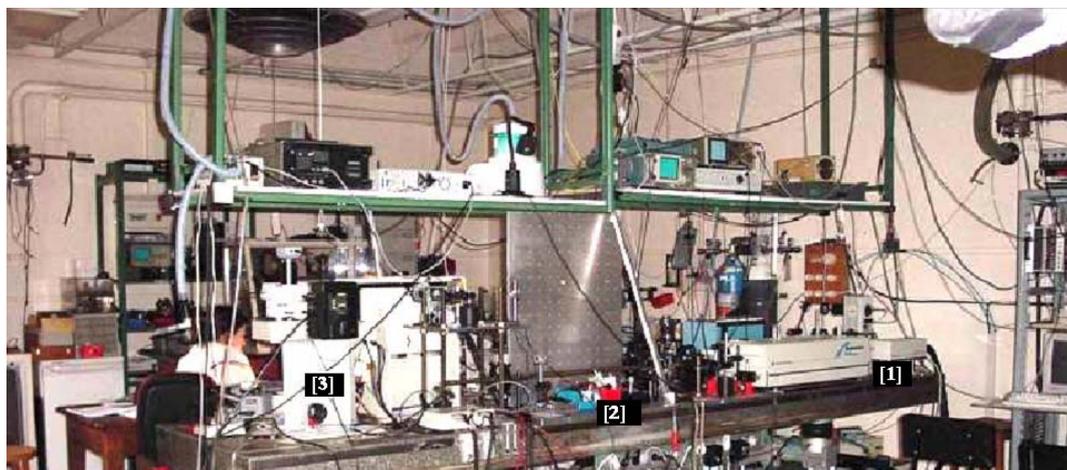
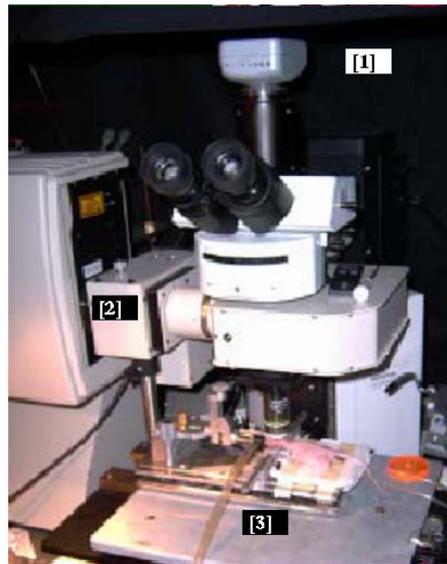


Figure 90 Représentation schématique du montage : Un faisceau lumineux de longueur d'onde 800 nm émis par un laser Ti :Sapphire (pompe 5-W, Spectra-Physics, Millennia V) d'impulsion femtosecond est focalisé à l'intérieure du cerveau de la souris à l'aide d'un objectif de microscope à immersion dans l'eau (ouverture numérique=0,95, Xlum Plan FI Olympus). Le balayage du faisceau laser se fait selon le plan x-y, pour produire des images de taille 512*512 (0,9s/image). La variation de la profondeur de l'observation est réalisée par translation selon l'axe z de l'objectif de microscope motorisé. L'intensité incidente du laser est variée d'une valeur moyenne entre 20 et 200 mW, en utilisant de filtres placés avant le microscope.

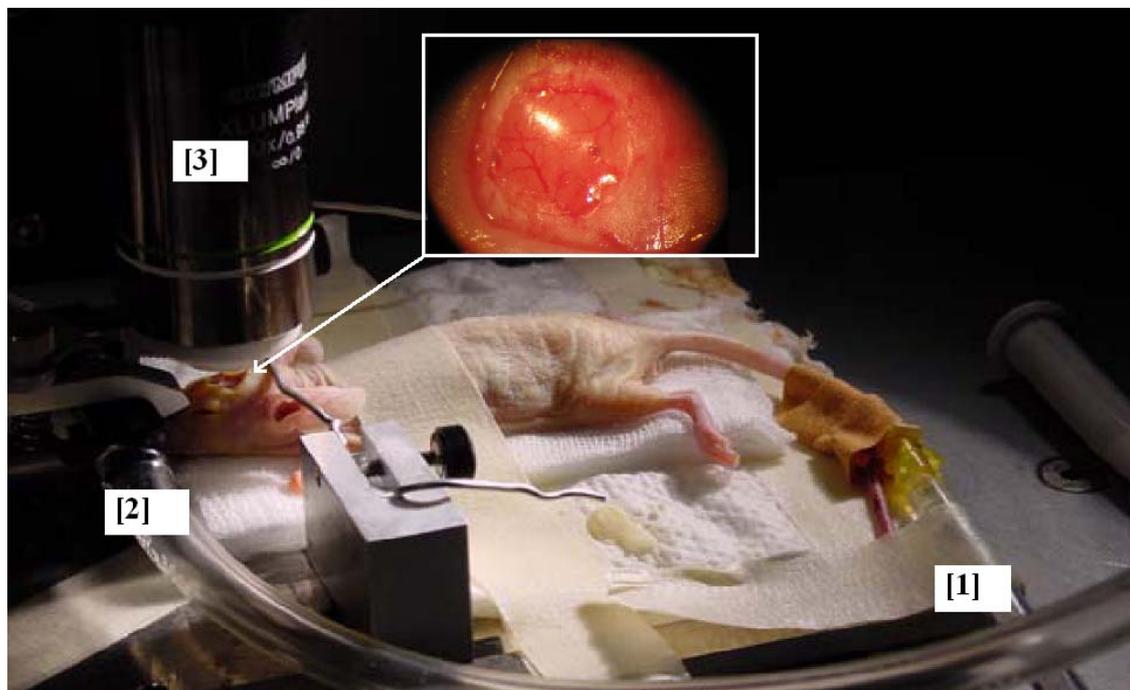
La profondeur de l'image obtenue par microscopie à deux photons dépend de la dispersion de la lumière par les tissus. La résolution de l'image ainsi que la profondeur de l'observation dépendent de la focalisation du faisceau laser, l'ouverture numérique de l'objectif de microscope,... Notons que la dimension latérale du point focal du faisceau laser utilisé est inférieure à 0,6 μm (Largeur à mi-hauteur de la raie de fluorescence) et la dimension axiale est inférieure à 6 μm (en comparaison avec la valeur 3,6 μm pour un faisceau Gaussien parfait).



Montage du Dr. Jean Claude Vial : [1] : Source laser ; [2] : Dispositifs optique ; [3] : Microscope.



Le microscope : [1] : Camera ; [2] : Arrivée du faisceau laser ; [3] : Support de la souris.



La souris : [1] : Tuyau d'injection du colorant dans la queue ; [2] : Tuyau de l'anesthésie qui alimente le masque ; [3] : Objectif du microscope. L'image cadrée montre un agrandissement de la craniotomie pratiquée.

Des scans plans de l'intensité de fluorescence $I(x, y, z)$ ont été effectués à des profondeurs successives dans le cortex. Le pas dans les plans z varie de 1 à 5 μm . Le temps d'acquisition d'une coupe est de plusieurs minutes. La lumière excitatrice ainsi que le signal de fluorescence émis se sont atténués au fur et à mesure par la dispersion et l'auto-absorption des photons en augmentant la profondeur de l'observation. Pour éviter cet effet, l'intensité du laser a été manuellement augmentée jusqu'à ce que la fluorescence de quelques pixels les plus lumineux aient saturé le système de détection.

Le chromophore **14** colore le volume intravasculaire, avec une observation possible jusqu'à 250 μm sous la dure mère. Le chromophore **14** passe par ailleurs la BHE (présence d'un fond marqué sur le volume extravasculaire et marquage d'« éléments »). Le marquage est plus important à proximité des capillaires. Ces résultats obtenus sont illustrés dans la **Figure 91**.

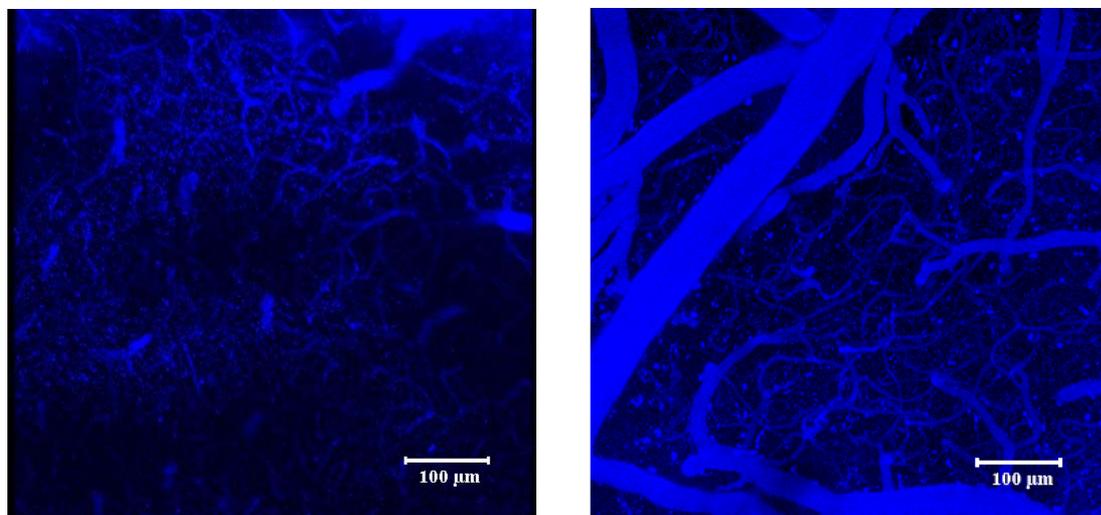


Figure 91 Images des vaisseaux vasculaires colorés par **14** obtenues avec un objectif, 20x. z -projection entre 0-200 μm dans un cortex d'une souris nue. L'image à droite est un agrandissement informatique d'une zone de l'image initiale à gauche, montre la coloration des vaisseaux sanguins larges.

Les éléments marqués doivent être intracellulaires, vraisemblablement cytoplasmiques. Il semble y avoir une corrélation entre le nombre d'éléments visualisés et la densité cellulaire des couches I et II du cortex cérébral (peu d'éléments entre 0 et 70 μm ; beaucoup plus en dessous). Les « éléments » mesurés sont de l'ordre de 10 μm en surface et de 3 à 4 μm en profondeur (**Figure 92**).

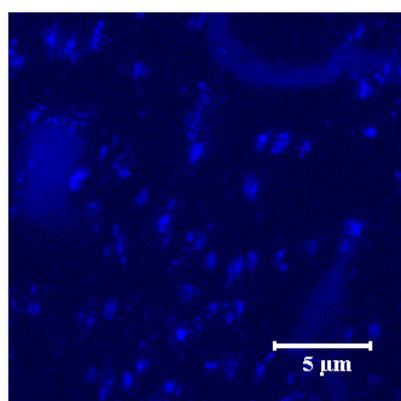


Figure 92 Images des éléments colorés par **14** prises avec un microscope, 60x, z -projection entre 100-200 μm dans un cortex d'une souris nue.

Le chromophore **14** semble colorer le cytoplasme de toutes les cellules. En effet, autre type de cellules, des cellules tumorales **F98**, ont été incubées avec le chromophore **14**. Les images

obtenues par microscopie à deux photons ont été analysée en mesurant l'intensité de fluorescence sur une cellule (**Figure 93**).

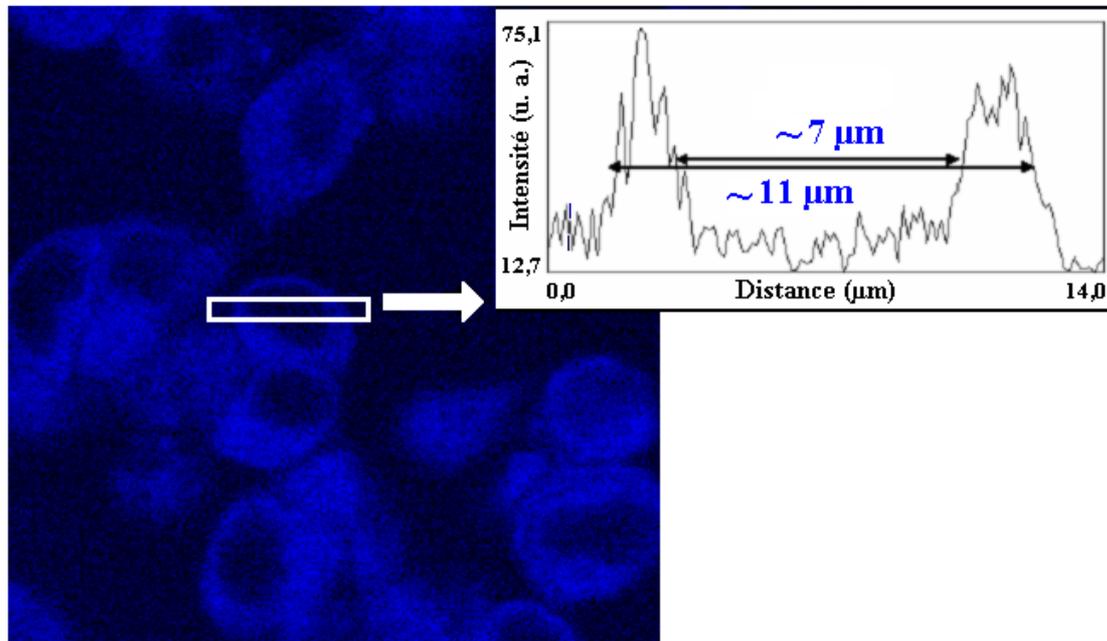


Figure 93 Cellules tumorales F98 colorées par le chromophore **14**.

La distance mesurée entre les deux bords internes des deux raies de fluorescence obtenues est de l'ordre de $7 \mu\text{m}$, et celle entre les bords externes est de l'ordre de $11 \mu\text{m}$, ce qui correspond à la taille du noyau et du cytoplasme d'une cellule tumorale **F98** respectivement. Ceci démontre que la fluorescence ne s'observe que dans le volume cytoplasmique.

IV.A.7. CONCLUSION

La craniotomie de l'ordre de 3 millimètres chez une souris nue saine, imagée par un microscope à deux photons, équipé par un objectif à immersion approprié, a permis l'observation de l'arbre vasculaire dans le cortex cérébral de l'animal jusqu'à des profondeurs de $250 \mu\text{m}$. Le colorant **14** franchit la BHE, et colore le cytoplasme des cellules qui baignent dans le cortex. Ceci confirme les mesures expérimentales du coefficient de partage ($\log P=1,5$), qui sont normalement optimales pour le passage de la BHE. Toutes ces caractéristiques font du colorant **14** un bon candidat pour l'imagerie à deux photons de systèmes nerveux corticaux.

V. CONCLUSION

Deux nouvelles familles (symétrique et dissymétrique) de chromophores solubles dans l'eau, absorbants à deux photons et fluorescents dans le bleu ont été conçus pour être utilisés dans différentes applications biologiques. La nécessité d'améliorer leurs propriétés photophysiques à un et à deux photons d'un côté, et leur fournir une fonctionnalité additionnelle d'un autre côté, ont induit des travaux d'ingénierie moléculaire sur leur structure, que ce soit sur la partie centrale de la molécule (passage du cœur biphényle au cœur fluorényle) aussi bien que sur une des parties périphériques (fonctionnalisation par l'iso-thiocyanate ou par un cyclène). Ces chromophores ont été synthétisés avec un bon rendement de synthèse. Leurs propriétés photophysiques linéaires et non-linéaires sont encourageantes et ont été utilisées en imagerie biologique à deux photons à différents niveaux : cellulaire (cellules vivantes et cellules fixées) et petit animal (souris).

CHAPITRE III

SYNTHESE DE NOUVEAUX CHROMOPHORES MULTIPROPRIETES CONTENANT DU BORE

I. INTRODUCTION

Cette partie de notre travail de thèse est axée sur l'étude de l'effet des interactions électroniques entre deux systèmes conjugués à travers un système pseudo-conjugué apportant une autre propriété en plus de l'absorption multiphotonique. Il en résulte un nouveau type de chromophore que nous appelons « chromophore multipropriétés ». Les propriétés non-linéaires importantes obtenues avec les chromophores bistilbéniques unidimensionnels (D- π -cœur conjugué- π -D), synthétisés au cours de la première partie, nous ont encouragés à utiliser la même architecture-modèle pour cette étude, en remplaçant le cœur rigide conjugué par un cœur pseudo-conjugué possédant des propriétés supplémentaires (D- π -cœur pseudo-conjugué- π -D). Pour étendre les applications de la microscopie à deux photons, nous avons pensé la combiner avec la Thérapie par Capture de Neutrons par le Bore (l'acronyme anglais est BNCT pour « Boron Neutron Capture Therapy »). Le nombre d'atomes de bore dans le chromophore (soit dans le cœur pseudo-conjugué soit dans les groupes électrodonneurs) est un critère crucial pour une BNCT efficace. Après une étude bibliographique sur les produits conjugués contenant du bore et leurs propriétés photophysiques, nous avons sélectionné trois structures organiques contenant du bore et connues pour leur capacité à induire des interactions entre deux systèmes conjugués. Ces trois structures joueront le rôle de cœurs pseudo-conjugués pour les chromophores envisagés : ce sont le pyrazabole, le cyclodiborazane et le *para*-carborane (**Figure 94**).

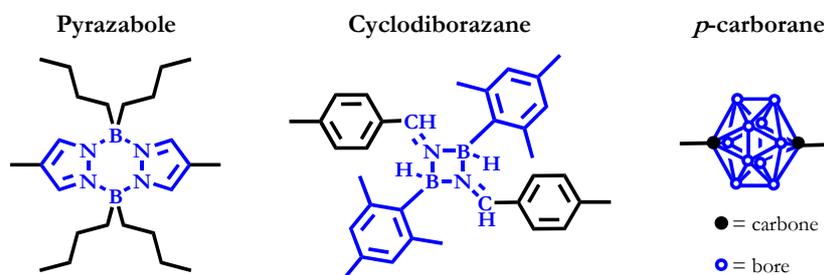


Figure 94 Structures de trois cœurs pseudo-conjugués sélectionnés.

Le pyrazabole et le cyclodiborazane contiennent chacun deux atomes de bore par molécule. Le *p*-carborane quant à lui contient dix atomes de bore par molécule ce qui est plus favorable pour la BNCT. Pour mieux comprendre le choix de ces cœurs, nous expliquons dans les paragraphes suivants le principe de base des interactions électroniques ainsi que celui de la BNCT.

I.A. LES INTERACTIONS ELECTRONIQUES : COUPLAGE EXCITONIQUE

Un système conjugué est constitué d'une alternance de liaisons π (doubles ou triples) et de liaisons σ . Un tel système permet la délocalisation d'électrons sur tout le système π d'une molécule donnée. Ainsi l'écriture d'une forme mésomère limite selon la théorie de Pauling pour toute molécule de ce type est possible. La conjugaison désigne le recouvrement d'orbitales atomiques de type « p » parallèles, pour au moins trois atomes adjacents. En revanche, un système est appelé « pseudo-conjugué », quand on ne peut pas écrire une forme mésomère de Pauling pour l'ensemble de la molécule. Prenons par exemple le cas d'un diène contenant un couple méthoxy/nitro (c'est à dire donneur/accepteur D/A) à ses extrémités, et le cas d'un dérivé de pentadiénone contenant les mêmes groupes donneur/accepteur (**Figure 95**).

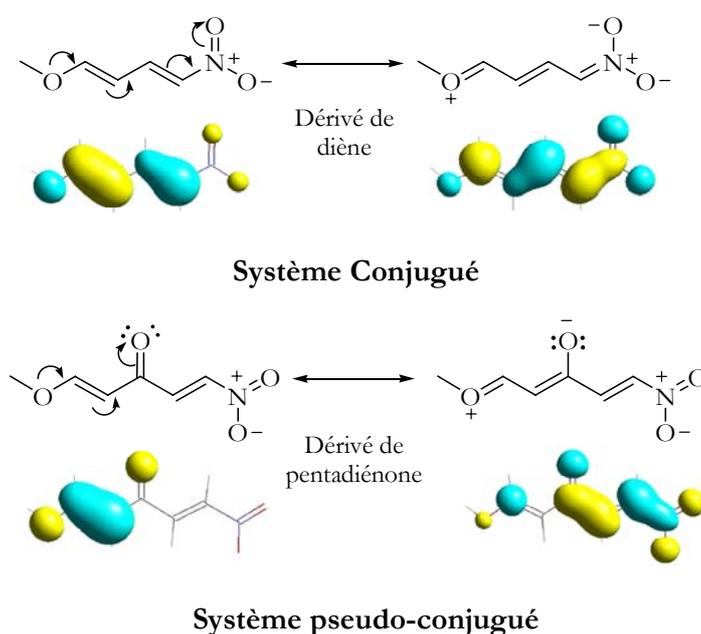


Figure 95 Forme mésomère d'un système conjugué de dérivé de diène et d'un autre pseudo-conjugué de dérivé chalcone.

Dans le cas du dérivé diénique, la forme mésomère montre un transfert de charge intramoléculaire donneur/accepteur par l'intermédiaire du système conjugué transmetteur, ce qui n'est pas le cas pour le dérivé de la pentadiénone car la délocalisation est stoppée au niveau du carbonyle. On n'arrive pas à mettre en évidence un transfert de charge méthoxy/nitro dans un tel système par la méthode de la mésomérie. Mais peut-on dire pour autant qu'il n'y a pas d'interaction électronique MeO/NO₂ intramoléculaire ? L'analyse des orbitales moléculaires nous permet de constater que non, il y a bien interaction électronique d'un bout à l'autre de la molécule. Bien sûr il y a aussi une interaction forte entre le méthoxy et le carbonyle, décrite celle là par une forme mésomère selon Pauling. Des interactions de ce type ont été mises en évidence sur des dérivés de chalcone (nom donné à la 1,3-diphénylpropènone) et ont conduit à des

chromophores efficaces en optique non-linéaire quadratique.¹⁹⁴ Pour les interactions électroniques qu'on ne peut pas décrire par la mésomérie, on se propose de considérer la théorie du couplage excitonique.

Dans la plupart des cas, les interactions électroniques au sein d'une molécule se font à travers des systèmes conjugués. Récemment, Sitha *et al.* ont montré que les interactions électroniques de deux systèmes π à travers des liaisons σ (système dipolaire donneur-accepteur π - σ_n - π) conduisent à des valeurs d'hyperpolarisabilité β importantes.¹⁹⁵ D'un autre côté, les interactions électroniques à travers un système pseudo-conjugué comme le diméthylèncyclobutane ont été mises en évidence par Griffin *et al.* en comparant les spectres d'absorption UV-visible du 1,3-diphénylméthylèncyclobutane (**1,3-D**) avec celui du diphénylméthylèncyclobutane (**D**).¹⁹⁶ La **Figure 96** montre les structures de **D**, qui a été considéré comme un monomère, et celle du dimère correspondant **1,3-D**.

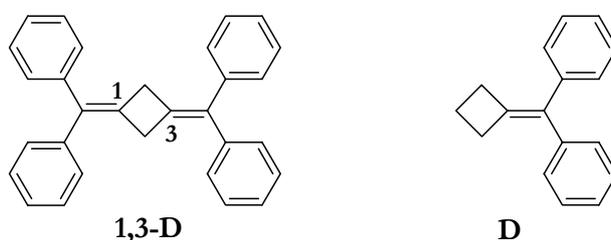


Figure 96 Structures du 1,3-bis-diphénylméthylèncyclobutane (**1,3-D**) et du diphénylméthylèncyclobutane¹⁹⁷ (**D**).

L'apparition d'épaulements dans le spectre d'absorption UV-visible de **1,3-D**, qu'on ne voit pas dans celui de **D**, a été utilisée pour invoquer une interaction électronique type 1,3- π entre les deux groupements diphénylméthylène dans **1,3-D**.¹⁹⁸

Cette étude a traité le cas de deux systèmes reliés entre eux. Traitons maintenant l'effet du couplage excitonique dans le cas d'un agrégat, où les molécules ne sont plus liées entre elles par une liaison chimique. Pour mieux comprendre ce phénomène, nous présentons dans la **Figure 97**, le diagramme donné par Kasha qui présente les différents niveaux d'énergie du dimère et du monomère correspondant.¹⁹⁹

¹⁹⁴ Nicoud, J. -F., Serbutoviez, C., Barrans, Y., Chasseau, D., Gautier-Luneau, I., Ledoux, I., Zyss, J., *Nonlinear Optics*, **1995**, 9, 127-141.

¹⁹⁵ Sitha, S., Rao, J. L., Bhanuprakash, K., Choudary, B. M., *J. Phys. Chem. A*, **2001**, 105, 8727-8733.

¹⁹⁶ Griffin, G. W., Velturo, A. F., *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 5183.

¹⁹⁷ Graham, S. H., Williams, A. J. S., *J. Chem. Soc.*, **1959**, 4066.

¹⁹⁸ Caserio, F. F., Jr., Parker, S. H., Piccolini, R., Roberts, J. D., *J. Am. Chem. Soc.*; **1958**, 80, 5507.

¹⁹⁹ McRae, E. G., Kasha, M., *J. Chem. Phys.*, **1958**, 28, 721.

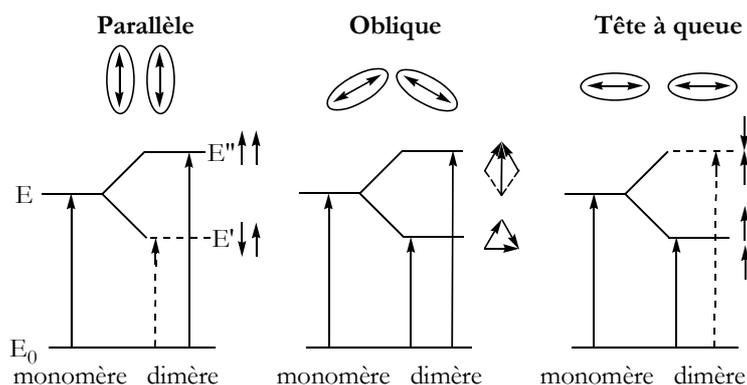


Figure 97 Représentations des niveaux d'énergie d'un dimère et le monomère correspondant dans trois positions différentes des moments dipolaire de transition.

Quand deux dipôles sont placés côte à côte, leurs orientations relatives (parallèle ou antiparallèle) produisent deux effets différents : L'énergie d'une molécule individuelle, E , se divise en deux nouveaux états d'énergies E' et E'' . Les dipôles parallèles se repoussent l'un l'autre et gagnent le niveau le plus énergétique (E''), ainsi que les dipôles antiparallèles s'attirent en occupant le niveau de faible énergie (E'). Les dipôles parallèles augmentent le moment de transition ce qui entraîne une plus forte absorption, alors que les dipôles antiparallèles s'annulent et par conséquent l'absorption devient faible. Le résultat d'un tel phénomène est un déplacement du spectre d'absorption du dimère vers le bleu par rapport à celui du monomère. Dans le cas où les molécules se mettent tête à queue, le niveau de faible énergie possède le moment de transition élevé, ce qui entraîne une faible absorption, donc un déplacement vers le rouge du spectre d'absorption. Finalement, l'orientation intermédiaire, oblique, entraîne l'apparition de deux bandes dans le spectre d'absorption qui correspondent aux deux niveaux d'énergie E' et E'' . L'indication du couplage excitonique dans ce modèle est la valeur constante du déplacement de Stoke, où le déplacement se fait au niveau du spectre d'absorption comme pour le spectre d'émission.²⁰⁰ Cette approximation dipôle-dipôle, ne prend pas en considération un recouvrement orbitalaire et suppose que les chromophores (monomères) sont bien séparés (cas des agrégats, avec plusieurs molécules différentes).

Une autre étude effectuée par Bardeen *et al.* a montré que les dendrimères de phénylacétylène (PA), qui sont faiblement couplés à l'état fondamental à cause de leur géométrie, peuvent devenir fortement couplés à l'état excité.²⁰¹ Cet effet résulte du fait que les deux systèmes conjugués acétyléniques sont reliés entre eux d'une façon covalente, ce qui a induit un déplacement de Stoke positif, où le déplacement n'a été remarqué qu'au niveau du spectre d'émission. En effet, les

²⁰⁰ Kasha, M., Rawls, H. R., El-Bayoumi, M. A., *Pure Appl. Chem.*, **1965**, 11, 371-392.

²⁰¹ Gaab, K. M., Thompson, A. L., Xu, J., Martinez, T. J., Bardeen, C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 9288-9289.

énergies d'interactions entre deux dipôles dépendent de la distance R qui les sépare et de l'angle θ entre eux. Pour le modèle de Kasha par exemple, les interactions entre les deux monomères du dimère sont nulles pour un angle $\theta=54,7^\circ$ (l'angle magique).²⁰²

Par ailleurs, l'étude théorique des propriétés d'absorption à deux photons, effectuée par Andraud *et al.*, a montré qu'un dimère faiblement conjugué, constitué de deux monomères reliés par un pont pseudo-conjugué, possède une section efficace d'ADP élevée résultant d'un couplage excitonique entre ces monomères.²⁰³ Le dimère utilisé (D- π -A- π -D) est constitué de deux groupements donneurs (D) reliés à un groupement accepteur (A) par un système conjugué (π). Le monomère quant à lui est sous la forme de D- π -A (**Figure 98**).

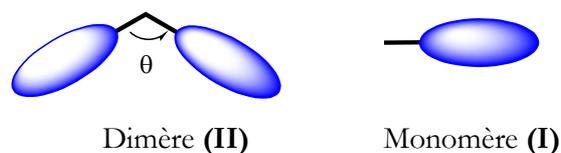


Figure 98 Schéma montrant l'angle θ entre deux monomères dans le dimère

L'accepteur A est un groupement carbonyle, donc la délocalisation peut être stoppée à ce stade, comme a été expliqué auparavant pour le dérivé chalcone (**Figure 95**). Les moments de transitions du dimère $\mu_{ij}(\mathbf{II})$ sont définis en fonction de ceux du monomère parent $\mu_{ij}(\mathbf{I})$ suivant l'équation :

$$\mu_{ij}(\mathbf{II}) = \sqrt{2} \cos\theta \mu_{ij}(\mathbf{I}) \quad \text{équation-1}$$

où l'angle θ est relié à la géométrie du dimère (**II**). Notons que la section efficace d'ADP (σ_2) est proportionnelle au second ordre d'hyperpolarisabilité (γ) qui est aussi proportionnelle au moment de transition μ_{ij} . L'angle θ affecte donc, d'une façon indirecte la valeur de σ_2 dans un système pseudo-conjugué. Dans un tel modèle, pour un angle $\theta=90^\circ$ ($\cos\theta=0$) les interactions entre les deux monomères du dimère sont nulles, alors qu'elles sont maximale pour un angle $\theta=180^\circ$ ($\cos\theta=1$).

Dans notre cas, nous proposons d'étudier ces phénomènes (interactions électroniques et couplage excitonique) où les deux systèmes conjugués (monomères) sont reliés par un système pseudo-conjugué, d'où la justification de notre choix des trois cœurs.

²⁰² Pope, M., Swenberg, C. E., *Electronic Processes in Organic Crystals*, (Oxford University Press, New York, 1982).

²⁰³ Martineau, C., Lemerrier, G., Andraud, C., *Optical Materials*, 2002, 21, 555-557.

I.B. THERAPIE PAR CAPTURE DE NEUTRONS PAR LE BORE (BNCT)

Une thérapie idéale pour le cancer est celle qui détruit sélectivement toutes les cellules tumorales sans endommager les tissus sains. La plupart des cellules cancéreuses doivent être détruites par le traitement, avec l'aide du système immunitaire du corps humain. Bien que les traitements standards d'aujourd'hui comme la chirurgie, la thérapie radiologique et la chimiothérapie soient efficaces sur plusieurs types des cancers, d'autres tumeurs résistent à ce genre de traitements.^{204,205} Ce problème a amené beaucoup de scientifiques à chercher des méthodes plus sélectives de destruction des tumeurs malignes*, d'où le développement d'une approche comme la « Thérapie par Capture de Neutrons » (NCT), qui est considérée comme une nouvelle thérapie des cancers avec une efficacité prometteuse. La NCT est basée sur le fait que certain nucléides, radioactifs ou non-radioactifs, où leur noyaux possèdent la capacité d'absorber un neutron d'énergie plus faible que celle nécessaire pour ioniser un tissu (0,025 eV).²⁰⁶ Une liste des nucléides à forte section efficace de capture des neutrons est présentée dans le **Tableau 8**.²⁰⁷

Tableau 8 Valeurs des section efficaces de capture de neutrons pour différents nucléides.

Nucléides	Section efficace de capture ^a	Nucléides	Section efficace de capture ^a
⁶ Li	942	¹⁵¹ Eu	5800
¹⁰ B	3838	¹⁵⁵ Gd	61000
²² Na ^b	32000	¹⁵⁷ Gd	255000
⁵⁸ Co ^b	1900	¹⁶⁴ Dy	1800
¹¹³ Co	19800	¹⁸⁴ Os	3000
¹²⁶ Ib	6000	¹⁹⁹ Hg	2000
¹³⁵ Xe ^b	2600000	²³⁰ Pa ^b	1500
¹⁴⁸ Pm ^b	10600	²³⁵ U ^b	580
¹⁴⁹ Sm	42000	²⁴¹ Pu ^b	1010

^a La section efficace de capture est mesuré en barns (1 barn=10⁻²⁴ cm²).
^b Élément radioactif

Ces valeurs sont de deux ordres de grandeurs supérieures à celles des atomes se trouvant dans une cellule humaine. Par exemple, les deux atomes susceptibles de capturer des neutrons les plus répandus dans les cellules sont l'hydrogène et l'azote, avec une section efficace de capture de neutrons de 0,332 et 1,82 barns respectivement.²⁰⁷ Un facteur important dans l'utilisation de ces éléments est le chemin de radiations des particules émises après sa fission. Les particules émises doivent avoir des longueurs de chemin de l'ordre du diamètre du corps cellulaire (environ 12 µm),

²⁰⁴ Sano, K., *Neurosurg. Rev.*, **1986**, 9, 13.

²⁰⁵ Kornblith, P. L., Walker, M., *J. Neurosurg.*, **1988**, 66, 1.

* **Tumeur maligne** : Tumeur constituée de cellules cancéreuses qui peuvent se détacher et former des tumeurs secondaires ailleurs dans l'organisme.

²⁰⁶ Locher, G. L., *Am. J. Roentgenol.* **1936**, 36, 632.

²⁰⁷ Friedlander, G., Kennedy, J. W., Macias, E. S., Miller, J. M., *In Nuclear and Radiochemistry*, 3rd ed.; John Wiley & Sons: New York, **1981**; p 610.

ce qui limite théoriquement l'endommagement des cellules saines au voisinage du rayonnement, ceci a limité l'utilisation des éléments non-radioactifs dans la NCT. Récemment l'uranium 235 (^{235}U) a été utilisé en NCT.^{208,209} Cependant, en général, les composés à base d'uranium sont toxiques (protoporphyrine d'uranyle) et leur teneur en uranium n'est pas suffisante (phtalocyanine tétrasulfonate d'uranyle).²⁰⁹ Ainsi, le lithium 6 (^6Li) est efficace en capture des neutrons,²¹⁰ le seul inconvénient étant qu'il n'est pas stable en milieu biologique.²¹¹ Le gadolinium 157 (^{157}Gd) possède une section efficace très élevée, estimée à 66 fois celle du bore 10 (^{10}B).^{212,213} L'inconvénient de l'utilisation de cet élément dérive du fait que les radiations émises sont faibles.²¹⁴ Des chercheurs ont proposé de combiner l'utilisation du ^{157}Gd et du ^{10}B en même temps, mais le problème était de trouver des composés sélectifs qui s'accumulent seulement dans les cellules malignes.²¹⁴

Le ^{10}B est un élément non-radioactif et facilement disponible, il constitue approximativement 20% du bore naturel. Lorsqu'il est irradié par un faisceau de neutrons (^1n) à basse énergie, il émet des particules à haute énergie d'une efficacité biologique locale élevée (particules α et ions ^7Li , **Figure 99**).

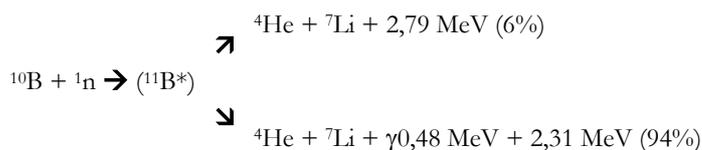


Figure 99 Equation de la capture d'un neutron par un noyau de bore 10.

L'avantage majeur du bore 10 par rapport aux éléments cités dans le **Tableau 8** est la facilité de l'incorporer dans une multitude de structures chimiques différentes grâce aux liaisons stables avec différents éléments comme le carbone, l'oxygène, l'azote,... Grâce à sa faible masse atomique et les liaisons covalentes solides du bore avec différents hétéroatomes, on trouve différents clusters avec une stabilité métabolique remarquable comme le carborane. Tous ces résultats importants qui datent d'environ 70 ans, ont conduit à une nouvelle thérapie appelée la Thérapie par Capture de Neutrons par le bore (BNCT).^{215,216}

²⁰⁸ Knock, F. E., *Surg. Gynecol. Obstet.*, **1959**, 109, 445.

²⁰⁹ Bases, R. E., *Science*, **1957**, 126, 164.

²¹⁰ Zahl, P. A., Cooper, F. S., Dunning, J. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1940**, 26, 589.

²¹¹ Zahl, P. A., Cooper, F. S., *Radiology*, **1941**, 37, 673.

²¹² Martin, R. F., D'Cunha, G., Pardee, M., Allen, B. J., *Int. J. Radiat. Biol.*, **1988**, 54, 205.

²¹³ Culbertson, C. N., Jevremovic, T., *Phys. Med. Biol.*, **2003**, 48, 3943–3959.

²¹⁴ Nemoto, H., Cai, J., Yamamoto, Y., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 539.

²¹⁵ Locher, G.L., *Am. J. Roentgenol. Radium Ther.*, **1936**, 36, 1-13.

²¹⁶ Barth, R.F., Solloway, A.H., Fairchild, R.G., *Cancer Res.*, **1990**, 50, 1061-1070.

Comme cela a été mentionné auparavant, l'hydrogène et l'azote étant présents dans les cellules malignes comme dans les cellules saines, peuvent nuire à une telle méthode. Donc il faudra utiliser le bore en forte concentration dans les tissus. Des études expérimentales ont montré que 10^9 atomes de bore par cellule sont nécessaires, et dans ces conditions 85% des radiations émises proviennent du bore.²¹⁷ Un schéma du mécanisme d'action de la BNCT dans une cellule est présenté dans la **Figure 100**.

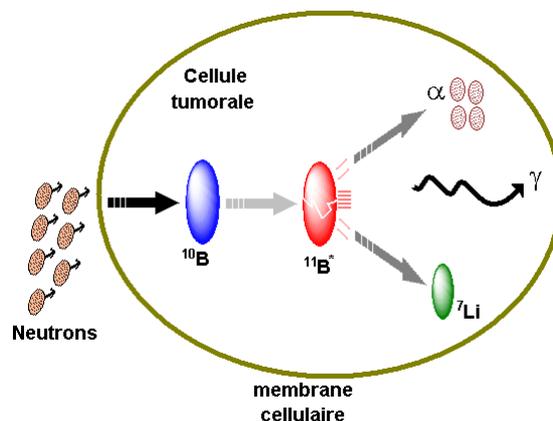


Figure 100 Schéma du mécanisme de la thérapie par capture de neutrons par le bore 10.

Pour les applications cliniques de la BNCT, l'absorption sélective du médicament contenant le bore 10 permettra un ciblage précis des tumeurs et offrira une possibilité thérapeutique nouvelle pour améliorer la survie et la qualité de vie des personnes atteintes de cancers. Ce traitement s'effectue en deux phases: 1°) Injection intraveineuse d'un composé chimique capable de s'accumuler dans un tissu tumoral et contenant des atomes de bore 10.²¹⁸ 2°) Irradiation de la zone tumorale au moyen d'un faisceau de neutrons qui activent le bore 10, permettant une destruction des cellules cancéreuses, tout en ayant un impact plus faible sur les cellules saines voisines.

Finalement, bien que le nombre d'atomes de bore par molécule doive être important (comme dans le cas du *p*-carborane), cela n'empêche pas de tenter l'utilisation de composés contenant un petit nombre de bore (pyrazabole et cyclodiborazane) mais qui seront capables de s'accumuler en forte concentration dans la cellule.

²¹⁷ Tolpin, E. I., Wellum, G. R., Dohan, F. C., Jr., Kornblith, P. L., Zamenhof, R. G., *Oncology*, **1975**, 32, 223.

²¹⁸ Archanbeau, A.O., Alcober, V., Calvo, W.G., Brenneis, H., *In: Biological effects of Neutron and Proton irradiations*, **1964**, 2, 55-70, Vienna: International Atomic Energy Agency.

I.C. PROPRIÉTÉS DES CŒURS CHOISIS

I.C.1. LE PYRAZABOLE

Le pyrazabole, contenant deux atomes de bore tétravalent, est connu comme une nouvelle classe d'hétérocycles à base de bore. Il a été synthétisé pour la première fois en 1967.²¹⁹ Depuis cette date, de nombreux composés contenant le motif pyrazabole ont été synthétisés. Les dérivés de pyrazabole sont très stables ce qui permet la substitution de différents groupements fonctionnels. La structure et les propriétés des dérivés de pyrazabole ne sont pas complètement connues. La **Figure 101** montre les trois conformations possibles du noyau pyrazabole (plat, bateau et chaise) selon le type de substitution sur l'atome de bore.^{220,221}

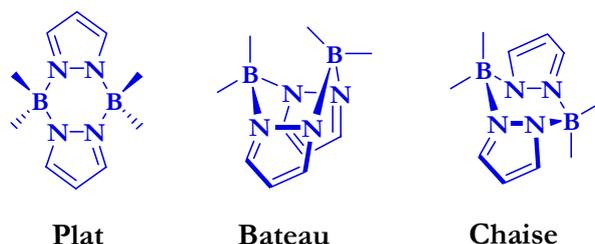


Figure 101 Les trois conformations possibles du pyrazabole

Le motif pyrazabole a été utilisé dans plusieurs types de matériaux : comme pont pour des composés *ansa*-ferrocènes,²²² comme brique de base pour des cristaux liquides discotiques,²²³ pour des applications supramoléculaires,²²⁴ et dans la synthèse de polymères contenant du bore.²²¹ Le pont en bore tétravalent du pyrazabole (la longueur de la liaison B-N est égale à 1,554 Å) est un faible transmetteur d'effet électronique, ce qui fait que les interactions électroniques entre les orbitales π des deux pyrazoles du pyrazabole sont faibles.²²⁵ D'où notre choix d'un tel cœur pseudo-conjugué.

I.C.2. LE CYCLODIBORAZANE

En 1962, Hawthorne a rapporté la réaction entre un borane et divers nitriles qui conduit à la formation de dérivés iminoborane, dont le cyclodiborazane fait partie.²²⁶ 30 ans après, Chujo *et al* ont décrit la synthèse d'une série de polymères électroluminescents contenant des motifs

²¹⁹ Trofimenko, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 3165.

²²⁰ Barberà, J., Giménez, R., Serrano, J. L., *Chem. Mater.*, **2000**, 12, 481-489.

²²¹ Matsumoto, F., Chujo, Y., *Macromolecules*, **2003**, 36, 5516-5519.

²²² Jäkle, F., Priermeier, T., Wagner, M., *Organometallics*, **1996**, 15, 2033-2040.

²²³ Barberà, J., Giménez, R., Serrano, J. L., *Adv. Mater.*, **1994**, 6, 470.

²²⁴ Jäkle, F., Priermeier, T., Wagner, M., *Organometallics*, **1996**, 15, 2033.

²²⁵ Novak, I., Kovač, B., *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, **2001**, 113, 175-177.

²²⁶ Hawthorne, M. F., *Tetrahedron*, **1962**, 17, 112.

cyclodiborazane, par la méthode de polymérisation ou condensation par hydroboration.²²⁷ Ensuite, ces mêmes auteurs ont rapporté plusieurs séries de copolymères du type donneur-accepteur électroluminescents, synthétisés à partir d'un dérivé de cyclodiborazane comme comonomère.^{228,229,230,231,232}

Comme cela a été expliqué auparavant, les études rapportées sur le 1,3-bis-diphénylméthylèncyclobutane par Griffin *et al.* en 1961, ont montré un nouveau type d'interaction de type 1,3- π .^{196,233} Le cyclodiborazane peut être considéré comme l'analogue hétéro-atomique du 1,3-diméthylèncyclobutane (c'est à dire deux atomes de bore et deux atomes d'azote à la place de quatre atomes de carbone, **Figure 102**), où différents substituants peuvent être attachés, soit sur l'atome de bore, soit sur le carbone doublement lié avec l'azote (C=N).

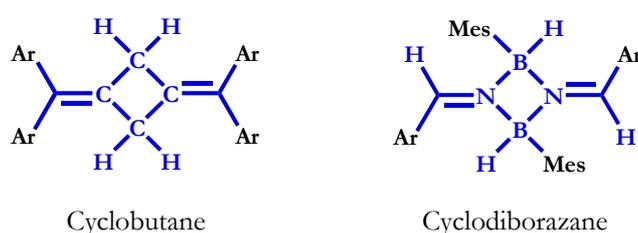


Figure 102 Structure d'un dérivé de diméthylèncyclobutane substitué en positions 1 et 3

Les groupes mésityles peuvent être en position *cis* ou *trans* l'un par rapport à l'autre ; de même les groupements aromatiques peuvent être *syn* ou *anti*. Selon les positions de ces substitutions, on peut distinguer quatre configurations possibles pour les cyclodiborazanes substitués : *cis-syn*, *trans-syn*, *cis-anti* et *trans-anti*.^{226,227} Ces différentes configurations sont présentées dans la **Figure 103**.

²²⁷ Chujo, Y., Tomita, I., Murata, N., Mauermann, H., Takeo, S., *Macromolecules*, **1992**, 25, 27-32.

²²⁸ Matsumoto, F., Chujo, Y., *Journal of Organometallic Chemistry*, **2003**, 680, 27-30.

²²⁹ Miyata, M., Matsumi, N., Chujo, Y., *Macromolecules*, **2001**, 34, 7331-7335.

²³⁰ Naka, K., Umeyama, T., Chujo, Y., *Macromolecules*, **2000**, 33, 7467-7470.

²³¹ Naka, K., Umeyama, T., Chujo, Y., *Macromolecules*, **2000**, 33, 3956-3957.

²³² Matsumi, N., Naka, K., Chujo, Y., *Macromolecules*, **1998**, 31, 8047-8050.

²³³ Simonetta, M., Carra, S., *Tet. Lett.*, **1965**, 14, 913-919.

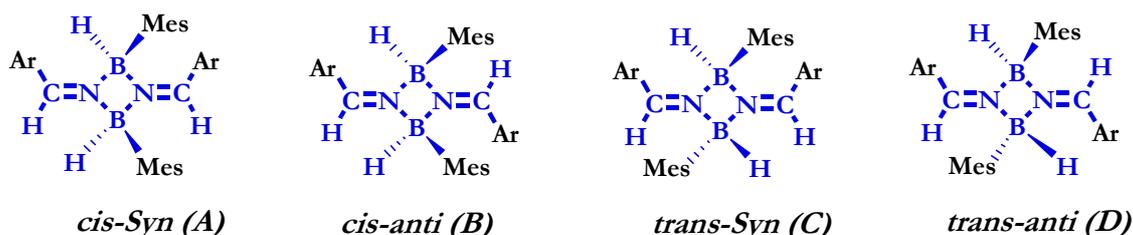


Figure 103 Les quatre configurations possibles du cyclodiborazane (Mes=Mésityle et Ar=Phényle).

A notre connaissance aucun des ces quatre stéréoisomères n'a été isolé pur auparavant. Nous présenterons dans la partie « caractérisation » des résultats montrant que nous avons isolé pour la première fois un stéréoisomère *trans-anti* pur, dont la structure cristallographique sera présentée.

I.C.3. LE *p*-CARBORANE

Comme tous les composés contenant du bore, les carboranes sont polyédriques. Ils peuvent être classés en différentes catégories (*closo*-, *nido*-, *arachno*-, *hypo*-,...) en se basant sur le fait qu'ils peuvent être un polyèdre complet (*closo*-), ou un polyèdre moins un atome (*nido*-), ou moins deux atomes (*arachno*-), ... Les carboranes connus sous le nom d'« icosahedral *closo*-carborane », ceux qui ont un noyau constitué de $C_2B_{10}H_{12}$, sont de nature organique, ainsi leur incorporation dans divers substrats organiques ou biochimiques est une méthode bien développée pour synthétiser des polymères et des composés permettant des applications médicales (BNCT,...).^{234,235,236,237,238} La plupart de ces études ont été effectuées avec le 1,2- $C_2B_{10}H_{12}$ (*ortho*), et pas avec ses isomères correspondants le 1,7- $C_2B_{10}H_{12}$ (*méta*) et le 1,12- $C_2B_{10}H_{12}$ (*para*, **Figure 104**). Récemment, beaucoup d'études ont été réalisées sur les deux derniers à cause de leur forte stabilité et une résistance à la dégradation en milieu basique.^{239,240,241,242}

²³⁴ Bregadze, V. I., *Chem. Rev.*, **1992**, 92, 209.

²³⁵ Nakamura, H., Aoyagi, K., Singaram, B., Cai, J., Nemoto, H., Yamamoto, Y., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1997**, 36, 367.

²³⁶ Cai, J., Nemoto, H., Singaram, B., Yamamoto, Y., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 3383.

²³⁷ Cai, J., Nemoto, H., Nakamura, H., Singaram, B.; Yamamoto, Y., *Chem. Lett.*, **1996**, 9, 791.

²³⁸ Nemoto, H., Rong, F.-G., Yamamoto, Y. J., *Org. Chem.*, **1990**, 55, 6065.

²³⁹ Drechsel, K., Lee, C. S., Leung, E. W., Kane, R. R., Hawthorne, M. F., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 34, 6217.

²⁴⁰ Gill, R. W., Herbertson, J. A., MacBride, J. A. H., Wade, K., *J. Organomet. Chem.*, **1996**, 507, 249.

²⁴¹ Tjarks, W., Ghaneolhosseini, H., Henssen, C. L. A.; Malmquist, J., Sjöberg, S., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 6905.

²⁴² Kahl, S. B., Kasar, R. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 1223.

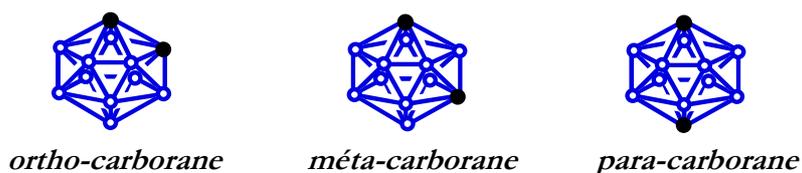


Figure 104 Les trois configurations possibles du carborane : *ortho*, *méta* et *para*. (● = atome de carbone, et ○ = atome de bore).

L'isomère *ortho*-carborane peut être obtenu par réaction entre différents dérivés acétyléniques et des adduits nitriles ou sulfures de décaborane ($B_{10}H_{14}$, **Schéma 20**).²³⁴ Les substituants hydrophiles sur le dérivé acétylénique utilisé sont indésirables, car ils risquent de perturber la séquence synthétique pour l'obtention de l'*ortho*-carborane, en dégradant le décaborane. Les rendements sont fréquemment situés entre 20 et 60%. Du point de vue moléculaire, le motif carborane a approximativement la taille d'un noyau benzénique. C'est une sorte de benzène tridimensionnel.²⁴³

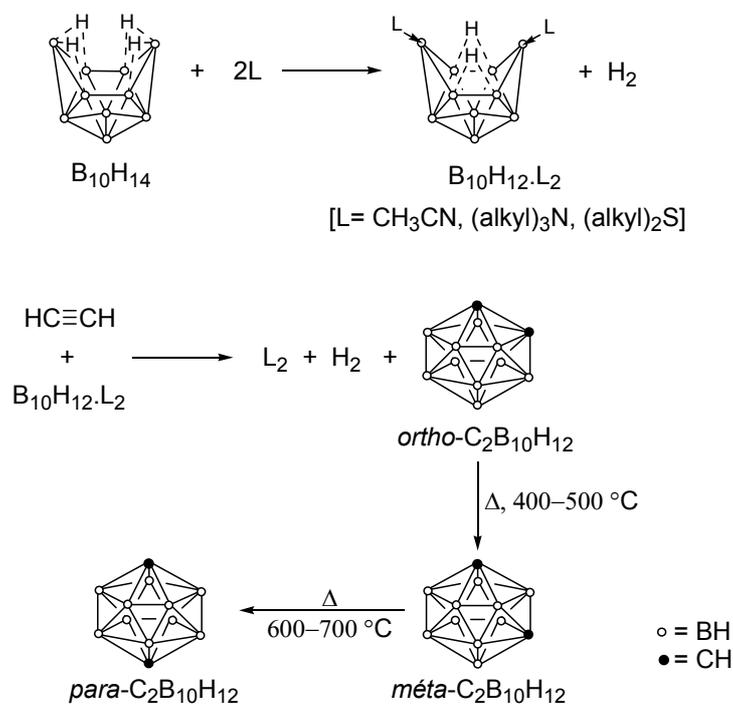


Schéma 20 Préparation de divers carboranes.

Les isomères *méta* et *para*-carborane peuvent être préparés à partir de l'*ortho*-carborane par un réarrangement à haute température.²⁴⁴ Donc pour obtenir des isomères *méta* et *para* substitués il

²⁴³ Sauerwein, W., Hideghe'ty, K., Gabel, D., Moss, R. L., *Nucl. News*, **1998**, 2, 41, 54.

²⁴⁴ Grimes, R. N., *Carboranes*; Academic Press: New York, **1970**.

faut que les groupes fonctionnels présents sur les isomères *ortho* substitués résistent à haute température.

Nous avons choisi de préparer des dérivés de *para*-carborane dans notre étude, pour étudier en premier lieu des chromophores unidimensionnels (1D). D'autre part quelques publications l'ont décrit comme un transmetteur d'effet électronique, au sein de chromophores pour l'optique non-linéaire.²⁴⁵ Ainsi Spencer *et al*, ont montré qu'un système constitué d'un donneur et un accepteur reliés par un *para*-carborane au centre, possède une hyperpolarisabilité quadratique β de l'ordre de 682×10^{-30} esu,²⁴⁶ ce qui permet d'envisager qu'un tel système pourrait avoir une hyperpolarisabilité cubique γ élevée. De même une étude portant sur les effets non-linéaires d'un fullerène-carborane a révélé que pour le système contenant un *para*-carborane la valeur de β (de l'ordre de 1189×10^{-30} esu) est beaucoup plus importante que celle obtenue par les systèmes dérivés de l'*ortho*- et le *méta*-carborane.²⁴⁷

Finalement, il reste à signaler que le carborane est un groupement extrêmement hydrophobe. Cette propriété physiologique du carborane pourrait être mise à profit dans le domaine des médicaments, puisque les produits lipophiles sont connus pour pouvoir franchir la barrière hémato-encéphalique (BHE).²⁴⁸

I.D. CONCLUSION

Après cette introduction, nous nous trouvons devant un large programme de travail en ingénierie moléculaire de nouveaux chromophores ADP à cœurs originaux. Ces chromophores pourront être utilisés soit pour étudier les interactions électroniques entre deux systèmes conjugués, soit pour des applications bio-médicales comme la BNCT parce qu'ils contiennent tous des atomes de bore, ou l'élaboration des colorants solubles dans l'eau capables de franchir la BHE, en addition avec le chromophore symétrique **14** étudié dans la première partie.

²⁴⁵ Fox, M. A., MacBride, J. A. H., Peace, R. J., Wade, K., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1998**, 401-411.

²⁴⁶ Allis, D. G., Spencer, J. T., *Inorg. Chem.*, **2001**, 40, 3373-3380.

²⁴⁷ Lamrani, M., Hamasaki, R., Mitsuishi, M., Miyashita, T., Yamamoto, Y., *Chem. Commun.*, **2000**, 1595-1596.

²⁴⁸ Soloway, A. H., Tjarks, W., Barnum, B. A., Rong, F. -G., Barth, R. F., Codogni, I. M., Wilson, J. G., *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1515-1562.

II. SYNTHÈSE DES CHROMOPHORES

Nous avons sélectionné plusieurs types de cœurs plus ou moins conjugués contenant du bore, dans le but d'étudier les interactions électroniques entre deux systèmes conjugués au travers de ces cœurs. Pour élargir cette étude, nous avons aussi étudié l'effet de la force du donneur sur de tels systèmes. Pour ce faire, nous avons préparé différents groupes donneurs placés aux extrémités des systèmes conjugués. Cette partie sera divisée en trois sous-parties :

- ❑ Préparation des synthons périphériques.
- ❑ Synthèses des cœurs centraux.
- ❑ Synthèse des molécules finales.

II.A. PRÉPARATION DES SYNTHONS PÉRIPHÉRIQUES

Les groupes à effet mésomère donneur sont nombreux. Ils comportent au minimum un doublet non-apparié situé dans une orbitale p qui peut se disposer parallèlement aux autres orbitales p du reste du système conjugué. Nous avons sélectionné trois types de groupes donneurs. Ce sont des groupes alkoxy, des groupes azotés diphenylamino ou bien des dérivés de BODIPY. Dans les parties qui suivent nous allons présenter la synthèse de ces différentes briques conjuguées à effet donneur.

II.A.1. GROUPEMENT ELECTRO-DONNEUR TRIALKOXY

Les longues chaînes alkoxy (surtout la chaîne dodécyloxy) sont très utilisées en chimie des matériaux organiques parce que cela apporte la solubilité de la molécule dans une large variété de solvants organiques. De plus par l'oxygène généralement fixé sur le système conjugué, cela conduit à un groupe modérément donneur, et peu sensible à l'acidité contrairement par exemple aux groupes donneurs dialkylamino. Des chromophores absorbant multiphotoniques portant des groupes électrodonneurs alkoxy aux extrémités du système conjugué ont été préparés au sein du laboratoire il y a quelques années.²⁴⁹ On a étudié en particulier l'effet de la position et du nombre de chaînes dodécyloxy sur le groupement phényle sur l'absorption à trois photons conduisant à la limitation optique. Le dérivé contenant trois chaînes dodécyloxy en positions 3, 4 et 5 sur chacun des groupements phényles s'est révélé le plus efficace.

²⁴⁹ Gehringer, L., Nicoud, J.-F., Masson, P., "Ingénierie moléculaire de bis-stilbènes efficaces en absorption multiphotonique : application à la limitation optique" *Rapport stage de DEA*, **2000**, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

De plus, la possibilité de remplacer ces chaînes par des chaînes oligo-éthylène glycol, comme cela a été montré dans le chapitre II, offre une motivation spéciale pour l'utilisation de ces composés, afin de fournir à ces molécules une compatibilité biologique (solubilité dans l'eau).

Dans cette partie, nous allons présenter la synthèse de différentes briques moléculaires conjuguées plus ou moins longues, et se terminant par un phényle trisubstitué en position 3,4,5 par une longue chaîne dodécyloxy. Nous avons également synthétisé l'analogue du synthon **73**, en remplaçant les chaînes dodécyloxy par des chaînes tri-éthylèneglycol (composé **82**). Ces différentes briques moléculaires sont présentées dans le **Schéma 21**.

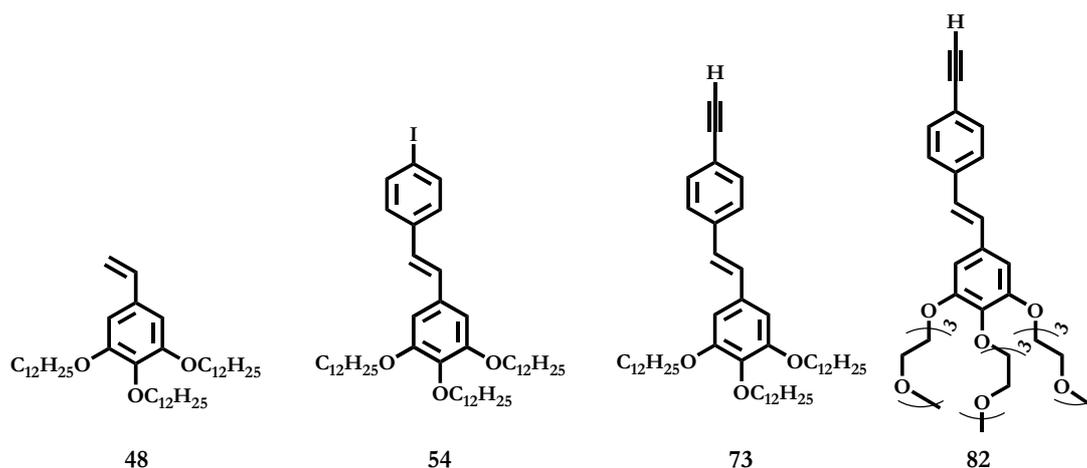


Schéma 21 Les quatre briques élémentaires portant des longues chaînes alkoxy : **48**, **54**, **73**, et **82**.

Le 3,4,5-tridodécylstyrène **48** a été synthétisé suivant la méthode employée pour synthétiser les benzaldéhydes substitués par des chaînes oligo-éthylène glycol **4** présentés dans le chapitre II. On utilise le 1-bromododécane commercial à la place des tosylates d'oligo-éthylène glycol **1**. Partant du 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle commercial (le gallate de méthyle), la première étape consiste à alkyler les trois fonctions hydroxy par une réaction de Williamson. L'ester **45** ainsi obtenu est réduit en alcool **46** par action de LiAlH₄ puis oxydé dans des conditions douces par l'oxyde de manganèse MnO₂ en aldéhyde **47**. Le composé **47** ainsi obtenu est transformé en styrène correspondant **48** par réaction de Wittig à partir du bromure de méthyltriphénylphosphonium. Le schéma de synthèse du styrène **48** est décrit dans le **Schéma 22**.

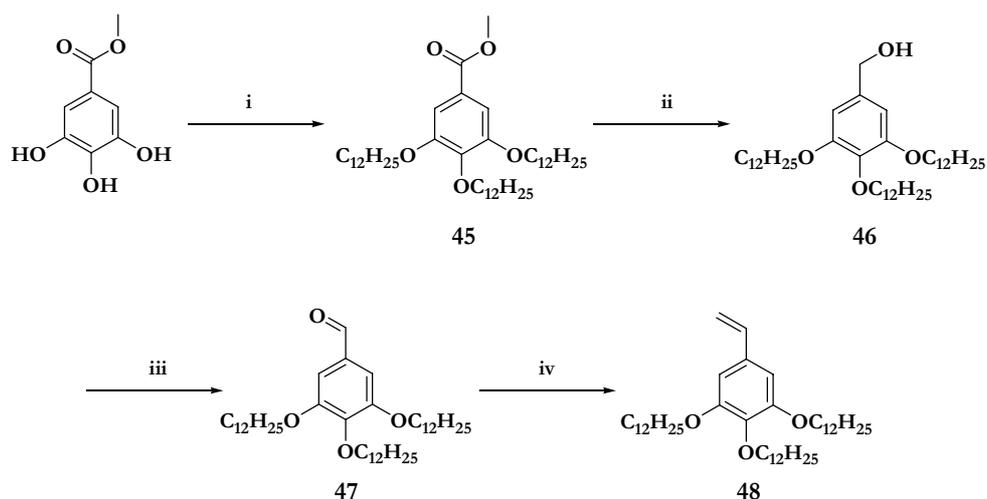


Schéma 22 Synthèse du 3,4,5-tris-dodécyloxybenzaldéhyde **47** et du styrène correspondant **48**.

(i) $C_{12}H_{25}Br$, DMF, K_2CO_3 , $80^\circ C$, 48h, 81%, (ii) $LiAlH_4$, THF, r.t., 12h, 99%, (iii) MnO_2 , CH_2Cl_2 , r.t., 12h, 99%, (iv) Ph_3PCH_3Br , $t-BuOK$, THF, r.t., 12h, 71%.

Le iodostilbène **54** a été synthétisé par un couplage de Wadsworth-Emmons, entre l'aldéhyde **47** et le phosphonate **16** (décrit dans le chapitre II) avec un bon rendement (**Schéma 23**).

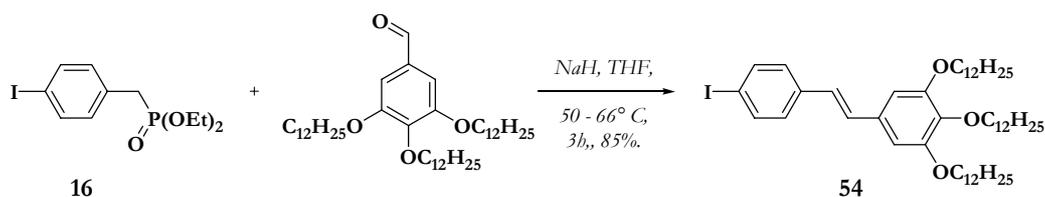


Schéma 23 Synthèse du tris-dodécyloxystilbène iodé **54**.

La brique conjuguée **73** à terminaison éthylnyle est synthétisée en deux étapes à partir de **54**. Le composé **72** a d'abord été préparé par un couplage de Sonogashira entre l'iodostilbène **54** obtenu précédemment et le chlorure de triméthylsilylacétylène commercial, en présence de bis-triphénylphosphine palladium et d'iodure cuivreux CuI . Le rendement pour le composé **72** a été amélioré en plaçant le mélange réactionnel sous ultrasons pendant une demi-heure.²⁵⁰

La chimie en utilisant les ultrasons est connue sous le nom de sonochimie, et très souvent l'utilisation d'ultrasons accélère la réaction.²⁵¹ Les ultrasons génèrent des cavités acoustiques dans un liquide entraînant des conditions de température et de pression extrêmes. L'énergie élevée

²⁵⁰ Ulrich, G., Ziessel, R., *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 2070-2083.

²⁵¹ Gholap, A. R., Venkatesan, K., Pasricha, R., Daniel, T., Lahoti, R. J., Srinivasan, K. V., *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 4869-4872

produite dans ces conditions peut briser et former des liaisons chimiques entre les différentes molécules présentes dans le mélange réactionnel.²⁵²

La déprotection du composé **72** par le bromure de tétrabutylammonium (TBAF) donne l'alcyne terminal **73** avec un rendement quasi quantitatif. Cette méthode de synthèse est décrite dans le **Schéma 24**.

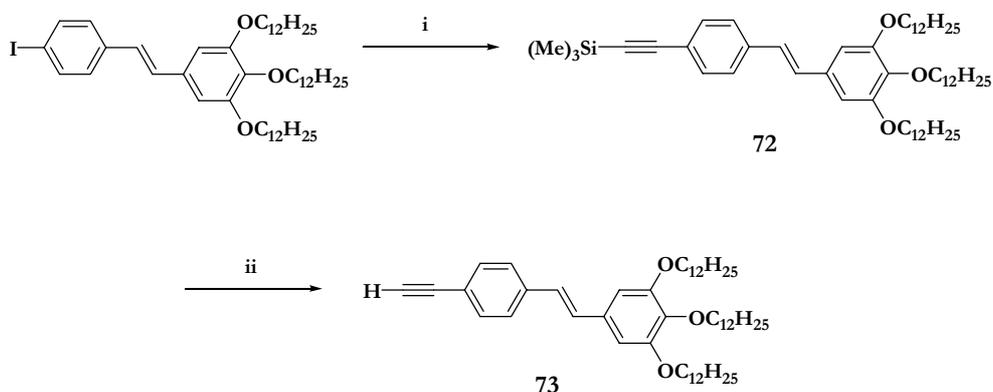


Schéma 24 Synthèse du tris-dodécyloxystilbène à terminaison éthyne **73**.

(i) TMSCl, Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, THF/*i*-Pr₂NH, 30 mn à l'ultrasons, r.t., 12h, 82%, (ii) TBAF, THF, r.t., 15 mn, 98%.

L'analogue oligoéthylène glycol (OEG) de l'éthynylstilbène **73**, brique élémentaire **82**, a été synthétisé en trois étapes. On synthétise d'abord les composés **80** et **81**, analogues des composés **54** et **72** respectivement, contenant des chaînes OEG à la place des alkoxy. Le composé **80** a été préparé par un couplage de Wadsworth-Emmons entre le phosphonate **16** et le benzaldéhyde comportant trois chaînes tri-éthylène glycol **4a**, dont la synthèse est décrite dans le chapitre II. La transformation du composé **80** en alcyne protégé se fait par couplage de Sonogashira avec le chlorure de triméthylsilylacétylène dans les mêmes conditions que celles utilisées pour la synthèse du composé **72**. Cette synthèse est présentée dans le **Schéma 25**.

²⁵² Mason, T. J., *Chemical Society Reviews*, **1997**, 26, 443-451.

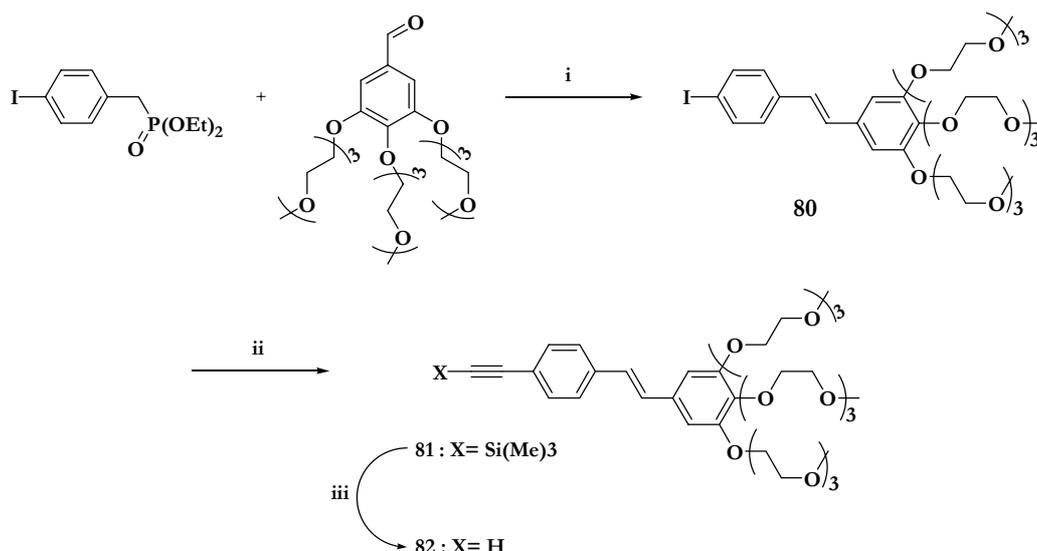


Schéma 25 Synthèse du dérivé éthyne de tri-éthylène glycol stilbène **82**.

(i) NaH, THF, 50 - 66° C, 3h, 76%. (ii) TMSCl, Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, THF/*i*-Pr₂NH, 30 mn à l'ultrasons, r.t., 12h, 85%, (iii) TBAF, THF, r.t., 1h, 98%.

Notons que ces composés ont été synthétisés en grandes quantités. Une stratégie similaire sera suivie pour synthétiser les différentes briques élémentaires portant des groupes électrodonneurs azotés.

II.A.2. GROUPEMENT ELECTRO-DONNEUR AZOTES

Les groupes électrodonneurs contenant de l'azote sont couramment utilisés pour préparer des chromophores ADP,²⁵³ des matériaux supramoléculaires à fonctions électroactives,²⁵⁴ pour des applications en transfert des électrons,²⁵⁵ et en industrie des imprimantes laser.²⁵⁴ En se basant sur ces résultats, nous avons sélectionné un groupe donneur azoté parmi les plus simples, à savoir le groupe diphénylamino Ph₂N-, d'un côté parce qu'il est connu pour être un bon donneur d'électrons et que son dérivé benzaldéhyde (le 4-diphénylaminobenzaldéhyde) est commercial. A partir de ce produit, nous avons synthétisé les différentes briques élémentaires azotées incorporées dans les systèmes conjugués **56**, **58** et **70** et représentés dans la **Figure 105**.

²⁵³ Mongin, O., Porrès, L., Moreaux, L., Mertz, J., Blanchard-Desce, M., *Org. Lett.*, **2002**, 4, 719-722.

²⁵⁴ Tew, G. N., Pralle, M. U., Stupp, S. I., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, No. 3, 517-521.

²⁵⁵ Strehmel, B., Amthor, S., Schelter, J., Lambert, C., *ChemPhysChem*, **2005**, 6, 893-896.

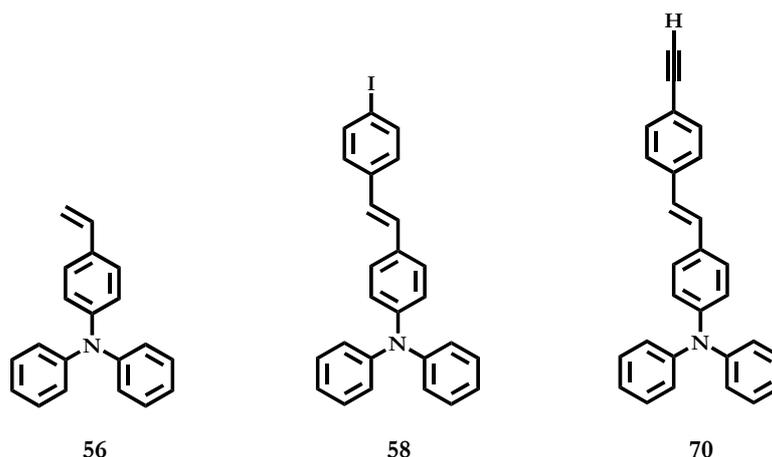


Figure 105 Les trois briques élémentaires à donneurs azotés **56**, **58** et **70**.

La transformation du 4-diphénylaminobenzaldéhyde en son dérivé styrénique **56** a été réalisée par une réaction de Wittig (**Schéma 26**), en le traitant avec du bromure de méthyltriphenylphosphonium en milieu alcalin (*t*-BuOK). Nous avons observé que ce dérivé de benzaldéhyde est moins réactif que celui contenant des chaînes dodécyloxy ; en effet il nécessite un temps de réaction plus long (48 heures), les autres paramètres restant identiques.

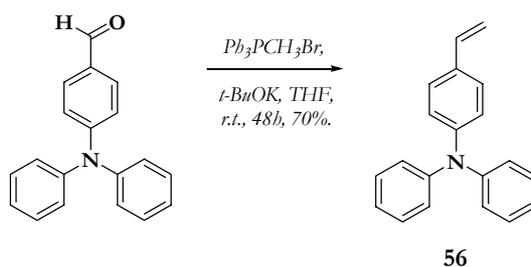


Schéma 26 Synthèse du 4-diphénylaminostyrène **56**.

Le couplage de type Wadsworth-Emmons entre le phosphonate **16** et le 4-diphénylaminobenzaldéhyde commercial a abouti à la formation du dérivé stilbénique **58** avec un bon rendement (85%) (**Schéma 27**).

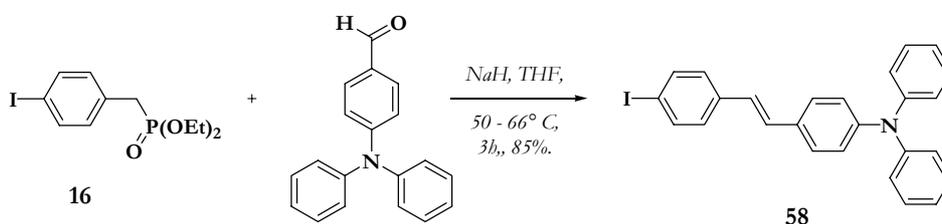


Schéma 27 Synthèse du diphénylaminostilbène iodé **58**.

Le composé **70** est l'analogue du composé **73** mais portant un donneur azoté diphénylamino au lieu des trois alkoxy. Ce composé a été synthétisé à partir de l'iodostilbène **58**. On prépare

d'abord l'alcyne protégé **69** par un couplage de Sonogashira avec le chlorure de triméthylsilylacétylène dans les mêmes conditions que pour la formation du composé **72**. La déprotection de l'alcyne est effectuée par action de TBAF dans le THF pour donner le stilbène **70** portant la fonction alcyne vrai. (Schéma 28).

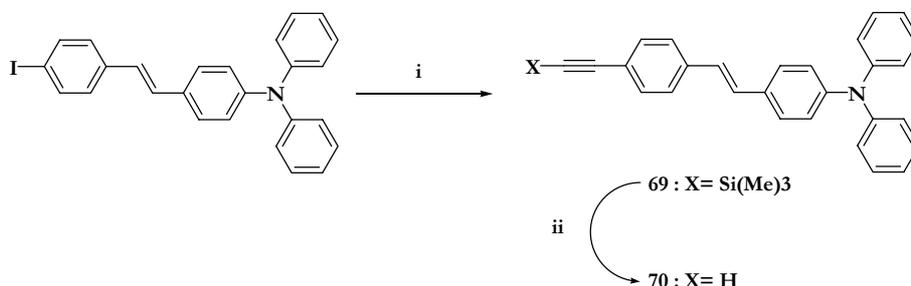


Schéma 28 Synthèse du diphenylaminostilbène à terminaison alcyne vrai **70**.

(i) TMSCl , $\text{Pd(PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, CuI , $\text{THF}/i\text{-Pr}_2\text{NH}$, 30 mn à l'ultrasons, r.t., 12h, 90%, (ii) TBAF, THF, r.t., 1h, 80%.

Les synthèses de ces stilbènes à groupes donneurs azotés, ayant des structures analogues à ceux portant des groupes alkoxy, ont permis d'étudier l'effet de la force du donneur sur l'efficacité du chromophore en absorption à deux photons. Passons maintenant à la synthèse du dernier type de briques élémentaires à groupes électrodonneurs, les systèmes conjugués à terminaison BODIPY.

II.A.3. GROUPEMENT ELECTRO-DONNEUR BORO-DIPYRROMETHENE

Les chromophores contenant un groupe BODIPY (acronyme du nom anglais BOron-DIPYrromethene) sont utilisés comme sondes fluorescentes dans plusieurs applications telles que la détection de cations,^{256,257} comme agents de dosimétries,²⁵⁸ en imagerie de cellules vivantes,²⁵⁹ et dans le TPEF-based fluoroimmunoassays.²⁶⁰ Ces différentes sondes sont caractérisées par le pouvoir électrodonneur du BODIPY, et elles n'étaient pas préparées initialement pour des applications en microscopie à deux photons. Récemment des chromophores multidimensionnels contenant des groupes BODIPY, ayant une section efficace d'absorption à deux photons modérée ont été décrits.²⁶¹ Ce groupe est intéressant, d'un autre point de vue, car il contient du bore et il convient pour notre objectif de préparer des chromophores ADP présentant une autre

²⁵⁶ Goze, C., Ulrich, G., Charbonnière, L., Cesario, M., Prangé, T., Ziessel, R., *Chem. Eur. J.*, **2003**, 9, 3748-3755.

²⁵⁷ Cha, N.R., Moon, S.Y., Chang, S. -K., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 8265-8268.

²⁵⁸ Coskun, A., Akkaya, E.U., *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4947-4949.

²⁵⁹ Reents, R., Wagner, M., Kuhlmann, J., Waldmann, H., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2004**, 43, 2711-2714.

²⁶⁰ Meltola, N.J., Soini, A.E., Hänninen, P.E., *J. Fluoresc.*, **2004**, 14, 129-138.

²⁶¹ Porrès, L., Mongin, O., Blanchard-Desce, M., *Tetrahedron Letters*, **2006**, 47, 1913-1917.

propriété potentielle, comme la BNCT. Dans ce but nous avons préparé un chromophore qui contient des atomes de bore au centre et aux extrémités. Nous avons préparé le dérivé éthylnyle du BODIPY **62** (Figure 106).

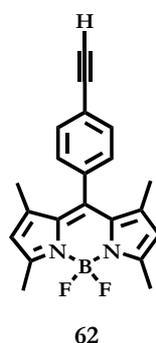


Figure 106 Brique élémentaire conjuguée éthylnyl-BODIPY **62**.

La synthèse du composé **62** s'effectue en trois étapes. La première consiste à préparer le dérivé 4-iodoBODIPY **60**, en faisant réagir dans un premier temps le chlorure de *p*-iodobenzoyl commercial avec le 2,4-diméthylpyrrole dans le chlorure de méthylène à chaud. Le produit intermédiaire ainsi formé réagit, dans un second temps, avec l'éthérate de trifluorure de bore $\text{Et}_2\text{O}\cdot\text{BF}_3$ dans la triéthylamine, pour donner le produit **60**. Le schéma de synthèse est illustré dans le Schéma 29.

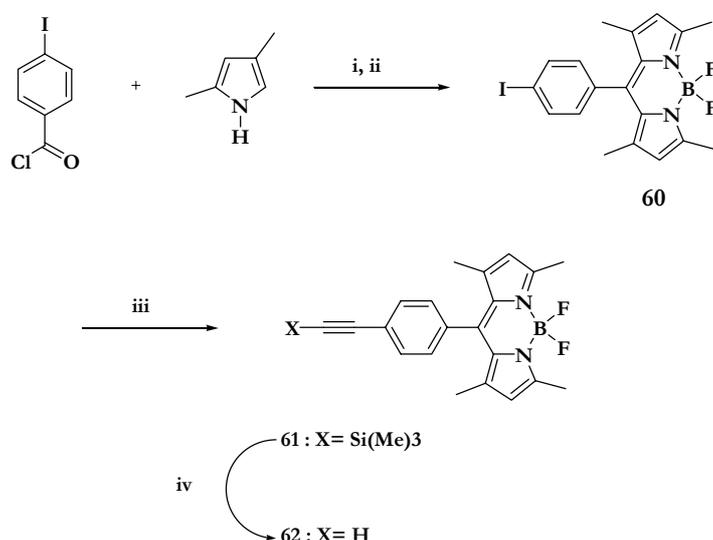


Schéma 29 Synthèse de l'éthylnyl-BODIPY **62**.

(*i*) CH_2Cl_2 , 50 °C, 2h, (*ii*) Et_3N , Toluène/ CH_2Cl_2 , r.t., 30 mn, $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, 50 °C, 1,5 h, 36%, (*iii*) TMSCl , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, CuI , THF/*i*- Pr_2NH , 30 mn sous ultrasons, r.t., 12h, 90%, (*iv*) TBAF , THF, r.t., 15 mn, 90%.

Le composé **60** a été transformé en son dérivé alcyne protégé **61** par un couplage de type Sonogashira avec le chlorure de triméthylsilylacétylène dans les mêmes conditions que pour la

formation du composé **72**. L'étape délicate de cette synthèse est la déprotection du dérivé alcyne protégé du BODIPY **61**, qui n'est pas stable face à des traitements prolongés avec l'ion fluorure du TBAF,²⁶² pour cela il ne faut pas laisser le produit en contact avec le TBAF plus que 15 minutes. Il existe une autre méthode de déprotection de l'alcyne d'un dérivé BODIPY sans prendre aucun risque, en utilisant le fluorure de potassium dans un mélange hétérogène constitué d'eau, méthanol et dichlorométhane. Cette méthode prend un temps beaucoup plus long que celle utilise le TBAF, parce qu'il faut laisser réagir le mélange pendant un jour à température ambiante.²⁵⁰

II.A.4. CONCLUSION

Les trois types de groupes électrodonneurs choisis pour leur incorporation dans différents systèmes conjugués plus ou moins long, vont nous permettre de comparer l'effet de la force du groupe donneur ainsi que la taille du système conjugué sur le couplage excitonique. Ces différentes briques fonctionnalisées (dérivés styréniques, dérivés éthynyliques, dérivés halogénés, etc.), ont permis différents types de couplages (Heck, Sonogashira, etc.) sur les différents cœurs centraux pour avoir de liaisons double ou triple.

II.B. SYNTHÈSE DES CŒURS CENTRAUX

Nous avons choisi trois types de cœurs centraux plus ou moins conjugués, selon le type des liaisons entre les différents atomes qu'ils contiennent. Un critère commun entre ces trois cœurs est l'existence de l'atome de bore dans leurs squelettes. Le nombre d'atome de bore se différencie d'un cœur à un autre. Dans le cas des dérivés de pyrazabole et cyclodiborazane, le cœur contient deux atomes de bore, alors que le dérivé du carborane contient dix atomes de bore. Dans les paragraphes qui suivent, nous allons présenter la synthèse de différents cœurs ainsi que celle de leurs dérivés.

II.B.1. CŒUR PYRAZABOLE

Nous avons synthétisé trois dérivés de pyrazabole fonctionnels, afin d'être capables de réaliser un couplage entre le cœur central et les différentes briques périphériques synthétisées dans le paragraphe II.A. Nous avons préparé les trois dérivés du pyrazabole **49**, **50** et **53** représentés dans la **Figure 107**.

²⁶² Wan, C. -W., Burghart, A., Chen, J., Bergstöm, F., Johansson, L. B. -A., Wolford, M. F., Kim, T. G., Topp, M. R., Hochstrasser, R. M., Burgess, K., *Chem. Eur. J.*, **2003**, 9, 4430-4441.

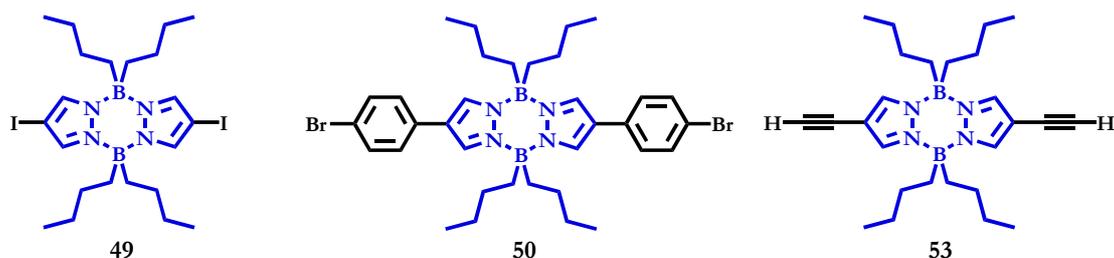


Figure 107 Les trois dérivés de pyrazabole utilisés **49**, **50** et **53**.

Le composé **49** a été synthétisé par condensation à chaud dans le xylène entre le 4-iodopyrazole et le tributylborane avec 70% de rendement (**Schéma 30**). Ce dérivé de pyrazabole nous a permis de réaliser un couplage de Sonogashira avec les différentes briques conjuguées à terminaison éthylnyle.

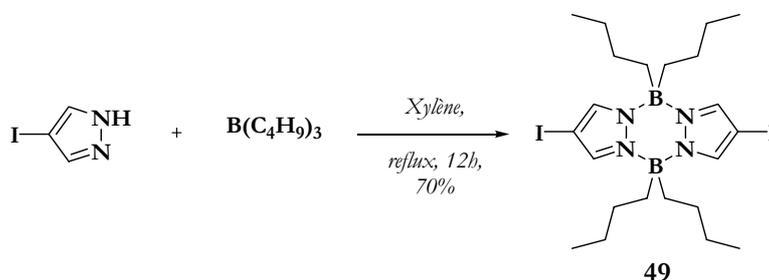


Schéma 30 Synthèse du cœur diiodopyrazabole **49**.

Nous avons tenté de réaliser un couplage de Heck entre le composé diiodé **49** et les deux dérivés styréniques **48** et **56**, mais les essais ont échoué. Ceci peut être dû à la faible réactivité du groupement iodé porté par le pyrazabole vis-à-vis d'un tel couplage, qui n'a jamais été décrit dans la littérature. Pour éviter cela nous avons décidé de rajouter au pyrazabole, un groupement phényle portant un halogène en position para, afin de tester un couplage de Heck sur cet halogène.

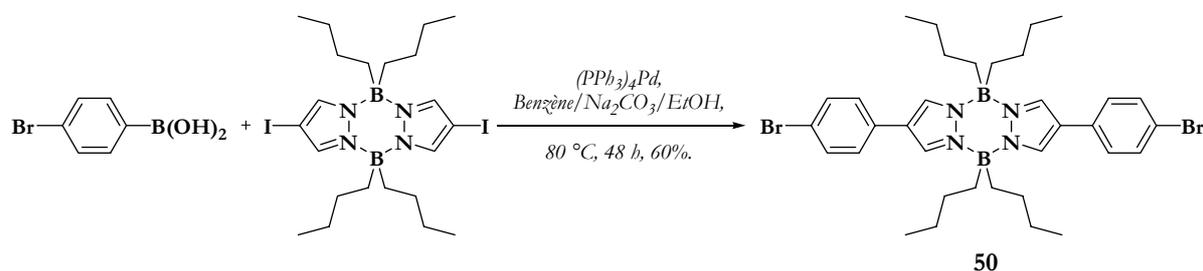


Schéma 31 Synthèse du dérivé bis-4-bromophénylpyrazabole **50**.

Dans ce but, nous avons tenté un couplage de type Suzuki entre le composé **49** et l'acide 4-bromophényle boronique commercial en présence de tétrakis(triphénylphosphine) Palladium (0),

nous avons obtenu le composé **50** en bon rendement (**Schéma 31**). Ce composé nous a permis de réaliser différents couplages de type Heck avec les différents dérivés styréniques de groupes électrodonneurs décrit dans le paragraphe II.A.

Nous voulions tester une autre méthode d'obtention des chromophores par couplage de Sonogashira, pour ce faire, nous avons préparé le composé **53**, dont les fonctions éthylnes sont directement greffées sur le pyrazabole. La synthèse de ce composé est décrite dans la littérature pour préparer des polymères de grande masse moléculaire contenant du bore. Ce composé a été obtenu en deux étapes. Par un couplage de Sonogashira entre le composé **49** et le chlorure de triméthylsilylacétylène commercial en présence de chlorure de bis-triphénylphosphine palladium et d'iodure de cuivre nous avons obtenu le composé **52** contenant la fonction alcyne protégé. La déprotection de cette fonction s'est faite par l'action du fluorure de tétrabutylammonium dans le THF pour donner le composé **53** avec excellent rendement(**Schéma 32**).

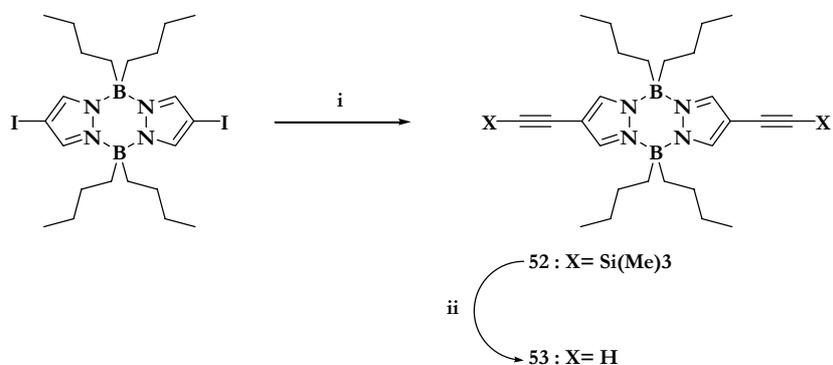


Schéma 32 Synthèse du dérivé éthylnyle du pyrazabole **53**.

(i) TMSCl , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, CuI , $\text{THF}/\text{Et}_2\text{NH}$, 60°C , 48h , 90% , (ii) TBAF , THF , *r.t.*, 15mn , 90% .

Ces différents dérivés du pyrazabole nous ont permis d'étudier l'effet de la longueur de conjugaison sur les propriétés photophysiques linéaires et non linéaires des chromophores à cœur pyrazabole. Passons maintenant à l'étude d'un autre type de cœurs contenant du bore : le cyclodiborazane.

II.B.2. CŒUR CYCLODIBORAZANE

La réaction de Sonogashira sur un dérivé du cyclodiborazane contenant une fonction halogène a été rapportée par Chujo pour synthétiser des polymères contenant une triple liaison reliée à un dérivé de cyclodiborazane pour augmenter la conjugaison du polymère.²⁶³ En se basant

²⁶³ Matsumi, N., Chujo, Y., *Macromolecules*, **2000**, *33*, 8146-8148.

sur ces résultats, nous avons envisagé d'obtenir le chromophore final par un couplage type Sonogashira entre les différents dérivés éthyliques de groupes électrodonneurs obtenus dans le paragraphe II.A et le dérivé de dibromocyclodiborazane **66** décrit par Chujo (**Figure 108**).²⁶³

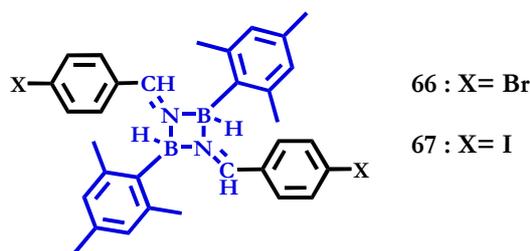


Figure 108 Les deux dérivés du cyclodiborazane utilisés.

Nous avons tenté un couplage de Sonogashira entre le composé **66** et le dérivé éthylyle **73**, l'essai a échoué. Généralement, les composés contenant du bore retardent les couplages catalysés par le nickel ou le palladium,²⁶³ mais au vu des résultats obtenus par Chujo,²⁶³ la réalisation d'un tel couplage reste possible. Pour augmenter la réactivité de ce cœur, nous avons remplacé l'atome de brome porté par le groupement phényle par l'atome d'iode, ce qui n'a jamais été cité dans la littérature. Les différents couplages de Sonogashira réalisés avec ce dérivé iodé ont été effectués avec succès. Comme il a été mentionné auparavant, la formation d'un dérivé de cyclodiborazane s'effectue par une condensation entre le mésitylborane et différents dérivés nitriles. Le mésitylborane a été synthétisé en suivant la méthode décrite dans la littérature.^{264,265,266} Le schéma de synthèse est illustré dans le **Schéma 33**.

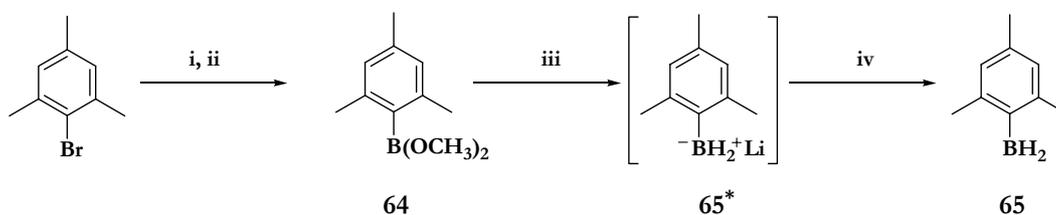


Schéma 33 Synthèse du mésitylborane **65**.

(i) Mg/I_2 , THF, reflux, 3h, (ii) $B(OCH_3)_3 \cdot Et_2O$, $-15\text{ }^\circ\text{C}$, 3h, r.t., 12h, 51%, (iii) $LiAlH_4$, $Et_2O/Pentane$, 0°-r.t. , 3h, (iv) $TMSCl$, 3h, r.t., 70%.

A partir de 2-bromomesitylène commercial, dans le THF à chaud, nous avons formé dans un premier temps le dérivé organomagnésien intermédiaire non isolé, qu'on fait réagir avec le

²⁶⁴ Matsumi, N., Chujo, Y., *Polym. Bull.*, **1997**, 38, 531-536.

²⁶⁵ Chujo, Y., Tomita, I., Saegusa, T., *Polym. Bull.*, **1991**, 26, 165.

²⁶⁶ Smith, K., Pelter, A., Jin, Z., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 851.

triméthylborane dans l'éther à -15° C pour donner le diméthoxymésitylborane **64**. La formation du composé **65** s'effectue en deux étapes. La première étape consiste à réduire le composé **64** par l'action de l'hydrure mixte de lithium et d'aluminium pour former le produit intermédiaire **65***. En présence de chlorure de triméthylsilyle, nous obtenons le mésitylborane **65** avec un rendement de 70%. Le composé **65** est instable en contact avec l'air, il a été utilisé *in-situ* directement après sa préparation.

Le schéma de synthèse des composés **66** et **67** est illustré dans le **Schéma 34**. Le mésitylborane **65** préparé précédemment est condensé, sous atmosphère inerte, avec le 4-bromobenzonitrile et le 4-iodobenzonitrile pour donner respectivement les dérivés de cyclodiborazane **66** et **67**.²⁶³

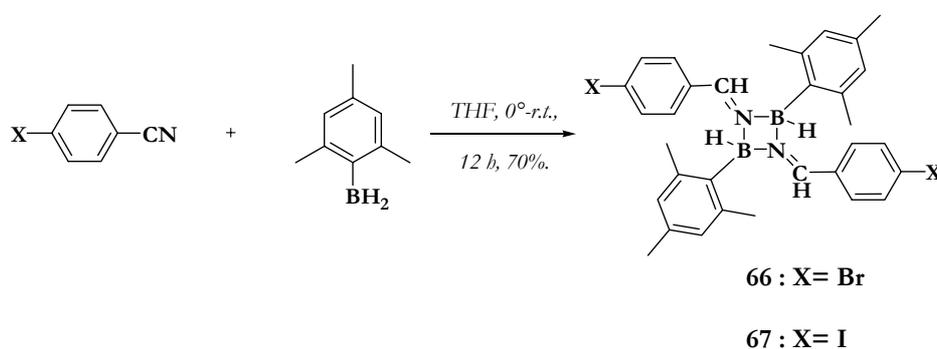


Schéma 34 Synthèse des dérivés cyclodiborazane **66** et **67**.

Il est important de noter que dans le cas du dibromocyclodiborazane **66**, nous avons séparé deux isomères différents, ce qui était impossible avec le diiodocyclodiborazane **67**. Ces deux isomères ont servi à étudier en détail les spectres ¹H et ¹³C-RMN des différents isomères de ces dérivés.

II.B.3. CŒUR *p*-CARBORANE

La chimie du carborane est actuellement en plein essors, depuis la disponibilité d'une large gamme de produits qui ont été préparés à partir des ses dérivés lithiens. En suivant cette méthode il est possible de substituer sur les deux atomes de carbone ou sur un seul, une fonction aldéhyde,²⁶⁷ une triple liaison,²⁶⁸ un groupement phénol,^{269,245} un groupement aniline,²⁴⁵ etc. En se basant sur ces différentes possibilités, nous avons choisi de synthétiser le dérivé de carborane représenté dans la **Figure 109**.

²⁶⁷ Dozzo, P., Kasar, R. A., Khal, S. B., *Inorg. Chem.*, **2005**, 44, 8053-8057.

²⁶⁸ Jude, H., Disteldorf, H., Fischer, S., Wedge, T., Hawkrigde, A. M., Arif, A. M., Hawthorne, M. F., Muddiman, D. C., Stang, P. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 12131-12139.

²⁶⁹ Endo, Y., Yoshimi, T., Miyaura, C., *Pure Appl. Chem.*, **2003**, 75, No. 9, 1197-1205.

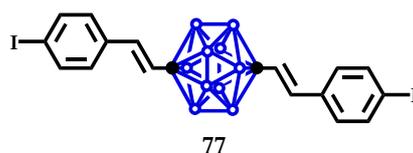


Figure 109 Structure chimique du dérivé de *p*-carborane utilisé.

Pour ce faire, nous avons substitué le *para*-carborane par deux fonctions aldéhyde sur les deux atomes de carbone pour pouvoir réaliser un couplage de type Wadsworth-Emmons, afin de former une double liaison liée directement au *p*-carborane. Nous avons suivi le protocole rapporté par Kahl *et al.* pour synthétiser le dérivé C,C-diformyl-*p*-carborane **76** (Schéma 35).²⁶⁷

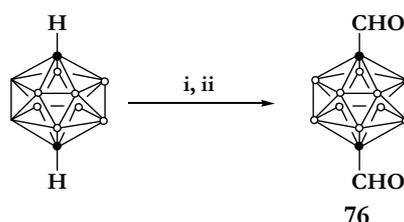


Schéma 35 Synthèse du C,C-diformyl-*p*-carborane **76**.

(i) *n*-BuLi, Et₂O, 0°-r.t., 1,5h ; (ii) HCOOCH₃, r.t., 12h, HCl, 45 %.

Nous avons décidé d'utiliser les différents dérivés éthyliques de groupes électrodonneurs pour préparer les différents chromophores à cœur carborane, nous avons ainsi préparé le composé **77**, qui contient un groupement iodophényle. Le composé **77** a été préparé par couplage de Wadsworth-Emmons entre le dérivé phosphonate **16** et le composé **76** (Schéma 36).

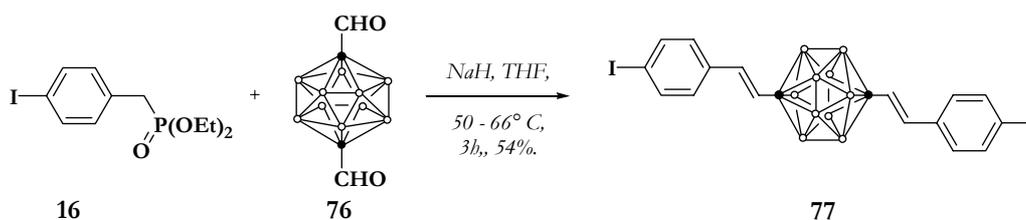


Schéma 36 Synthèse du C,C-bis-4-iodostyryl-*p*-carborane **77**.

Nous avons utilisé l'iodophosphonate **16** pour deux raisons : premièrement pour rallonger le système conjugué en introduisant le motif styrène, et deuxièmement pour introduire un atome d'iode permettant de réaliser des couplages de Sonogashira avec les différents alcynes **73**, **82** et **70** décrits dans le paragraphe II.A éthyliques cités en dessus avec le composé **77**.

Cette stratégie de synthèse nous a permis de préparer plusieurs chromophores à cœur carborane, avec différents types de groupes électrodonneurs.

II.B.4. CONCLUSION

Les trois cœurs utilisés nous ont permis d'obtenir trois séries de chromophores à cœurs différents. Avec leurs dérivés synthétisés, nous avons utilisé la méthode de couplage de Heck et Sonogashira pour élaborer les molécules finales.

II.C. SYNTHES DES MOLECULES FINALES

Nous avons obtenu les différents chromophores finaux en combinant les différents groupes électrodonneurs et les trois cœurs choisis par des réactions de types Heck ou Sonogashira selon la fonctionnalisation attribuée à chaque composé. Au total, nous avons obtenu onze molécules différentes. Selon le type du cœur utilisé, nous distinguons trois types de chromophores.

- Chromophores à cœur pyrazabole.
- Chromophores à cœur cyclodiborazane.
- Chromophores à cœur carborane.

II.C.1. CHROMOPHORES A CŒURS PYRAZABOLE

Pour ce type de chromophores, nous avons étudié l'influence de la longueur du système conjugué sur les propriétés ADP de la molécule en présence du cœur pyrazabole. Nous avons choisi la triple liaison comme rallongement du système conjugué. Pour ce faire, nous avons réalisé la synthèse d'une série de molécules par couplage de Heck et une autre avec un couplage de type Sonogashira.

II.C.1.a. Par couplage de Heck

Parmi les trois dérivés de pyrazabole préparés précédemment, nous avons sélectionné le composé **50** parce qu'il présente des atomes de brome en position *para* sur le groupement phényle attaché au pyrazabole. D'autre part, nous avons sélectionné les dérivés styréniques porteurs de groupes donneurs **48** et **56**. Ces trois briques élémentaires sont représentées dans la **Figure 110**.

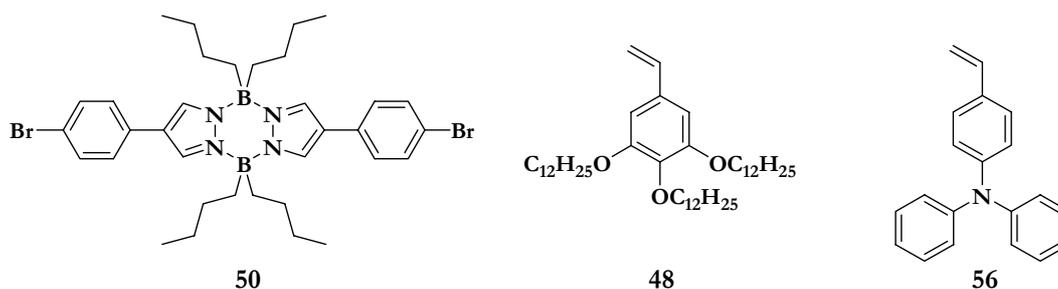


Figure 110 Rappel de la structure chimique du cœur central dérivé de pyrazabole **50** et les deux dérivés styréniques de groupes électrodonneurs **48** et **56**.

En réalisant un couplage de Heck entre le cœur central **50** et les dérivés styréniques **48** et **56**, nous obtenons les chromophores finaux à cœur pyrazabole **51** et **57** respectivement. Les structures de ces deux chromophores sont représentées **Figure 111**. Ces chromophores ont été obtenus purs, mais les rendements sont modestes, autour de 20% seulement

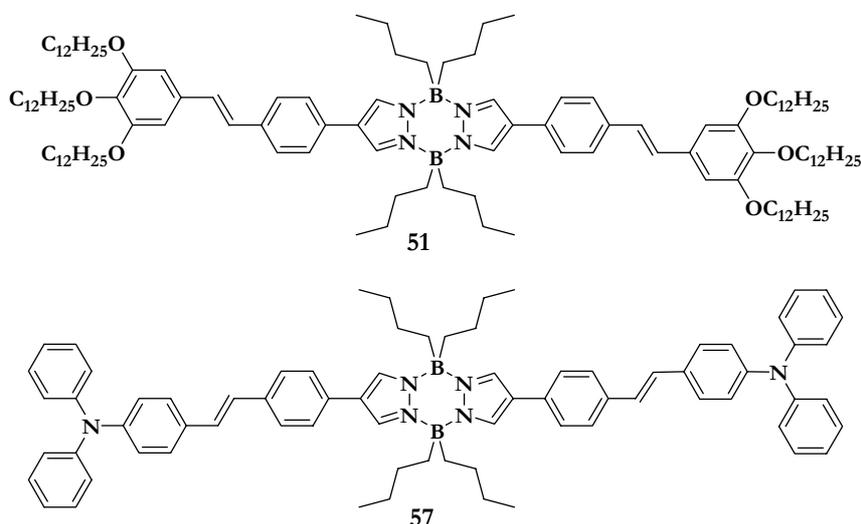


Figure 111 Structure des deux chromophores à cœur pyrazabole **51** et **57**.

Ceci peut être dû à la faible réactivité des bromes portés par le groupement phényle. Rappelons que les tentatives de réaliser un couplage de Heck directement sur le dérivé diiodé du pyrazabole ont échoué.

II.C.1.b. Par couplage de Sonogashira

Nous obtenons les molécules finales par couplage de Sonogashira, soit en utilisant le dérivé bis-éthynyle du pyrazabole **53** avec les dérivés iodés à groupes donneurs **54** et **58**, ou le dérivé diiodopyrazabole **49** avec l'éthynyl-BODIPY **62**. Les structures des dérivés du pyrazabole et des

divers groupes donneurs utilisés sont rappelés dans les **Figure 112** et **Figure 113** respectivement.

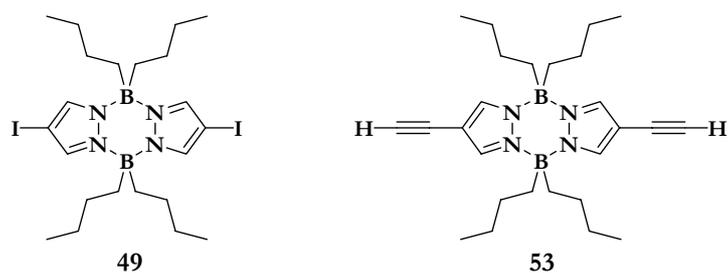


Figure 112 Rappel de la structure de deux dérivés du pyrazabole utilisés **49** et **53**.

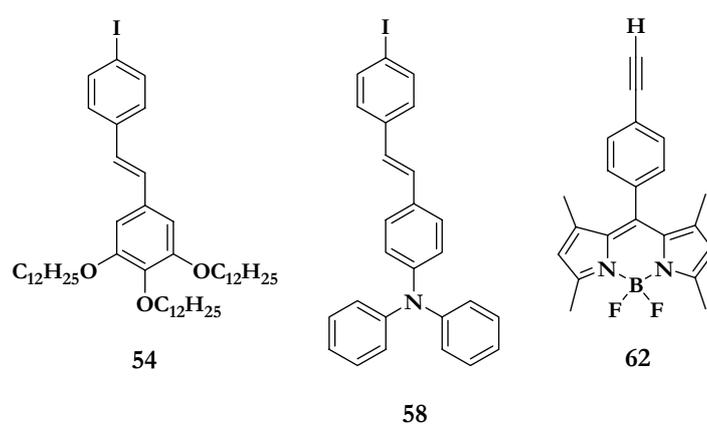


Figure 113 Rappel de la structure de trois électrodonneurs utilisés **54**, **58** et **62**.

Comme il a été mentionné ci-dessus, par couplage de Sonogashira entre le coeur **53** et les deux groupes donneurs **54** et **58**, nous obtenons les deux chromophores **55** et **59** respectivement. De même, nous obtenons le chromophore **63** par couplage de Sonogashira entre le dérivé du pyrazabole **49** et l'éthynyl-BODIPY **62**. Les structures de ces trois chromophores sont représentées **Figure 114**.

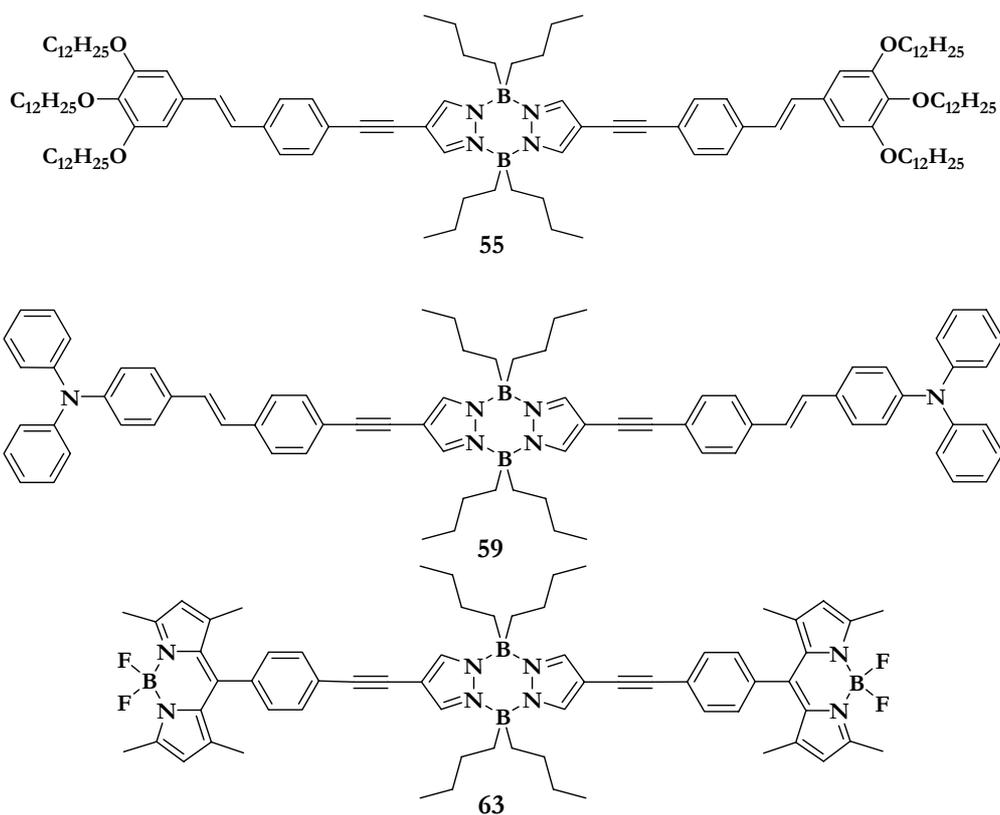


Figure 114 Structures des chromophores **55**, **59** et **63**.

Contrairement aux chromophores obtenus par couplage de Heck, les chromophores obtenus par le couplage de Sonogashira ont été obtenus avec un meilleur rendement (de l'ordre de 50 %).

Ces deux séries de chromophores nous ont permis, d'un côté d'étudier l'influence de la longueur du système conjugué en comparant les chromophores obtenus par couplage de Heck et ceux obtenus par couplage de Sonogashira, et d'un autre côté d'étudier l'influence de la force du groupe donneur sur des chromophores à cœur pyrazabole.

II.C.2. CHROMOPHORES A CŒURS CYCLODIBORAZANE

Pour les composés à cœur cyclodiborazane, nous avons choisi de construire des chromophores à systèmes conjugués longs. Pour cela, nous avons décidé d'utiliser les briques de base à terminaison éthyne **73**, **70** et **62**, pour pouvoir réaliser un couplage de type Sonogashira avec le cœur diiodocyclodiborazane **67** (Figure 115).

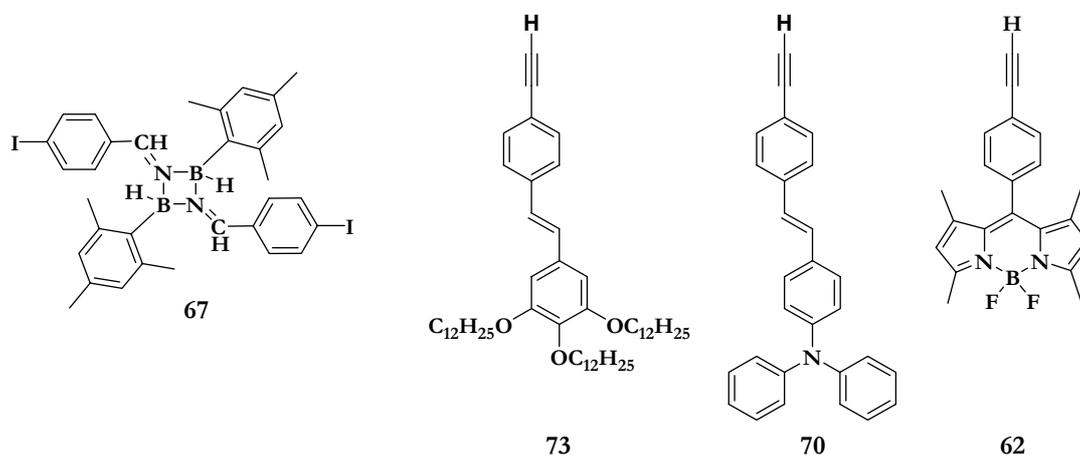
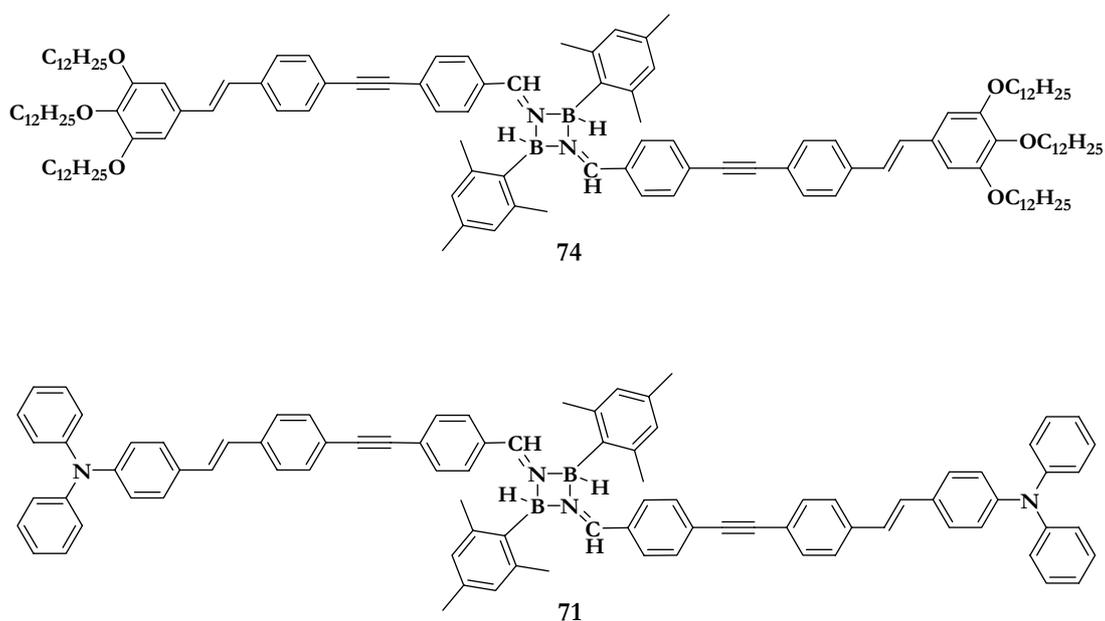


Figure 115 Rappel des structures des composés **67**, **73**, **70** et **62**.

Par un couplage de Sonogashira entre le diiodocyclodiborazane **67** et les briques conjuguées **73**, **70** et **62**, nous obtenons les nouveaux chromophores à cœurs cyclodiborazane **74**, **71** et **68** respectivement. Les structures de ces trois chromophores sont illustrées dans la Figure 116.



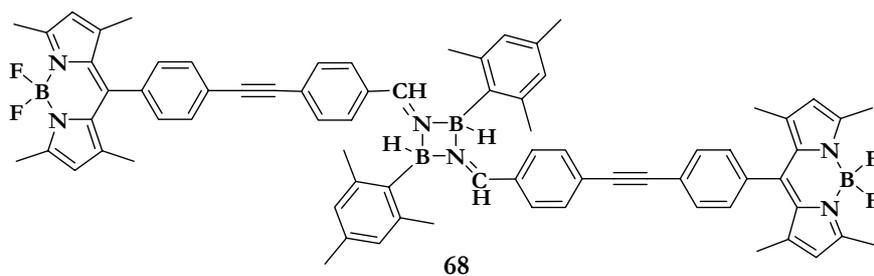


Figure 116 Structure des chromophores à cœur cyclodiborazane **74**, **71** et **68**.

Ces chromophores ont été obtenus avec un rendement de l'ordre de 55 %. Rappelons qu'à cause des différentes configurations possibles du cœur cyclodiborazane, nous avons obtenu un mélange de stéréoisomères pour chaque chromophore. La séparation par une simple colonne chromatographique n'était pas aisée, et seul le chromophore **71**, a pu être séparé en deux stéréoisomères différents, dont l'étude sera détaillée ultérieurement.

II.C.3. CHROMOPHORES A CŒURS *p*-CARBORANE

La même stratégie de synthèse que pour les chromophores à cœur cyclodiborazane a été suivie pour préparer les chromophores à cœur *p*-carborane. Nous avons utilisé aussi pour cette série le système conjugué donneur contenant les chaînes tri-éthylène glycol, pour obtenir un chromophore final ayant une bonne solubilité dans l'eau. Les briques utilisées pour préparer cette série sont représentées **Figure 117**.

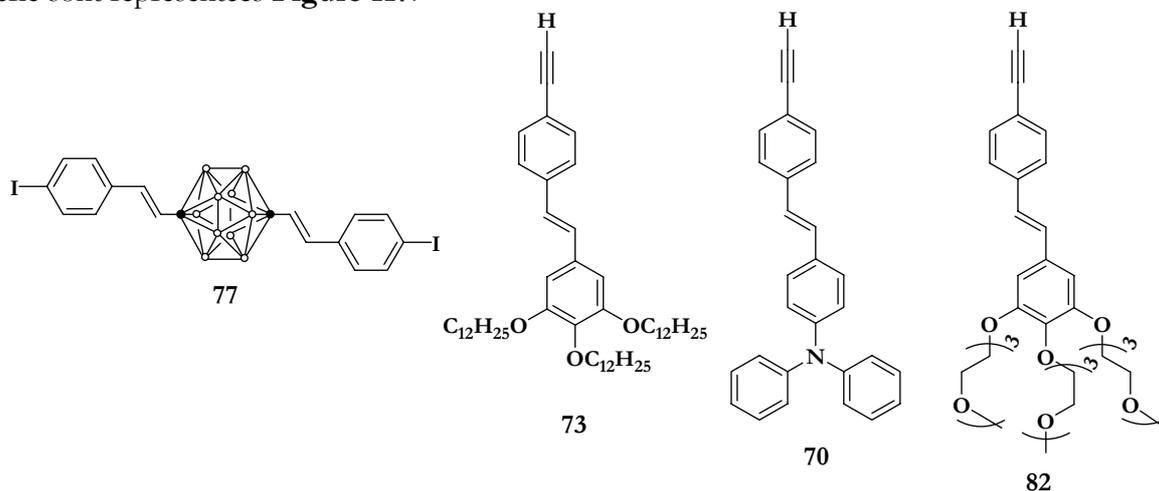


Figure 117 Briques élémentaires utilisées pour préparer les chromophores à cœur *p*-carborane.

Nous obtenons ainsi les chromophores **79**, **83** et **78** en combinant par couplage de Sonogashira le dérivé diiodé **77** avec les alcynes **73**, **82** et **70** respectivement. Ces chromophores sont représentés dans la **Figure 118**.

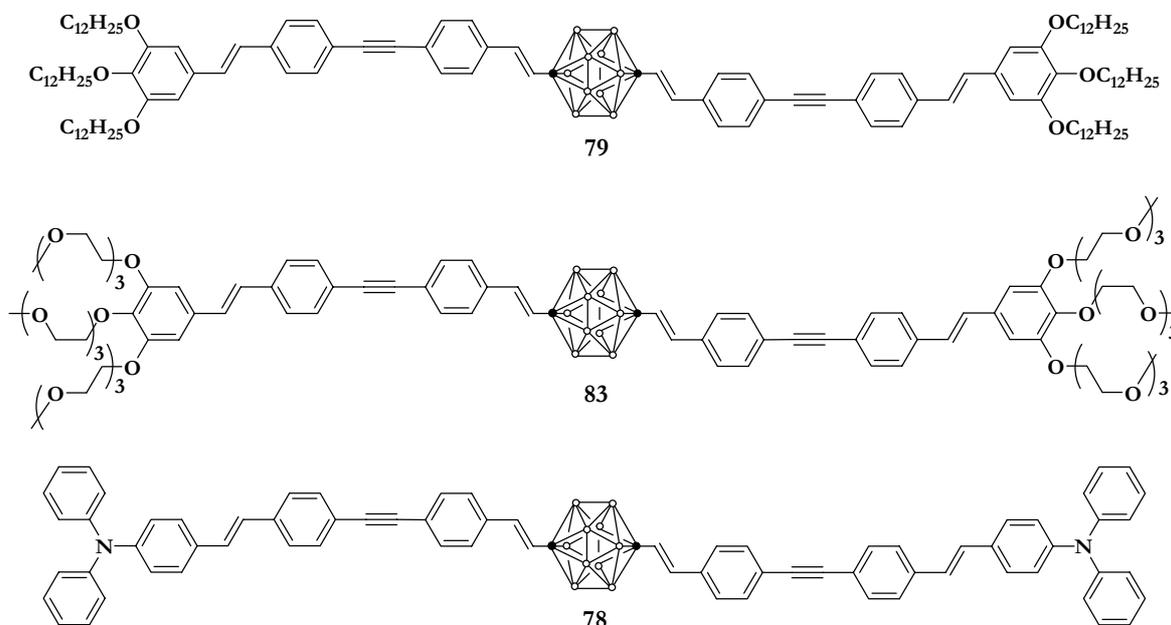


Figure 118 Structures des chromophores à cœur *p*-carborane **79**, **83** et **78**.

Nous avons obtenu ces chromophores avec un rendement de l'ordre de 40 %. La molécule **83** est bien soluble dans l'eau.

II.C.4. CHROMOPHORE A CŒUR DIYNE

Pour pouvoir comparer les chromophores à cœur pseudo-conjugué contenant du bore (surtout pour le cas du pyrazabole) nous avons synthétisé les deux chromophores sans bore et complètement conjugués à cœur diyne **75-O** et **75-N**. Ces chromophores se différencient par le type du groupement donneur qu'ils contiennent. Le chromophore **75-O** contient des groupes donneurs dodécyloxy, alors que le chromophore **75-N** porte un donneur diphenylamino (**Schéma 37**).

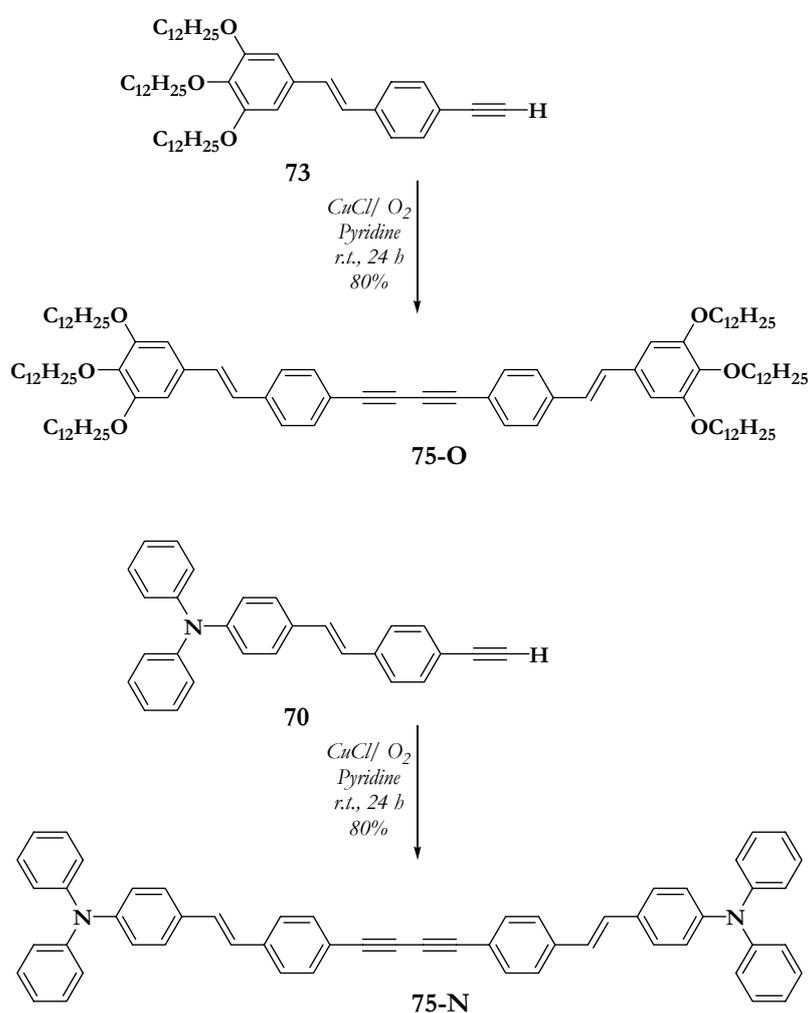


Schéma 37 Structures des chromophores à cœur diyne **75-O** et **75-N**.

Les chromophores **75-O** et **75-N** ont été obtenus par un couplage de type Glaser à partir des alcynes **73** et **70** respectivement.

II.D. CONCLUSION

Nous avons synthétisé différentes briques élémentaires fonctionnalisées et nous les avons fait réagir entre elles par diverses réactions de couplage au palladium pour obtenir des séries de chromophores ADP multipropriétés. Ces trois séries de chromophores se différencient entre elles soit par la nature chimique et même physique du cœur central, soit par la longueur du système conjugué. L'utilisation de différents types de groupes donneurs nous a permis de réaliser une étude comparée des propriétés photophysiques de ces chromophores ADP, ainsi que d'envisager un possible couplage excitonique entre les différentes branches conjuguées en interaction. Passons maintenant aux caractérisations de ces chromophores.

III. CARACTERISATION PHOTOPHYSIQUE DES CHROMOPHORES

III.A. PROPRIETES LINEAIRES

Des informations sur les interactions électroniques au sein d'une molécule peuvent être obtenues à partir de l'étude de ses propriétés photophysiques linéaires. Dans cette partie, nous allons présenter les caractérisations photophysiques à un photon (linéaires) de ces chromophores. Pour rendre l'interprétation de cette étude plus aisée, nous avons divisé ces chromophores en trois grandes classes, en fonction de la nature du cœur central qu'ils contiennent :

- Chromophores à cœur pyrazabole.
- Chromophores à cœur cyclodiborazane.
- Chromophores à cœur *p*-carborane.
- Chromophores à cœur diyne.

III.A.1. CŒUR PYRAZABOLE

Cette étude a été réalisée dans le dichlorométhane, dans lequel toutes les molécules présentent une solubilité élevée. La **Figure 119** illustre les spectres d'absorption UV-visible des chromophores **51**, **55**, **57**, **59** et **63**.

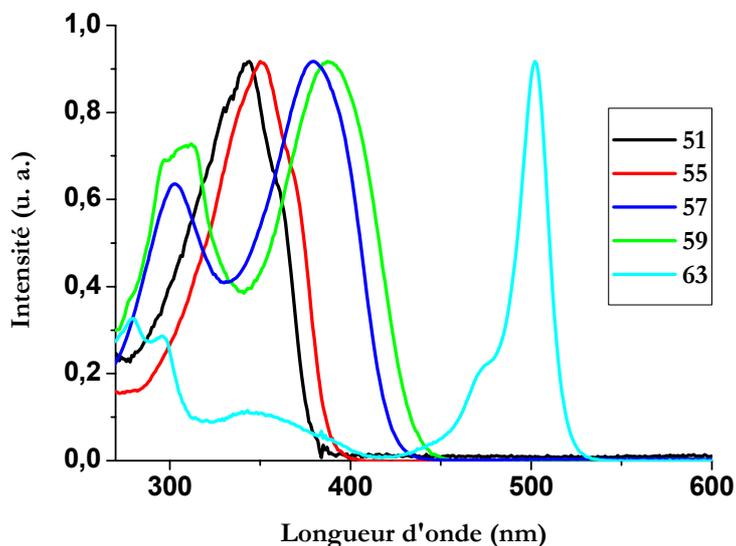


Figure 119 Spectres d'absorption UV-visible normalisés des composés **51**, **55**, **57**, **59** et **63** dans le dichlorométhane.

Pour ces systèmes, la position de la bande d'absorption principale du spectre UV-visible est due à deux effets majeurs : la taille du système conjugué et la force du groupement donneur. Pour

pouvoir étudier l'influence de la longueur du système conjugué d'une molécule sur ses propriétés photophysiques, nous avons comparé les spectres d'absorption des chromophores **51** et **55** d'une part et ceux des chromophores **57** et **59** d'autre part. Les chromophores **55** et **59** possèdent dans leur structure moléculaire deux triples liaisons de plus que celles des chromophores **51** et **57** respectivement. Nous avons observé un déplacement vers le rouge de 6 nm des spectres des molécules ayant le système conjugué le plus long (**55** et **59**) par rapport à ceux des molécules **51** et **57**.

L'influence de la force du groupement donneur est bien plus importante que celle de la taille du système conjugué pour nos molécules. Nous avons observé un déplacement bathochrome de l'ordre de 37 nm pour les spectres d'absorption des molécules **57** et **59** (groupement donneur azoté) par rapport à ceux des molécules **51** et **55** (groupement donneur alkoxy). Il est important de noter que dans tous les cas, le spectre d'excitation et le spectre d'absorption UV-visible de différentes molécules se superposent.

L'influence de la taille du système conjugué ainsi que celle de la force du groupe électrodonneur s'observe aussi sur les spectres d'émission de ces différentes molécules (**Figure 120**).

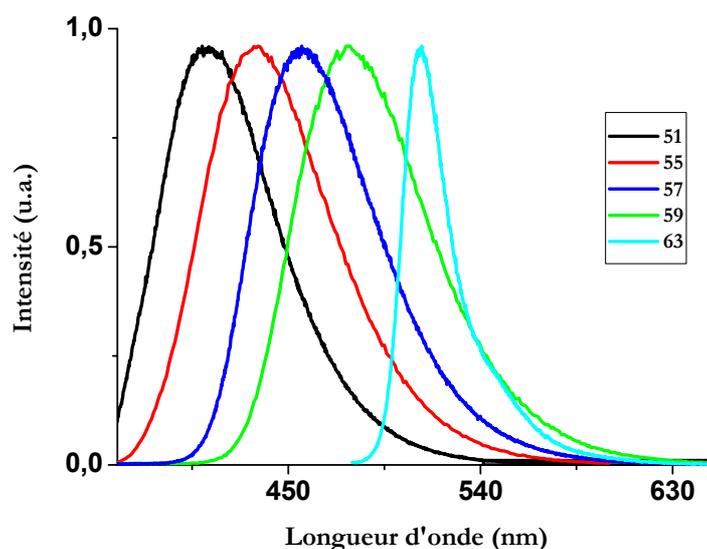


Figure 120 Spectres d'émission normalisés des composés **51**, **55**, **57**, **59** et **63** dans le dichlorométhane.

A titre d'exemple, pour deux molécules ayant deux systèmes conjugués identiques, mais avec deux groupements donneurs différents (par exemple **51** et **57** ou **55** et **59**) nous observons un déplacement vers le rouge du spectre d'émission de l'ordre de 43 nm pour le groupement donneur le plus fort, qui est dans notre cas le groupe diphénylamino. De même, pour deux molécules ayant le même type de groupe électrodonneur mais avec deux systèmes conjugués de

taille différente (par exemple **51** et **55** ou **57** et **59**) nous observons un déplacement bathochrome du spectre d'émission de l'ordre de 23 nm pour le système conjugué le plus long. Notons que les molécules **51**, **55**, **57** et **59** présentent une fluorescence intense dans le bleu, alors que la molécule **63** fluoresce dans le vert (la longueur d'onde d'émission maximale est de 512 nm).

Nous avons également mesuré le coefficient d'extinction molaire (ϵ) ainsi que le rendement quantique de fluorescence (ϕ) de toutes les molécules de cette série à cœur pyrazabole dans le dichlorométhane. Pour calculer les rendements quantiques des molécules **51**, **55**, **57** et **59**, nous avons utilisé le sulfate de quinine ($\phi=54\%$ dans l'acide sulfurique 0,5 M) comme référence, alors que pour la mesure du rendement quantique de **63** nous avons utilisé la fluorescéine ($\phi=95\%$ dans une solution de NaOH 0,1 M, **Tableau 9**).

Tableau 9 Données photophysique linéaires des composés **51**, **55**, **57**, **59** et **63** dans le dichlorométhane.

Chromophore	51	55	57	59	63
$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$ (nm)	343	355	379	387	502
$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$ (nm)	413	436	456	479	512
$\epsilon \times 10^4$ ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)	7,7	11,6	9,2	7,4	14,1
ϕ (%)	37	33	60	57	39

Nous avons observé une augmentation de la valeur du rendement quantique avec la force du groupe électrodonneur, alors que la taille du système conjugué de la molécule n'affecte pas notablement le rendement quantique de fluorescence dans notre cas (deux liaisons triples de plus).

Notre étude montre que l'on peut moduler finement les longueurs d'onde d'absorption et d'émission de ces chromophores en augmentant ou diminuant la taille du système conjugué et/ou en variant la force du groupement donneur.

III.A.2. CŒUR CYCLODIBORAZANE

Pour cette série, seul le chromophore **71** a pu être obtenu sous forme stéréochimiquement pure. Les chromophores **74** et **68** sont en cours de purification et l'étude photophysique des composés purs sera effectuée ultérieurement.

Les propriétés photophysiques de deux stéréoisomères de **71** seront exposées dans le paragraphe traitant des interactions électroniques à la fin de ce chapitre.

III.A.3. CŒUR CARBORANE

Pour cette série, la taille du système conjugué a été fixée et seuls les groupements donneurs ont été modifiés. Comme cela a été expliqué dans le paragraphe II.C.3, nous avons sélectionné deux types de groupe électrodonneur : alkoxy et azoté. Cependant nous avons introduit un nouveau groupe électrodonneur de type alkoxy, constitué de chaînes tri-éthylène glycol, qui devrait avoir des propriétés électroniques voisines de celle du groupe dodécyloxy. La molécule **83**, possédant trois chaînes de tri-éthylène glycol aux deux extrémités est soluble dans l'eau, ce qui nous a permis de mesurer ses propriétés photophysiques dans l'eau en plus du dichlorométhane. La **Figure 121** illustre les spectres d'absorption UV-visible des composés **78**, **79** et **83** dans le dichlorométhane.

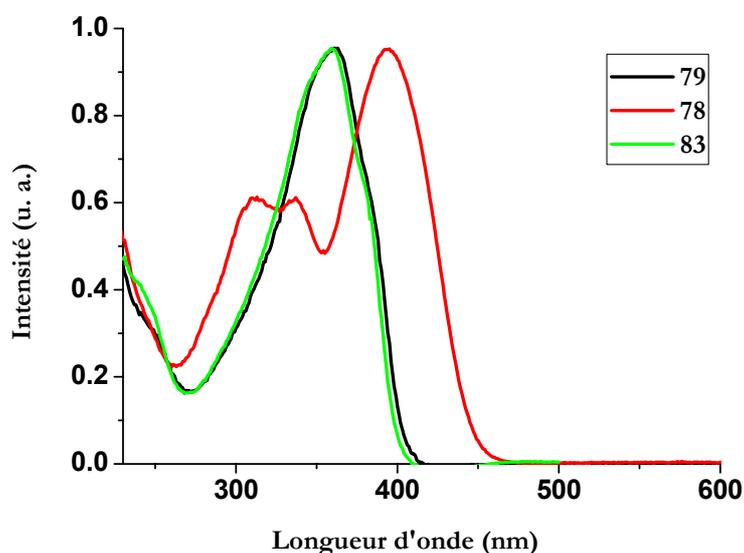


Figure 121 Spectres d'absorption UV-visible normalisés des composés **78**, **79**, et **83** dans le dichlorométhane.

Nous avons observé que les spectres d'absorption UV-visible des deux molécules **78** et **83** sont très similaires (différence de 3 nm entre les deux longueurs d'onde maximales) ce qui indique la faible influence de la substitution des chaînes dodécyloxy par les chaînes tri-éthylène glycol sur le spectre d'absorption UV-visible. Cependant, au niveau du spectre d'émission, on peut observer un comportement différent pour ces deux molécules (42 nm de différence pour les longueurs d'onde maximales d'émission). Le composé **83** (groupement donneur azoté) présente comme attendu la bande d'émission la plus décalée vers le rouge (**Figure 122**).

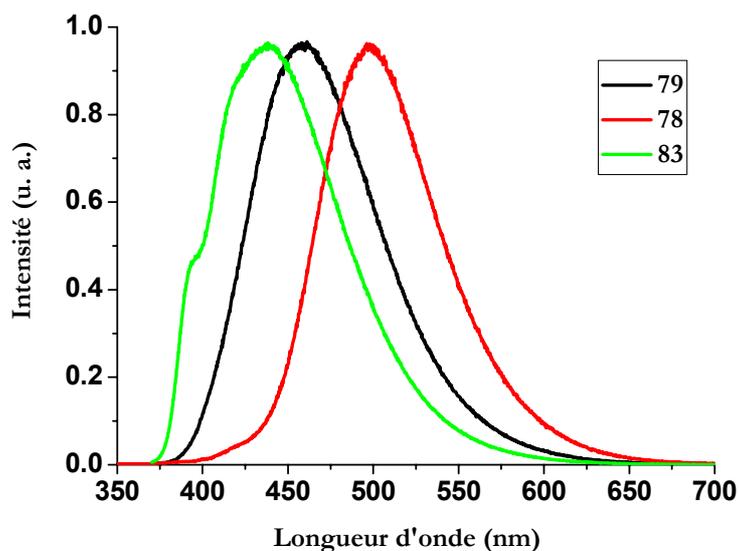


Figure 122 Spectres d'émission normalisés des composés **78**, **79**, et **83** dans le dichlorométhane.

Le composé **83** a par ailleurs été étudié dans l'eau, et il s'est avéré présenter une forte solvatochromie (**Figure 123** et **Figure 124**).

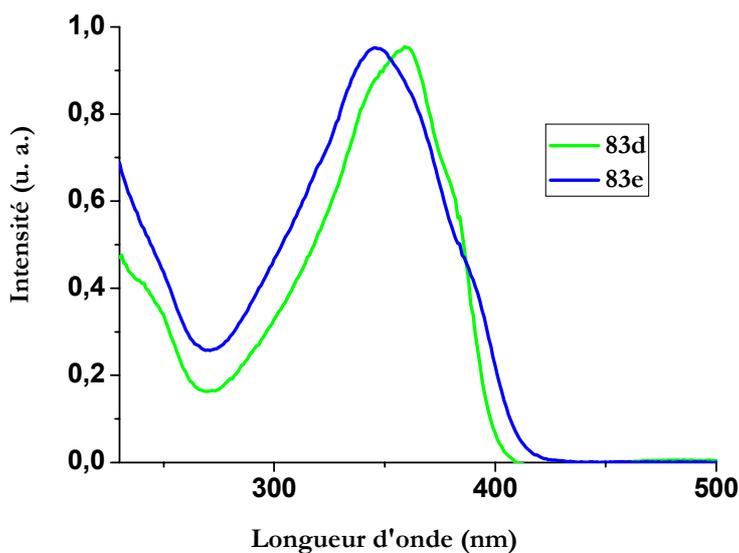


Figure 123 Spectres d'absorption UV-visible normalisés du composé **83** dans le dichlorométhane (vert) et dans l'eau (bleu).

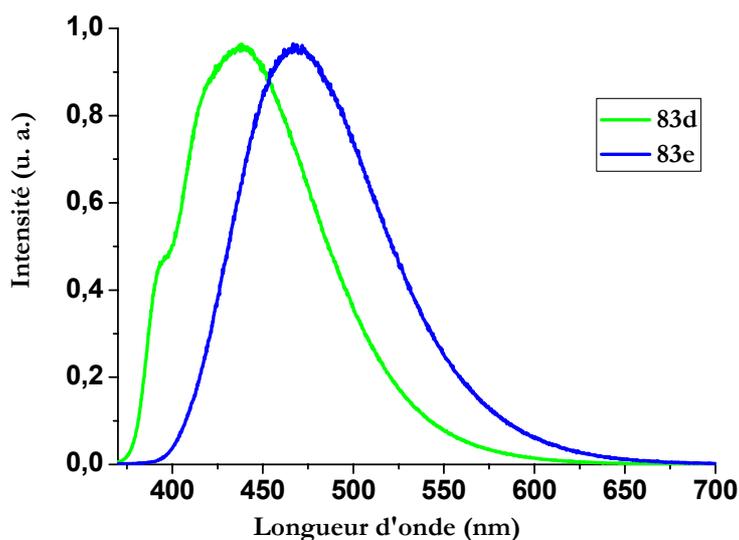


Figure 124 Spectres d'émission normalisés du composé **83** dans le dichlorométhane (vert) et dans l'eau (bleu).

Sur le spectre d'absorption, on note un déplacement bathochrome de 14 nm lorsqu'on passe du dichlorométhane à l'eau. En ce qui concerne le spectre d'émission, on observe un décalage vers le rouge de 29 nm.

Le **Tableau 10** regroupe les différentes données photophysiques linéaires des molécules **78** et **79** dans le dichlorométhane et celles de la molécule **83** dans le dichlorométhane et dans l'eau. Nous avons utilisé le sulfate de quinine comme référence pour mesurer les rendements quantiques de fluorescence.

Tableau 10 Données photophysique linéaires des composés **78**, **79**, et **83** dans le dichlorométhane et pour **83** aussi dans l'eau.

Chromophore	CH ₂ Cl ₂			H ₂ O
	78	79	83	83
$\lambda_{\max}^{\text{Abs}}$ (nm)	395	363	360	346
$\lambda_{\max}^{\text{Em}}$ (nm)	496	458	438	467
$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	9,9	12,2	10,7	7,2
ϕ (%)	58	59	69	24

III.A.4. CHROMOPHORES A CŒUR DIYNE.

Nous avons également étudié les propriétés photophysiques des chromophores à cœur diyne **75-O** et **75-N** dans le dichlorométhane, qui sont formellement des chromophores **55** et **59** dans lesquels le cœur central pyrazabole a été supprimé. Ces études ont été effectuées afin de pouvoir les comparer à celles des chromophores à cœur pyrazabole **55** et **59**. Les spectres d'absorption UV-visible et d'émission dans le dichlorométhane de **75-O** et **75-N** sont représentés dans la **Figure 125**.

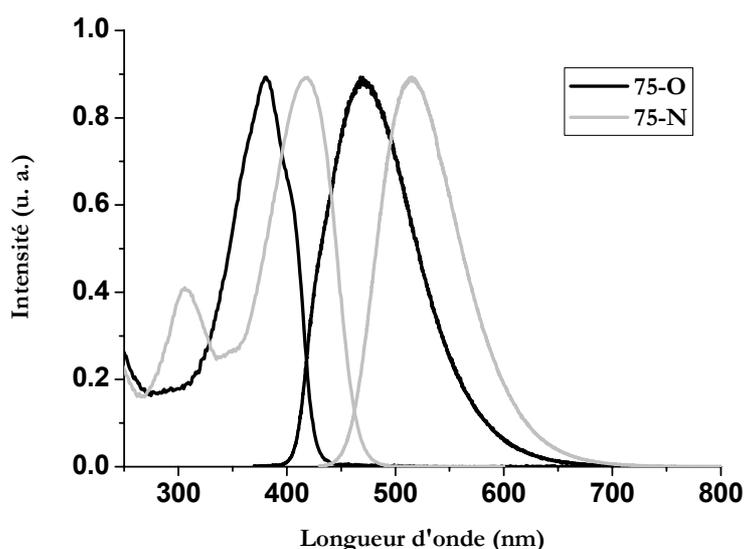


Figure 125 Spectres d'absorption (à gauche) et d'émission (à droite) normalisés des composés **75-O** et **75-N** dans le dichlorométhane.

La différence entre les spectres d'absorption UV-visible et d'émission des deux composés **75-O** et **75-N** est liée à la différence de la force électrodonneur entre le groupe donneur dodécyloxy et diphenylamino, comme cela a été déjà mentionné précédemment. Les coefficients d'extinction molaire ainsi que les rendements quantiques de fluorescence dans le dichlorométhane ont été mesurés et sont présentés dans le **Tableau 11**.

Tableau 11 Données photophysiques des composés **75-O** et **75-N** dans le dichlorométhane.

Composé	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Em}}$ (nm)	$\epsilon \times 10^4$ ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)	ϕ (%)
75-O	381	470	9,4	55
75-N	419	514	7,6	42

III.A.5. CONCLUSION

L'utilisation de systèmes conjugués plus ou moins longs et l'incorporation de différents types de groupes électrodonneurs nous a permis de bien comprendre l'influence de ces deux facteurs sur les propriétés photophysiques des chromophores étudiés, et ainsi de pouvoir jouer finement sur les longueurs d'onde d'absorption et d'émission maximales selon le type d'application visée. Sachant qu'un chromophore efficace à un photon n'est pas forcément efficace à deux photons, nous avons effectué les mesures d'absorption à deux photons de ces chromophores.

III.B. PROPRIÉTÉS NON-LINEAIRES

Les mesures de la section efficace d'absorption à deux photons pour tous ces chromophores ont été réalisées en collaboration avec Dr. Patrice L. Baldeck, selon le même principe que dans le chapitre II.

III.B.1. CŒUR PYRAZABOLE

Comme nous l'avons décrit pour les propriétés photophysiques linéaires, la variété des chromophores synthétisés nous a permis d'étudier à la fois l'influence de la force du groupement donneur, et l'influence de la nature du système conjugué. Les sections efficaces des chromophores **51**, **55** et **59** ont été mesurées dans le dichlorométhane entre 450 et 900 nm. Pour des raisons de solubilité, la section efficace d'ADP du chromophore **63** n'a pas pu être mesurée. Les spectres d'ADP de ces chromophores sont illustrés dans la **Figure 126**.

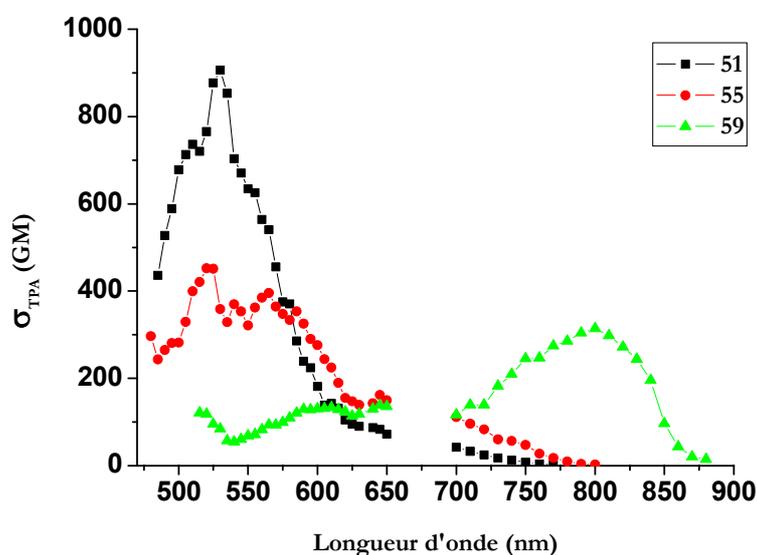


Figure 126 Spectres d'absorption à deux photons des composés **51**, **55** et **59** dans le dichlorométhane.

Les chromophores **51** et **55**, nous ont permis d'étudier l'influence de l'insertion de deux triples liaisons sur les propriétés ADP en présence d'un même groupe électrodonneur (alkoxy). En augmentant la taille du système conjugué de deux triples liaisons, la section efficace d'ADP diminue dans la région 450 - 600 nm (à 530 nm $\sigma_2=906$ GM pour le chromophore **51** et à 525 nm $\sigma_2=451$ GM pour le chromophore **55**), ce qui n'est pas le cas dans le rouge et infrarouge. Dans le spectre du chromophore **55**, nous observons une bande d'absorption entre 620 nm et 800 nm dont le maximum n'a malheureusement pas pu être mesuré, car il se trouve dans la fenêtre aveugle du spectre entre 650 et 700 nm. Sur le spectre du chromophore **51**, nous avons observé une descente continue qui se termine dans la fenêtre aveugle du spectre et continue après 700 nm. La bande d'absorption à deux photons correspondant au chromophore **59** se trouve

dans la zone 700 - 900 nm, avec un maximum à 800 nm. Les deux chromophores **55** et **59** d'une part et **51** et **57** d'autre part, possèdent un système conjugué de même nature mais un groupement donneur différent. Le spectre du chromophore **59** présente un déplacement bathochrome par rapport à celui du chromophores **55**.

Donc pour les molécules à cœur pyrazabole, l'introduction d'une triple liaison entre le motif stilbène et le cœur est favorable pour des utilisations nécessitant une fenêtre spectrale dans le proche infrarouge (microscopie à deux photons).

III.B.2. CŒUR CYCLODIBORAZANE

Les propriétés photophysiques non-linéaires des chromophores à cœur cyclodiborazane **68**, **74**, ainsi que celles des deux stéréoisomères du chromophore **71** ont été étudiées dans le dichlorométhane dans la zone 700-900 nm. Les chromophores **71** et **74** possèdent un système conjugué de même nature mais un groupement donneur différent (azoté pour **71** et alkoxy pour **74**, **Figure 127**). Comme précédemment, le chromophore **68** comportant un groupement BODIPY s'est avéré peu soluble et les sections efficace d'ADP n'ont pas pu être mesurées.

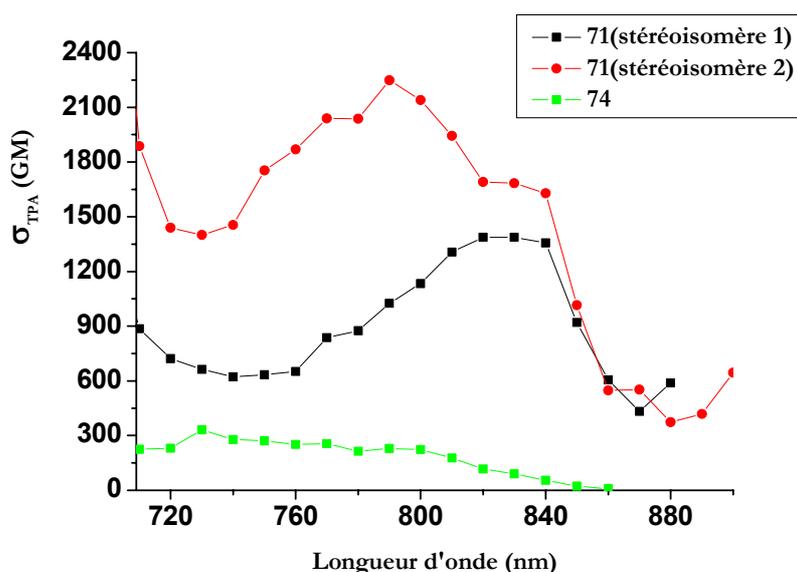


Figure 127 Spectres d'absorption à deux photons des composés **71** (stéréoisomères 1 et 2) et **74** dans le dichlorométhane.

Comme attendu, l'augmentation de la force du groupement électrodonneur augmente la valeur de la section efficace d'absorption à deux photons de la molécule, et induit un décalage vers le rouge de la bande d'absorption à deux photons. Les deux stéréoisomères du chromophore **71** n'ont pas le même spectre d'ADP, ce qui montre la dépendance étroite de σ_2 avec géométrie du chromophore. Ce phénomène sera expliqué plus en détail dans le paragraphe IV.A.

III.B.3. CŒUR CARBORANE

Les spectres d'absorption à deux photons des chromophores à cœur carborane **78**, **79** et **83** ont été mesurés dans le dichlorométhane entre 700 et 900 nm. La bande d'ADP du chromophore **78** (donneur azoté) se trouve dans la zone de mesure alors que pour les chromophores **79** et **83** (donneurs alkoxy), nous n'observons que la fin de la bande d'absorption (**Figure 128**).

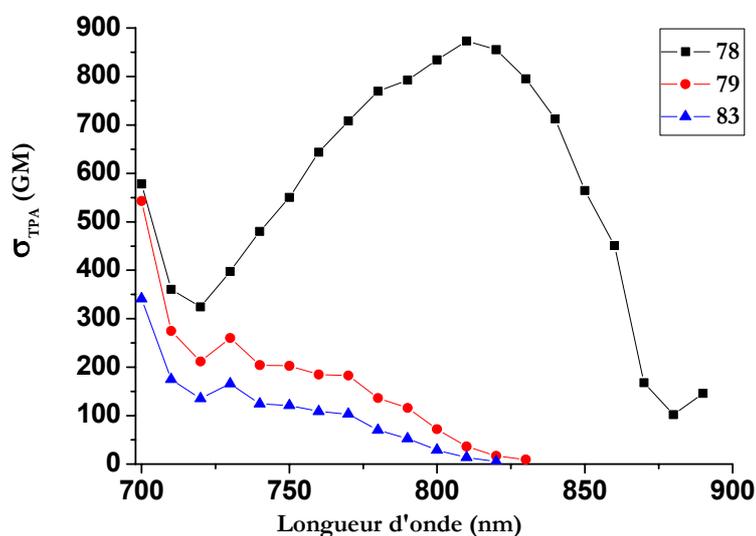


Figure 128 Spectres d'absorption à deux photons des composés **78**, **79** et **83** dans le dichlorométhane.

Le chromophore **78** présente une forte absorption à deux photons ($\sigma_2=875$ GM à 810 nm). Pour le chromophore **83**, qui est soluble dans l'eau, la section efficace d'ADP à 710 nm est de l'ordre de 170 GM, ce qui est une valeur très élevée par rapport aux sections efficace d'ADP des colorants commerciaux (voir chapitre II). Ce chromophore est ainsi très prometteur et pourra donner lieu à une série de chromophores bifonctionnels (microscopie à deux photons et BNCT) utilisable en milieu biologique.

III.B.4. COMPOSES DIYNE

Les chromophores diyne ont été conçus comme modèles (chromophores sans cœur central) pour les composés pyrazabole. Ce type de chromophore présente une forte conjugaison à travers les deux triples liaisons, ainsi qu'une forte délocalisation tout au long du squelette de la molécule (certains travaux considèrent le motif diyne comme un cœur central).²⁷⁰ Les spectres d'ADP des deux chromophores **75-O** (donneur alkoxy) et **75-N** (donneur azoté) sont représentés dans la **Figure 129**.

²⁷⁰ Kishi, R., Nakano, M., Yamada, S., Kamada, K., Ohta, K., Nitta, T., Yamaguchi, K. *Synthetic Metals*, **2005**, 154, 181-184.

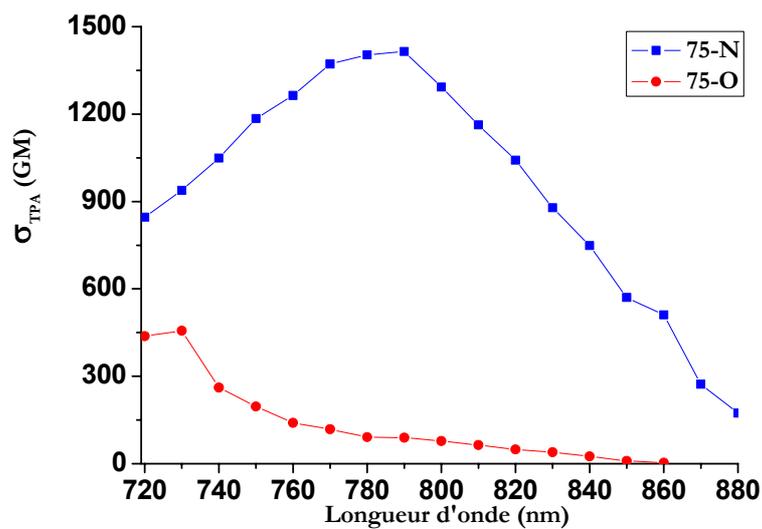


Figure 129 Spectres d'absorption à deux photons des composés **75-O** et **75-N** dans le dichlorométhane.

Comme tous les chromophores contenant un groupement donneur azoté, la bande d'absorption à deux photons du chromophore **75-N** se trouve dans la zone de mesure avec un maximum vers 790 nm ($\sigma_2=1400$ GM). Pour le composé contenant un donneur alkoxy, le maximum de la bande d'absorption se trouve avant 720 nm.

IV. LES INTERACTIONS ÉLECTRONIQUES

IV.A. A TRAVERS LE CYCLODIBORAZANE

Comme nous l'avons déjà expliqué, le cyclodiborazane possède quatre stéréoisomères : *cis-syn* (A), *cis-anti* (B), *trans-syn* (C) et *trans-anti* (D) (**Figure 130**). Parmi ces quatre stéréoisomères, C et D ont été proposés comme les deux stéréoisomères les plus stables, mais sans preuves expérimentales.^{226,227} Les énergies de formation de chaque stéréoisomère : 269,0, 247,5, 238,7 et 232,0 kJ.mol⁻¹ pour A, B, C et D respectivement ont été calculées par la méthode AM1.²⁷¹ Ces résultats montrent que la géométrie *cis* des groupes mésityles est très défavorable (stéréoisomères A et B). Expérimentalement, nous avons obtenu uniquement deux stéréoisomères pour chromophore **71**, qui devraient être les stéréoisomères C et D les plus stables.

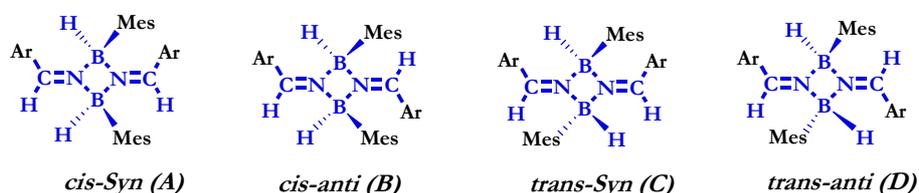


Figure 130 Les quatre configurations possibles du cyclodiborazane (Mes=Mésityle et Ar=Phényle).

Ces deux stéréoisomères du composé **71** sont difficilement séparables, et leur séparation a nécessité plusieurs chromatographies sur colonne de silice. Les proportions de deux stéréoisomères sont de l'ordre de $\frac{1}{4}$ - $\frac{3}{4}$. Nous avons obtenu des monocristaux d'un des stéréoisomères (l'isomère majoritaire). Sa structure a été résolue par diffraction des rayons X, ce qui a montré que cet isomère correspondait à la structure *trans-anti* D (**Figure 131**).

²⁷¹ Dewar, M. J. S., Zoebisch, E. G., Healy, E. F., Stewart, J. J. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 3902-3919.

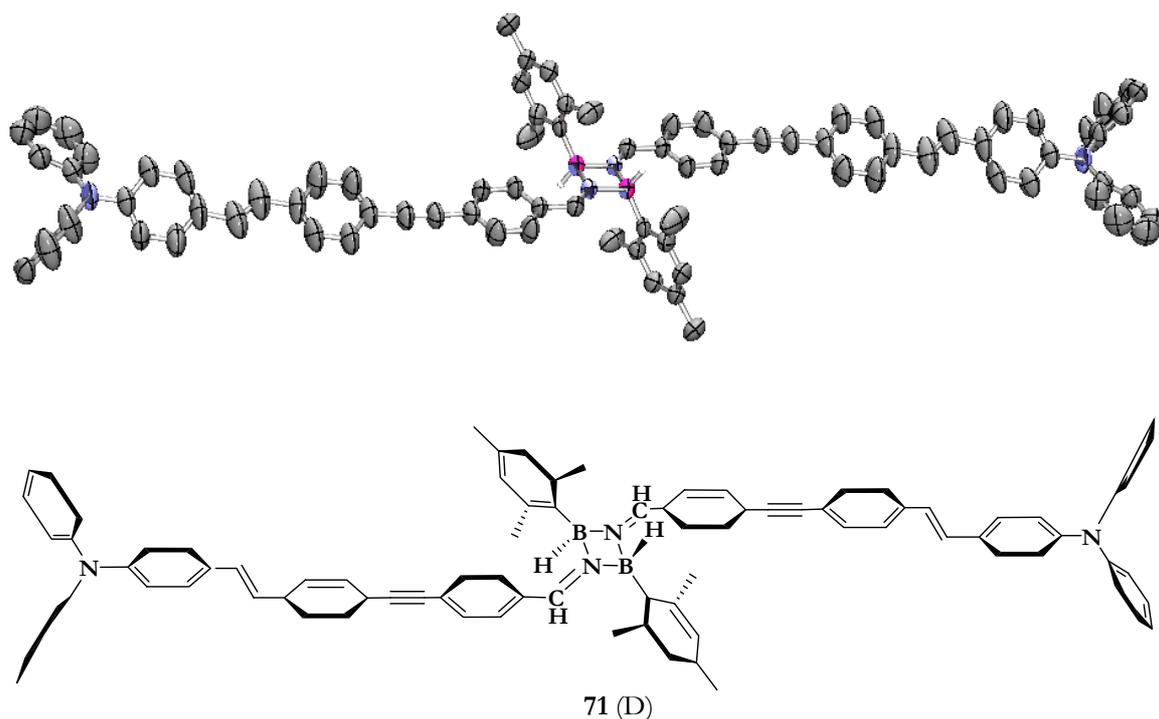


Figure 131 Structure ORTEP du chromophore **71** montrant la stéréoisomérisie *trans-anti* (D).

Le cycle carré central est totalement plan (angle de torsion B1N1B2N2=0,0°). La distance N-N est de 2,17 Å, ce qui est suffisamment court pour permettre un couplage électronique entre deux systèmes conjugués. Cette distance N-N est similaire à celle rapportée pour le cyclodiborazane symétrique, et est proche de celle rencontrée pour les carbones sp² (2,12 Å) du 1,3-bis-phénylméthylèncyclobutane (**Figure 132**).¹⁹⁶

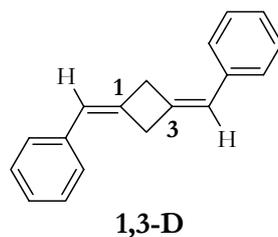


Figure 132 Structures du 1,3-bis-phénylméthylèncyclobutane (**1,3-D**).

A notre connaissance, nous sommes les premiers à montrer expérimentalement la stéréochimie d'un isomère d'un dérivé cyclodiborazane.²⁷² Ainsi, nous pouvons proposer une

²⁷² **Hayek, A.**, Nicoud, J. -F., Bolze, F., Bourgoigne, C., Baldeck, P. L., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2006**, 45, 6466-6469.

structure de type C pour le deuxième composé isolé. Les structures chimiques des composés C et D sont représentées dans la **Figure 133**.

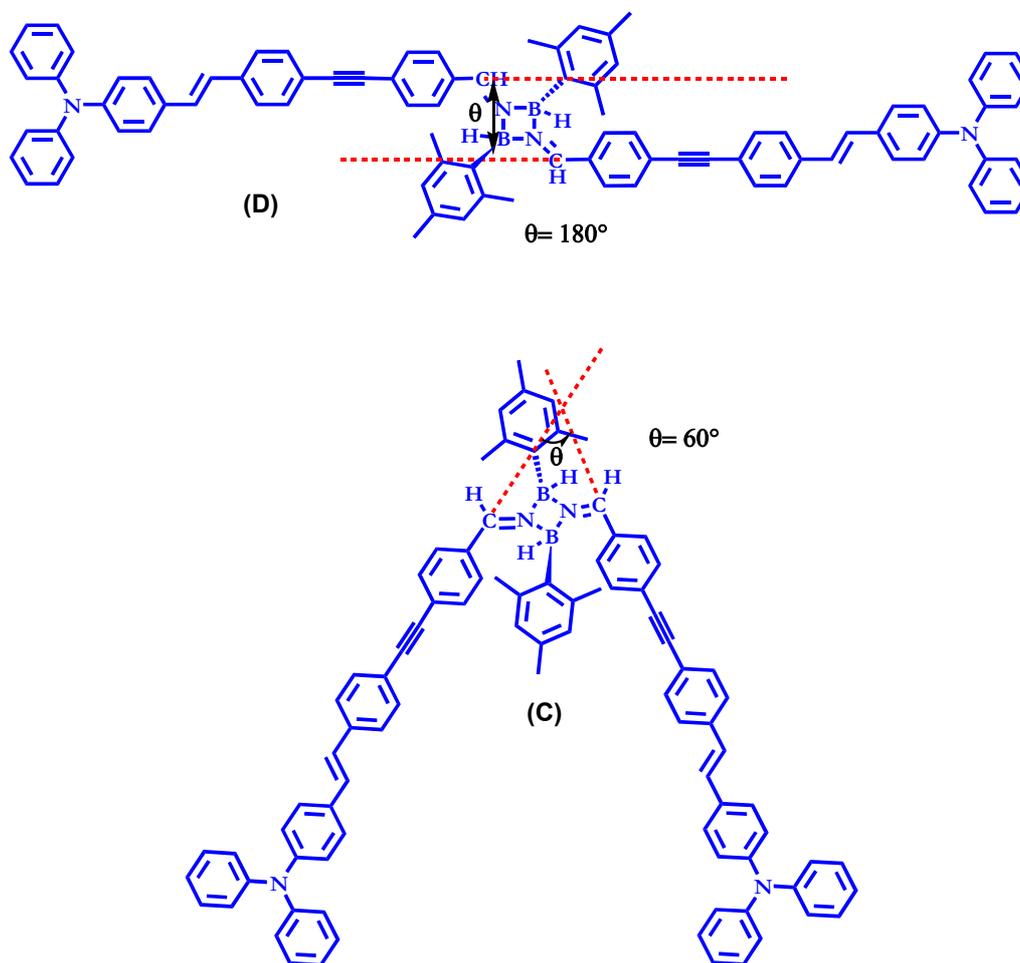


Figure 133 Structures des deux stéréoisomères D et C du chromophore 71.

Cette figure montre également l'angle θ entre les axes des deux systèmes conjugués, imposé par la stéréochimie du chromophore. Ces deux stéréoisomères, avec un angle différent entre les deux groupements donneurs permettront d'étudier l'effet de la géométrie sur les propriétés photophysiques.

Les études photophysiques linéaires de ces deux isomères ont montré que la géométrie du chromophore affecte d'une façon remarquable les propriétés photophysiques du chromophore. Les spectres d'absorption et d'émission dans le dichlorométhane des isomères D et C sont présentés dans la **Figure 134**.

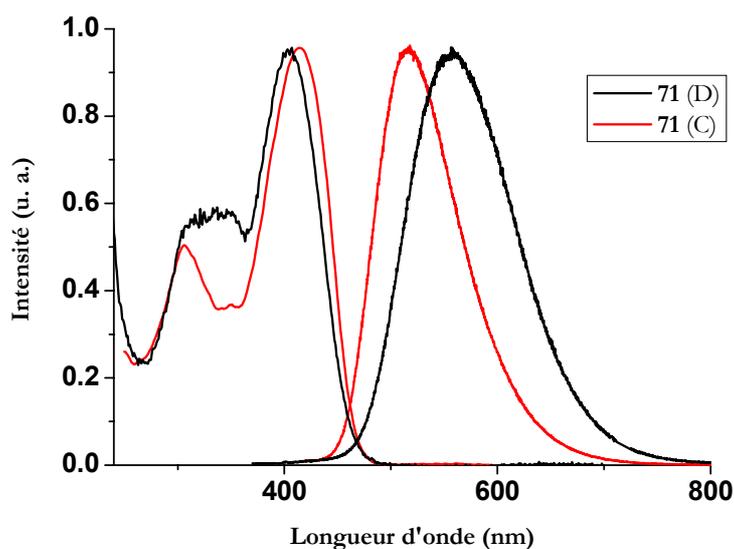


Figure 134 Spectres d'absorption (gauche) et d'émission (droite) des isomères D et C du chromophore **71** dans le dichlorométhane

Le spectre d'absorption UV-visible de l'isomère C présente un déplacement vers le rouge par rapport à celui de l'isomère D, alors que son spectre d'émission montre un effet hypsochrome par rapport à celui de D. Ces résultats montrent une large différence entre les déplacements de Stoke des isomères D et C : 6861 cm^{-1} et 4716 cm^{-1} respectivement. Cette différence de déplacement de Stoke $\Delta=2145\text{ cm}^{-1}$ indique que les deux systèmes conjugués de l'isomère D sont plus fortement couplés à l'état excité que ceux de l'isomère C.

D'un autre côté, pour étudier l'effet des interactions électroniques et en particulier le couplage excitonique dans un tel système, nous avons proposé de synthétiser le monomère **71-M** correspondant du chromophore **71**. (Schéma 38).

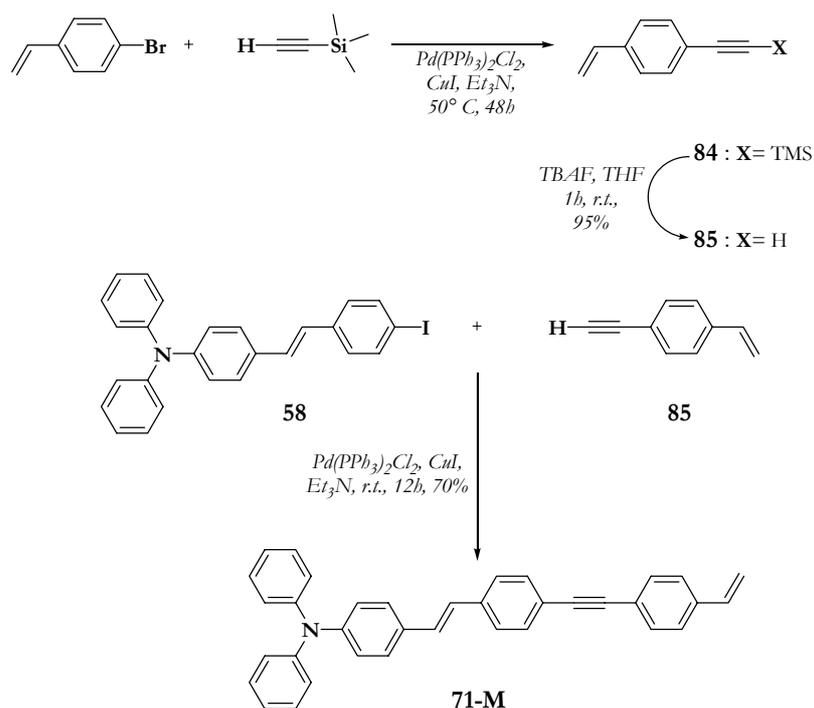


Schéma 38 Synthèse du monomère **71-M**.

Le composé **71-M** a été obtenu en deux étapes à partir du composé **58** décrit précédemment. La première étape consiste à préparer le motif 4-éthynylstyrène (**85**) par une réaction de type Sonogashira à partir du produit commercial 4-bromostyrène et du triméthylsilylacétylène.²⁷³ Le groupe protecteur TMS a été éliminé par l'action de TBAF dans le THF (**Schéma 38**). La deuxième étape est une réaction de Sonogashira entre les composés **58** et **85**, qui a donné le monomère **71-M** avec un rendement de l'ordre de 70% (**Schéma 38**). Nous avons utilisé le groupe périphérique styrène pour éviter l'utilisation d'un dérivé azoté ayant un effet donneur ou accepteur, car l'atome d'azote dans le cyclodiborazane ne présente un effet donneur ni effet accepteur d'électron.

Les propriétés photophysiques linéaires du monomère **71-M** ont été étudiées dans le dichlorométhane et permettent ainsi de les comparer à celles du chromophore **71** (dimère). Le rendement quantique et le coefficient d'extinction molaire de chaque composé ont été mesurés. Les données photophysiques du monomère ainsi que celles de deux isomères **71(D)** et **71(C)** sont présentées dans le **Tableau 12**.

²⁷³ Malkoch, M., Thibault, R. J., Drockenmuller, E., Messerschmidt, M., Voit, B., Russell, T. P., Hawker, C. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 14942-14949.

Tableau 12 Données photophysiques des composés **71 (D)**, **71-M** et **71 (C)** dans le dichlorométhane.

Composé	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Em}}$ (nm)	$\epsilon \times 10^4$ ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)	ϕ (%)
71 (D)	403	557	1,01	27
71-M	392	491	4,31	49
71 (C)	415	516	9,80	27

Les spectres d'absorption UV-visible et d'émission des composés **71 (D)** et **71-M** dans le dichlorométhane sont présentés dans la **Figure 135**.

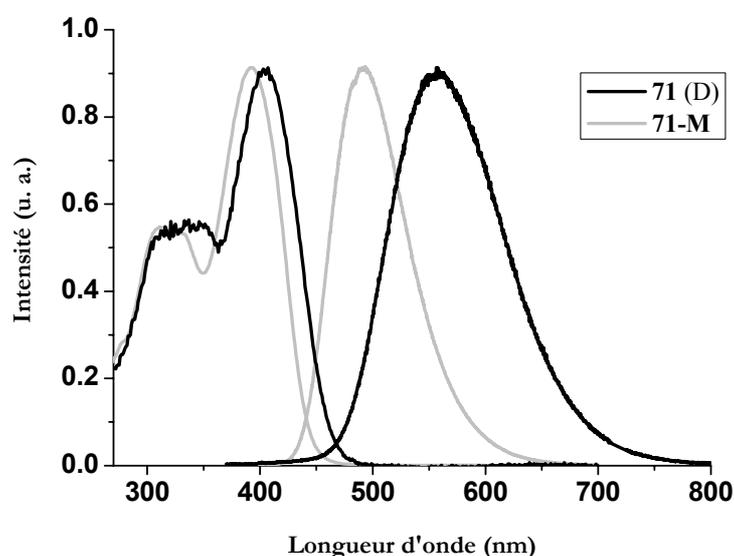


Figure 135 Spectres d'absorption (gauche) et d'émission (droite) du chromophore **71** et du monomère **71-M** dans le dichlorométhane

Ces résultats montrent une large différence entre le déplacement de Stoke de l'isomère D et celui du monomère **71-M** : 6861 cm^{-1} et 5143 cm^{-1} respectivement. Cette différence de déplacement de Stoke $\Delta=1718 \text{ cm}^{-1}$ indique que les deux systèmes conjugués liés au cœur cyclodiborazane sont fortement couplés à l'état excité, alors que la conjugaison à l'état fondamental entre ces deux systèmes est faible. Un tel comportement a été étudié dans le cas du couplage des groupements phénylacétylène en position *mé*ta sur un cycle phényle.²⁰¹ Ceci nous conduit à considérer les propriétés photophysiques du chromophore **71(D)** comme reliées à un couplage excitonique. En accord avec la théorie pour un pur couplage excitonique on doit aboutir à un déplacement de Stoke constant, c'est à dire que les spectres d'absorption et d'émission doivent être décalés parallèlement. Comme nous avons observé un fort déplacement uniquement au niveau du spectre d'émission, nous concluons qu'une interaction électronique a lieu essentiellement à l'état excité (interaction électronique non classique à travers le cœur

cyclodiborazane).²⁰¹ Ces résultats sont confirmés par la modélisation moléculaire. Les représentations graphiques des orbitales moléculaires sélectionnées pour **71(D)** calculés par la méthode AM1 sont illustrées dans la **Figure 136**.

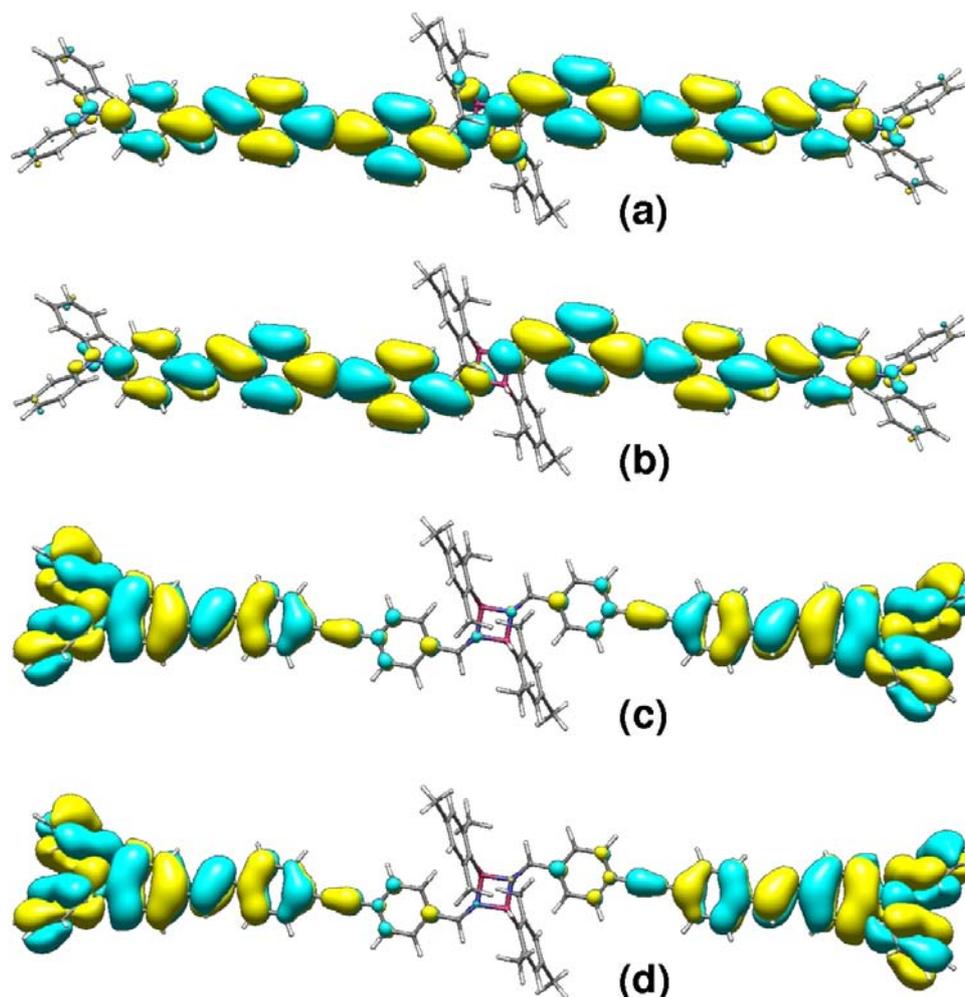


Figure 136 Orbitales moléculaires calculés par la méthode AM1 du chromophore **71(D)** : (a) LUMO +1 ($E = -0,9984$ eV); (b) LUMO ($E = -1,0054$ eV); (c) HOMO ($E = -7,8874$ eV); (d) HOMO -1 ($E = -7,8885$ eV).

Les états HOMO-1 et HOMO sont quasi dégénérés en énergie, ce qui est le cas aussi pour les LUMO et LUMO+1. Ces deux couples d'orbitales se différencient par leurs symétries. Nous pouvons observer que dans les états HOMOs, la densité électrique est localisée au niveau des groupements périphériques diphenylamino. Cependant les états LUMOs montrent une délocalisation tout au long du chromophore. Notons que dans le cas de LUMO+1 (a) un recouvrement orbitalaire est présent à travers le cycle du cyclodiborazane, ce qui permet une conjugaison entre les deux groupes donneurs à l'état excité. De même, les représentations

graphiques des orbitales moléculaires sélectionnées pour **71(C)**, calculées par la méthode AM1 sont illustrées dans la **Figure 137**.

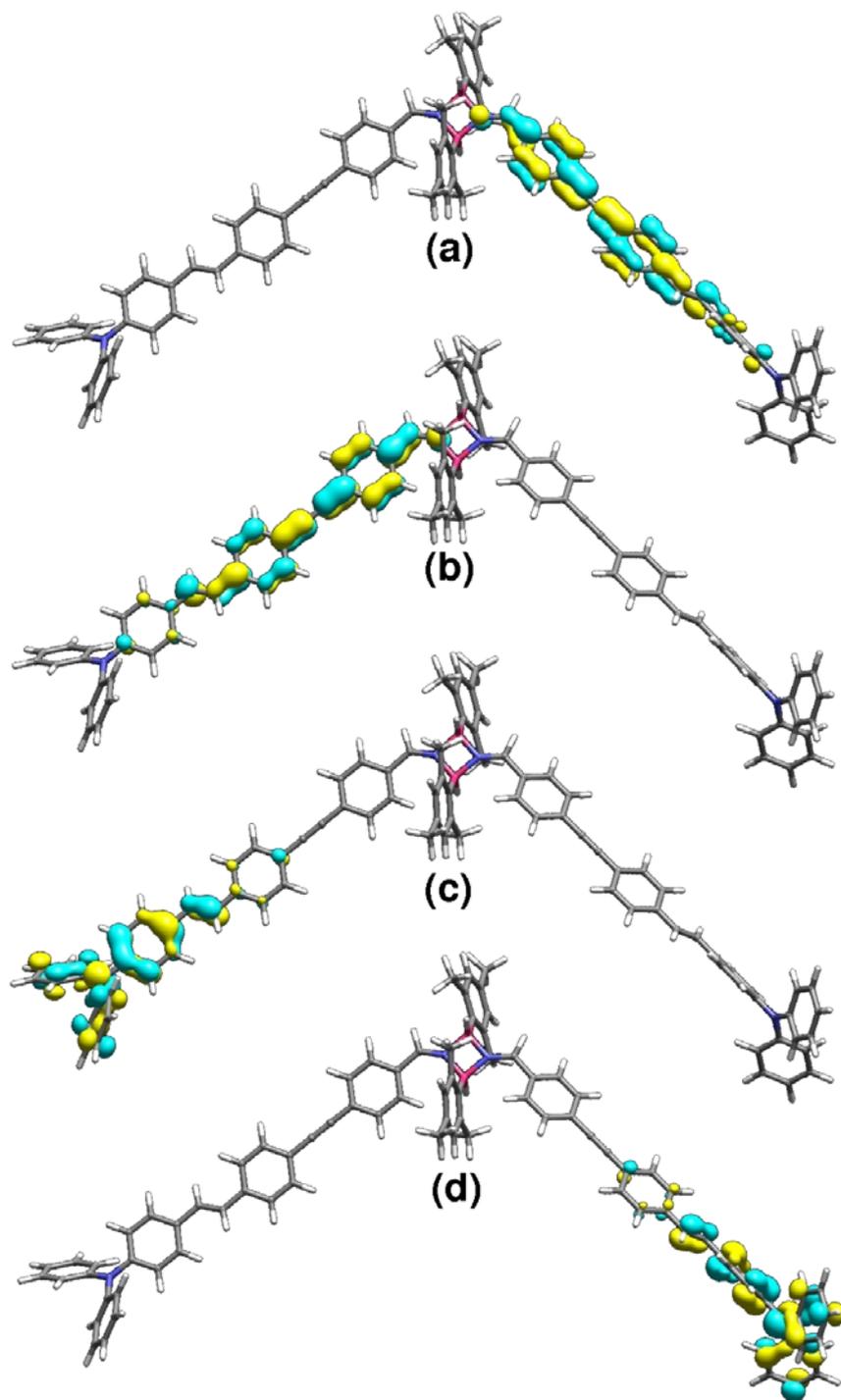


Figure 137 Orbitales moléculaires calculés par la méthode AM1 du chromophore **71(C)** : (a) LUMO +1 ($E = -0,9724 \text{ eV}$); (b) LUMO ($E = -1,0032 \text{ eV}$); (c) HOMO ($E = -7,8903 \text{ eV}$); (d) HOMO -1 ($E = -7,8985 \text{ eV}$).

Dans le cas de l'isomère **71(C)**, les états HOMO-1 et HOMO sont quasi dégénérés en énergie, alors que pour les états LUMO et LUMO+1, les énergies sont très proches avec une différence d'énergie $\Delta E = 0,0308$ eV. Nous pouvons observer que dans l'orbitale HOMO, un seul des groupements électrodonneur diphénylamino présente une forte densité électronique localisée, alors que pour l'orbitale HOMO-1, la densité électronique est localisée sur l'autre groupement diphénylamino. Cependant nous n'observons aucune délocalisation à travers le cœur cyclodiborazane dans le cas des orbitales LUMOs.

La **Figure 140** montre une comparaison entre les configurations *trans-anti* et *trans-syn* du cyclodiborazane. Nous avons observé que dans le cas de l'isomère *trans-anti* les deux phényles sont dans le même plan que le cycle à quatre atomes du cyclodiborazane, alors que dans le cas de l'isomère *trans-syn*, un des groupements phényles se trouve dans le même plan que le cycle du cyclodiborazane, et le deuxième groupement phényle présente un angle de torsion de 31° par rapport au plan du cycle du cyclodiborazane.

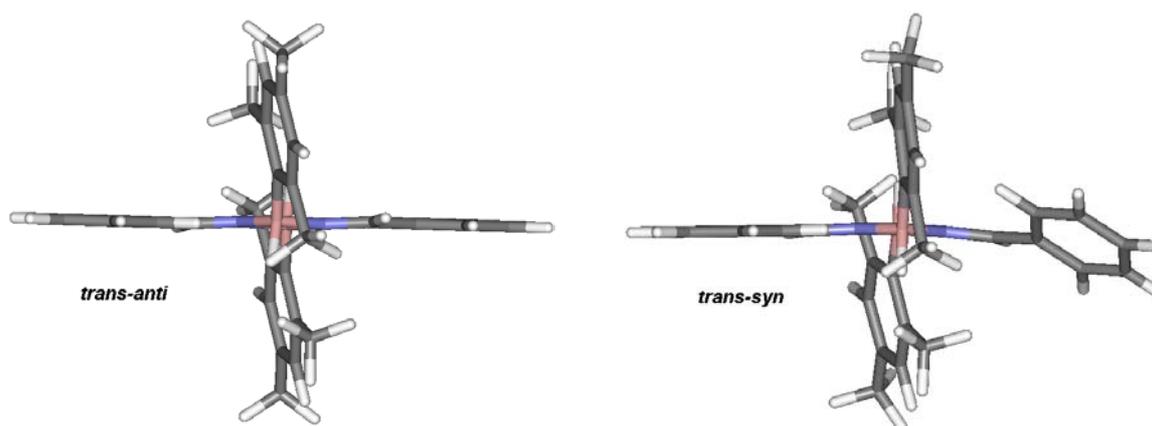


Figure 138 Structures de deux isomères proposés du composé **66**.

Cette perturbation de la conjugaison dans le chromophore **71(C)** implique que la densité électronique de l'orbitale LUMO+1 est localisée sur l'autre côté du chromophore correspondant à la forte densité électronique dans l'orbitale HOMO-1. Notons que nous n'observons pas, comme pour le chromophore **71(D)** un recouvrement orbitalaire au sein du groupement cyclodiborazane.

Les spectres d'absorption à deux photons ont été mesurés pour les deux stéréoisomères **71(C)** et **71(D)** ainsi que pour le monomère. Nous observons un rapport de 2,7 entre la section efficace du composé **71(D)** ($\sigma_2 = 1387$ GM à 830 nm) et le monomère **71-M** ($\sigma_2 = 507$ GM à 830 nm), ce qui confirme la présence d'interaction à travers le cœur cyclodiborazane. La valeur élevée de la section efficace d'absorption à deux photons du composé **71(C)** ($\sigma_2 = 2250$ GM à 790 nm) montre bien que la délocalisation électronique au sein du chromophore n'est pas le seul facteur

qui affecte la valeur de σ_2 , et on note un rapport de 4,8 par rapport au σ_2 du monomère. Les spectres d'absorption à deux photons des trois composés **71(C)**, **71(D)** et **71-M** sont représentés dans la **Figure 139**.

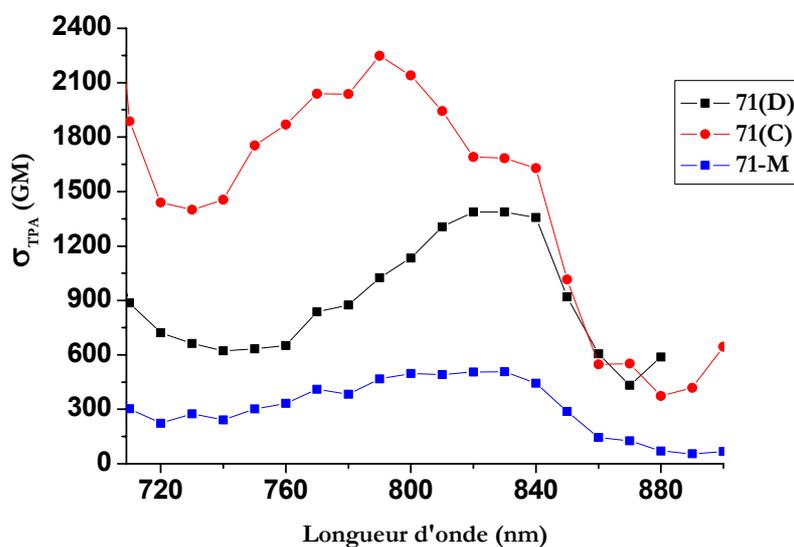


Figure 139 Spectres d'absorption à deux photons des composés **71(C)**, **71(D)** et **71-M** dans le dichlorométhane.

Ces résultats intéressants (forte section efficace d'ADP) font du cœur cyclodiborazane une brique importante à exploiter dans le domaine de l'optique non-linéaire, de plus, la présence de 10 atomes de bore est un facteur important pour une application potentielle en BNCT.

IV.B. A TRAVERS LE *p*-CARBORANE

Le composé **71-M** synthétisé précédemment, peut aussi être considéré comme un monomère du chromophore **78** (Figure 140). Dans cette partie, nous avons étudié, l'effet des interactions électroniques à travers le cœur pseudo-conjugué *para*-carborane. Comme nous l'avons déjà mentionné dans le paragraphe I.C.3, le *p*-carborane est connu pour son pouvoir de transfert d'effet électronique entre deux systèmes conjugués.^{245,246}

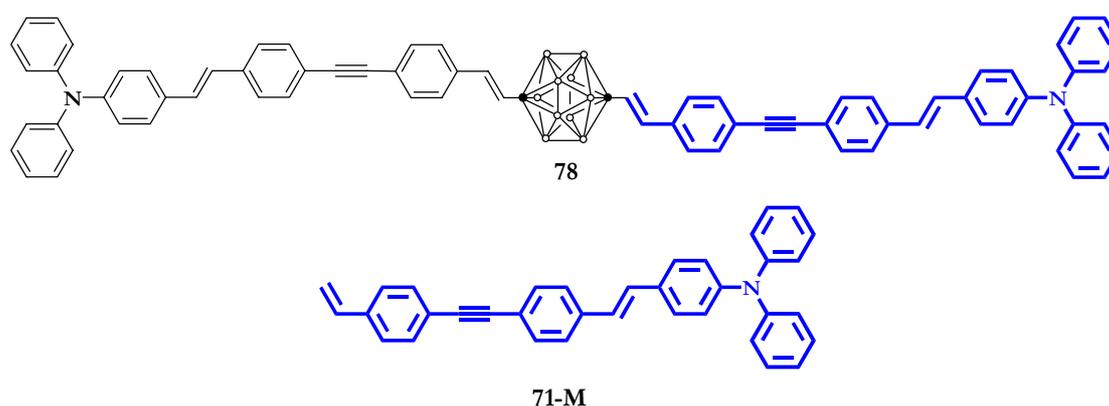


Figure 140 Structure du chromophore **78** (Dimère) et du composé **71-M** (Monomère).

La Figure 141 montre les spectres d'absorption et d'émission des deux composés **71-M** (Monomère) et le **78** (Dimère).

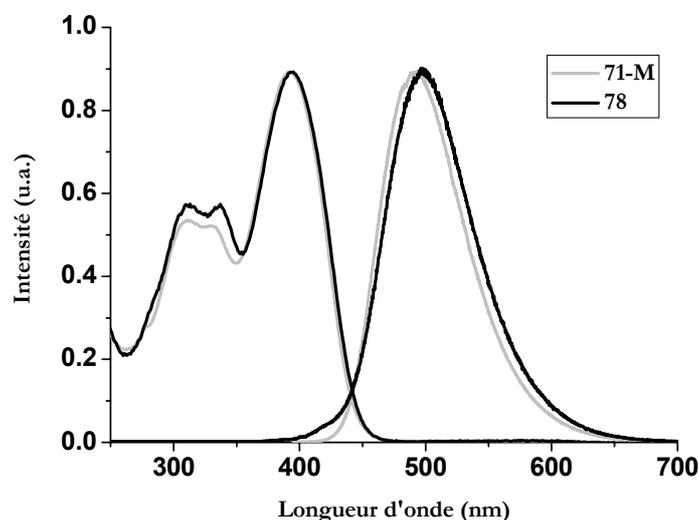


Figure 141 Spectres d'absorption (gauche) et d'émission (droite) du chromophore **78** et du monomère **71-M** dans le dichlorométhane

Nous observons que les deux spectres d'absorption de ces composés sont assez similaires (3 nm de décalage). Un léger déplacement de 5 nm a été observé sur le spectre d'émission du chromophore **78** par rapport à celui du composé **71-M**. Ce déplacement n'est pas significatif, et

les interactions électroniques doivent être faibles à travers le *p*-carborane. Les données photophysiques linéaires des deux composés **78** et **71-M** ont été regroupées dans le **Tableau 13**.

Tableau 13 Données photophysiques des composés **71-M** et **78** dans le dichlorométhane.

Composé	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Em}}$ (nm)	$\epsilon \times 10^4$ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹)	ϕ (%)
78	395	496	9,9	58
71-M	392	491	4,31	49

Ces données ne présentent pas de différence significative. Le coefficient d'extinction molaire du dimère **78** est le double de celui du monomère **71-M** ce qui est attendu pour un système formé de deux monomères qui ne sont pas en interaction. Les déplacements de Stoke pour le dimère **78** et le monomère **71-M** sont 5155 cm⁻¹ et 5143 cm⁻¹ respectivement. Cette différence $\Delta = 12$ cm⁻¹ confirme que les faibles interactions électroniques à travers le *para*-carborane. Une modélisation moléculaire par la méthode AM1 a été effectuée pour le composé **78** (**Figure 142**).

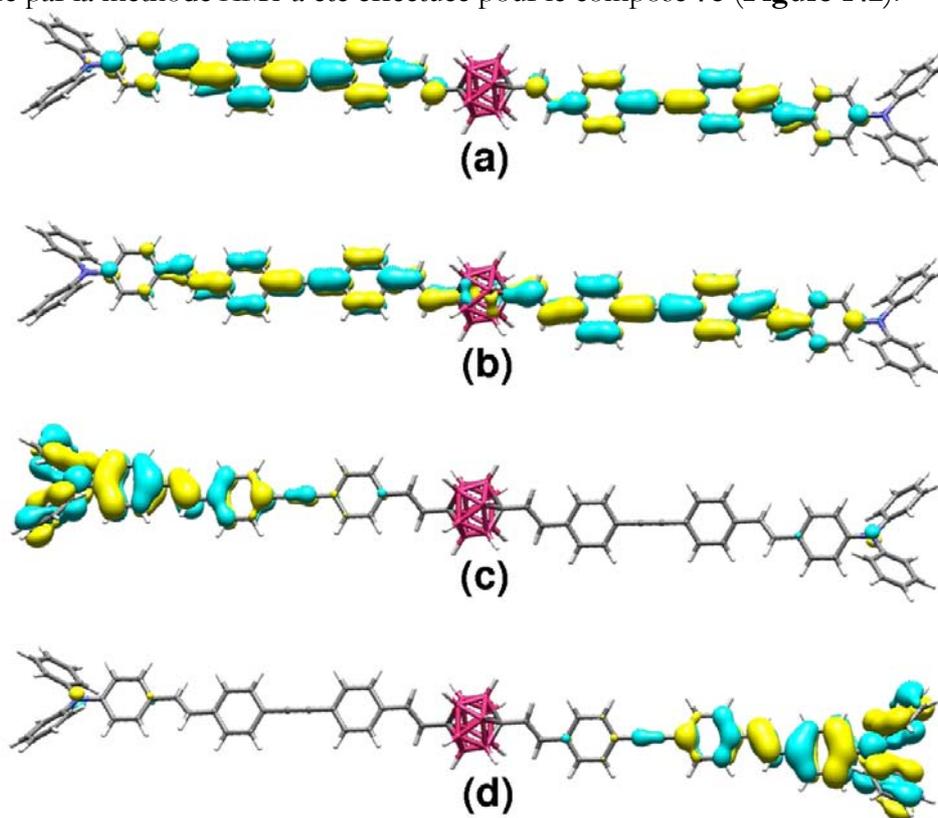


Figure 142 Orbitales moléculaires calculés par la méthode AM1 du chromophore **78** : (a) LUMO +1 ($E = -0,8948$ eV); (b) LUMO ($E = -0,9503$ eV); (c) HOMO ($E = -7,8717$ eV); (d) HOMO -1 ($E = -7,8751$ eV).

Contrairement à ce que nous avons pu déduire de l'analyse des propriétés photophysiques linéaires, il semble bien y avoir interaction entre les deux monomères (tout au moins dans l'état excité), car on observe un recouvrement orbitalaire à travers la cage carborane pour la LUMO (**Figure 142(b)**).

La mesure des propriétés photophysiques non-linéaires des deux composés a révélé un rapport de 2,3 entre les sections efficaces d'ADP de **78** et **71-M** à 820 nm (**Figure 143**). Ceci peut être une indication supplémentaire sur l'existence d'interactions à travers le *p*-carborane.

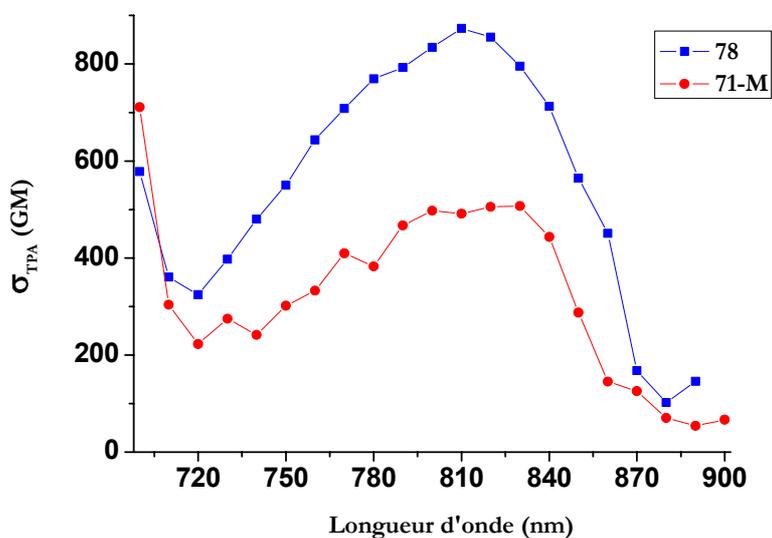


Figure 143 Spectres d'absorption à deux photons des composés **78** et **71-M** dans le dichlorométhane.

Les propriétés photophysiques biphotoniques du composé **78** ($\sigma_2 = 875$ GM à 810 nm), ainsi que sa forte contenance en bore (10 atomes de bore par cage) en font un candidat intéressant pour des chromophores multipropriétés.

IV.C. A TRAVERS LE PYRAZABOLE

Les interactions électroniques à travers le pyrazabole ont été étudiées de la même façon que dans le cas de l'étude des cyclodiborazane et *p*-carborane. Nous avons choisi le chromophore **59** qui contient le même groupe électrodonneur que les deux chromophores précédents **71** et **78**. Le monomère correspondant au chromophore **59** n'est plus le même, en effet il correspond au synthon **70**, dont la synthèse a été décrite auparavant. Pour faciliter la discussion, nous l'appellerons désormais **59-M** (**Figure 144**).

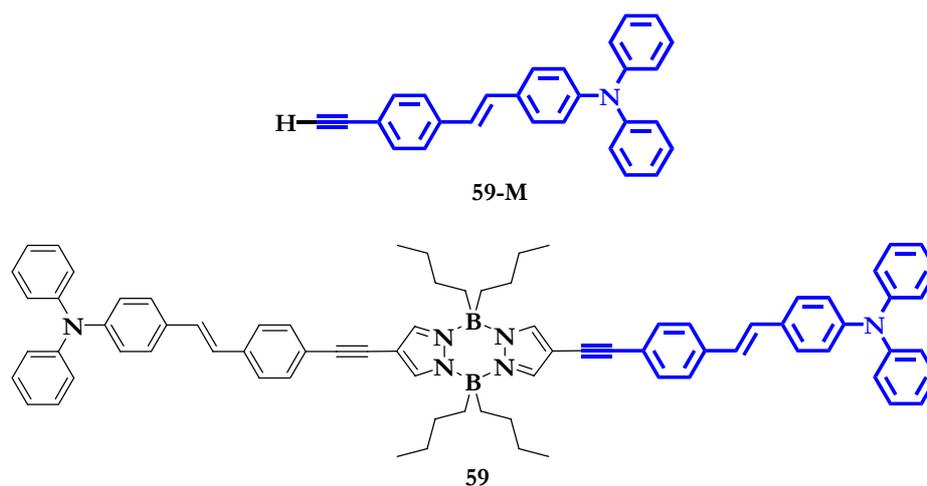


Figure 144 Structure du chromophore **59** (Dimère) et du composé **59-M** (Monomère).

Pour comprendre l'effet de l'incorporation du pyrazabole (cœur pseudo-conjugué) sur les propriétés photophysiques linéaires et non-linéaires du chromophore, nous avons préparé le chromophore à cœur diyne **75-N** (**Figure 145**). Notons que ce chromophore possède un système conjugué où la délocalisation électronique est possible tout au long de son squelette, ce qui n'est pas le cas pour le chromophore **59** (pseudo-conjugaison).

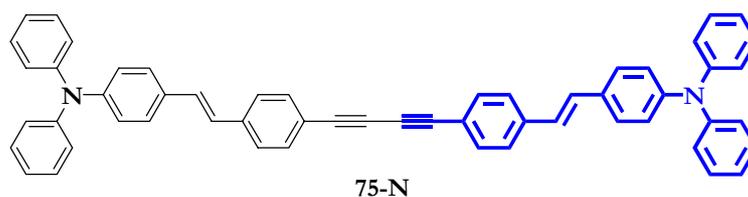


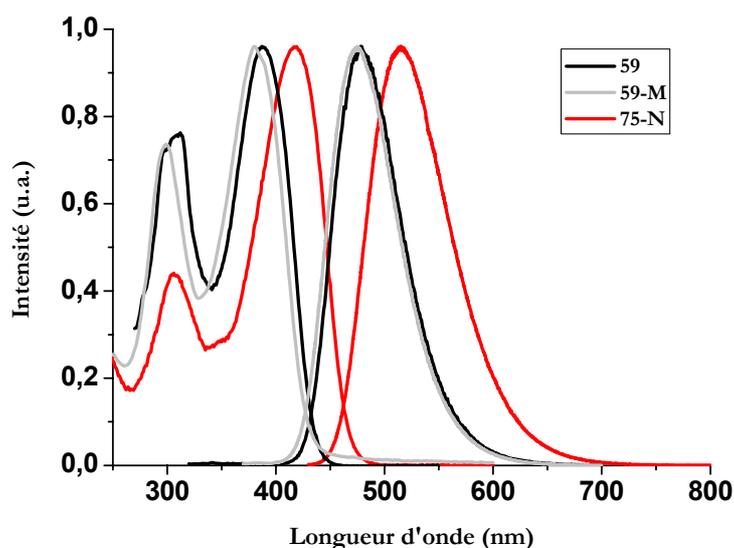
Figure 145 Structure du chromophore à cœur diyne **75-N**.

Nous avons tracé les spectres d'absorption et d'émission de ces trois composés dans le dichlorométhane. Nous avons également déterminé les différentes valeurs du coefficient d'extinction molaire, ainsi que le rendement quantique de fluorescence en prenant le sulfate de quinine comme référence ($\phi=54\%$ dans $0,1\text{ M}$ de H_2SO_4). Ces données photophysiques linéaires sont présentées dans le **Tableau 14**.

Tableau 14 Données photophysiques des composés **59**, **59-M** et **75-N** dans le dichlorométhane.

Composé	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Abs}}$ (nm)	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Em}}$ (nm)	$\epsilon \times 10^4$ ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)	ϕ (%)
59	387	479	7,4	57
59-M	380	475	2,0	46
75-N	417	515	7,6	42

La **Figure 146** montre le tracé des spectres d'absorption UV-visible et d'émission des composés **59**, **59-M** et **75-N** dans le dichlorométhane. Nous avons observé que les spectres d'absorption et d'émission du composé **59** présentent un effet bathochrome par rapport à ceux du composé **59-M** : 7 nm et 4 nm respectivement ce qui indique une faible interaction électronique. Alors que des déplacements bathochromes des spectres d'absorption et d'émission du composé **75-N** ont été clairement identifiés : 30 nm pour le spectre d'absorption et 36 nm pour le spectre d'émission indiquant une forte délocalisation électronique.

**Figure 146** Spectres d'absorption (gauche) et d'émission (droite) du chromophore **59**, du monomère **59-M** et du chromophore **75-N** dans le dichlorométhane.

Le léger déplacement vers le rouge des spectres d'absorption et d'émission du composé **59** par rapport à ceux du monomère indique a priori une très faible conjugaison entre les deux systèmes conjugués du monomère à travers le pyrazabole. Cependant, il existe une interaction car la valeur du coefficient d'extinction molaire du composé **59** ($\epsilon = 7,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$) n'est pas le double de celle du composé **59-M** ($\epsilon = 2 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$). L'explication de ces résultats devient plus claire en observant la valeur du coefficient d'extinction molaire du composé **75-N** (ϵ

$= 7,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$), où les deux systèmes conjugués sont liés par une liaison σ simple, donc en interaction forte. Cette valeur est très proche de celle observée pour le chromophore **59** ($\epsilon = 7,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$).

La modélisation moléculaire par la méthode AM1 appliquée sur la structure du chromophore **59** a montré que la densité de charge à travers le bore du pyrazabole est inexistante (**Figure 147**).

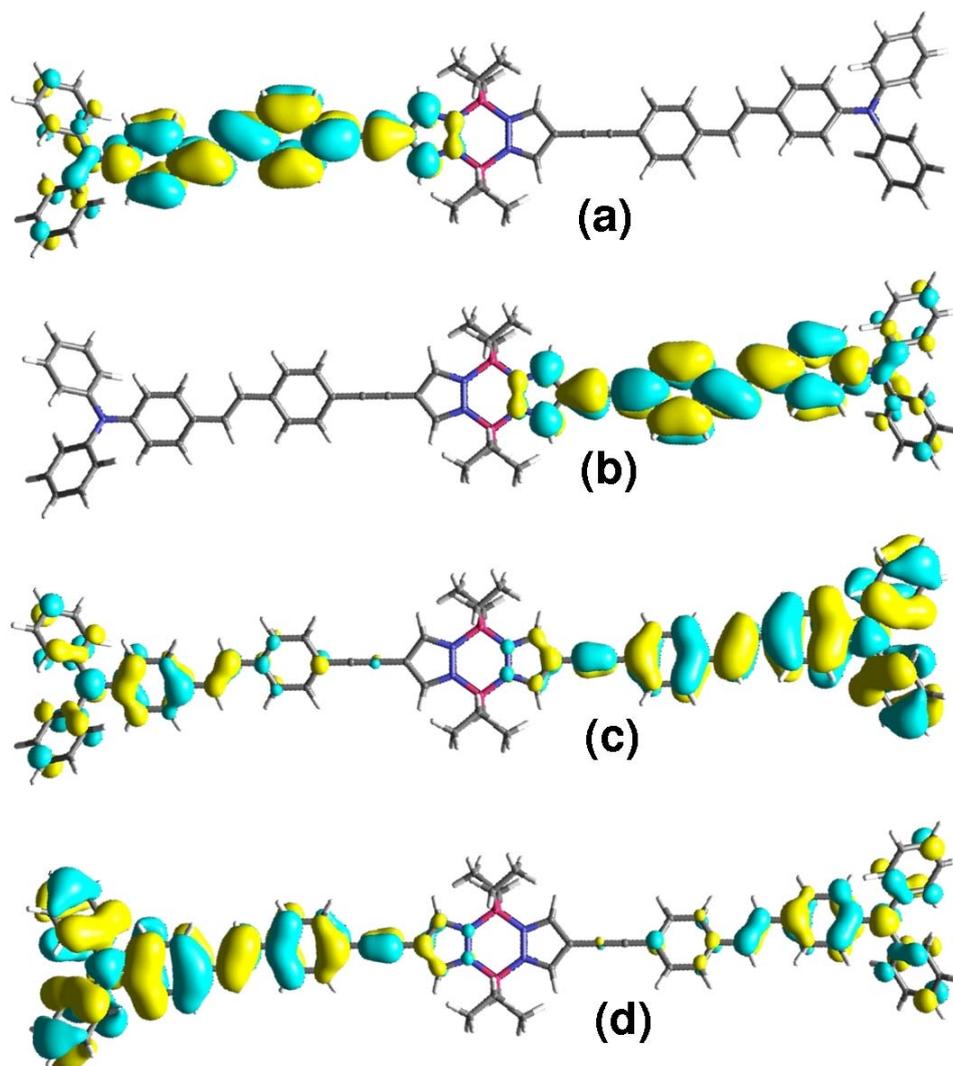


Figure 147 Orbitales moléculaires calculés par la méthode AM1 du chromophore **59**: (a) LUMO +1 ($E = -0,7403 \text{ eV}$); (b) LUMO ($E = -0,7432 \text{ eV}$); (c) HOMO ($E = -7,8619 \text{ eV}$); (d) HOMO -1 ($E = -7,8640 \text{ eV}$).

La modélisation a montré que les orbitales HOMO-1 et HOMO, LUMO et LUMO+1 sont quasi dégénérées en énergie. Dans le cas des orbitales HOMOs nous constatons que, la densité électronique est la même sur chaque côté du chromophore. Les états LUMOs montrent un recouvrement partiel sur un seul côté du chromophore, et aucune interaction électronique à travers le cycle à six ne semble pas possible. Notons que la distance entre deux atomes d'azote

opposés est de l'ordre de $2,61 \text{ \AA}$, ce qui est assez faible pour permettre une interaction entre les deux groupements pyrazole du pyrazabole.

Sur le plan expérimental, nous avons mesuré les propriétés photophysiques non-linéaires des composés **59**, **59-M** et **75-N** dans le dichlorométhane, dans la région 720 - 880 nm (**Figure 148**).

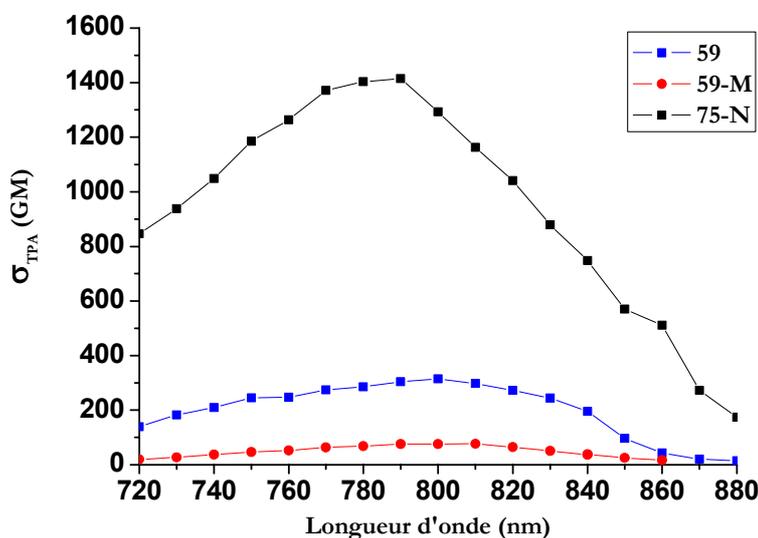


Figure 148 Spectres d'absorption à deux photons des composés **59**, **59-M** et **75-N** dans le dichlorométhane.

Un rapport de l'ordre de 4,2 a été trouvé entre les maxima (à 800 nm) des spectres d'ADP du composé **59** et du monomère **59-M**, ce qui indique une interaction à travers le pyrazabole, que nous n'avons pas observée sur les propriétés photophysiques linéaires, ni par la modélisation moléculaire. Notons toute fois que le composé **75-N** présente une forte section efficace d'ADP et sera étudié par la suite dans d'autres chromophores.

V. ETUDE DE LA STEREOISOMERIE DE DEUX STEREOISOMERES DE CYCLODIBORAZANE PAR RMN

Comme nous l'avons mentionné dans le paragraphe II.B.2, la séparation de deux stéréoisomères dans le cas de dibromocyclodiborazane **66** a été possible. Ces deux isomères possèdent bien deux spectres ^1H -RMN différents, qui indiquent la présence de deux géométries très différentes entre les deux isomères. En se reposant sur les résultats obtenus dans le paragraphe IV.A, sur la structure cristallographique du chromophore **71(D)**, et les calculs théoriques des énergies de formation de chaque isomère, nous avons pu proposer que ces deux isomères soient le *trans-anti* et le *trans-syn* (**Figure 149**).

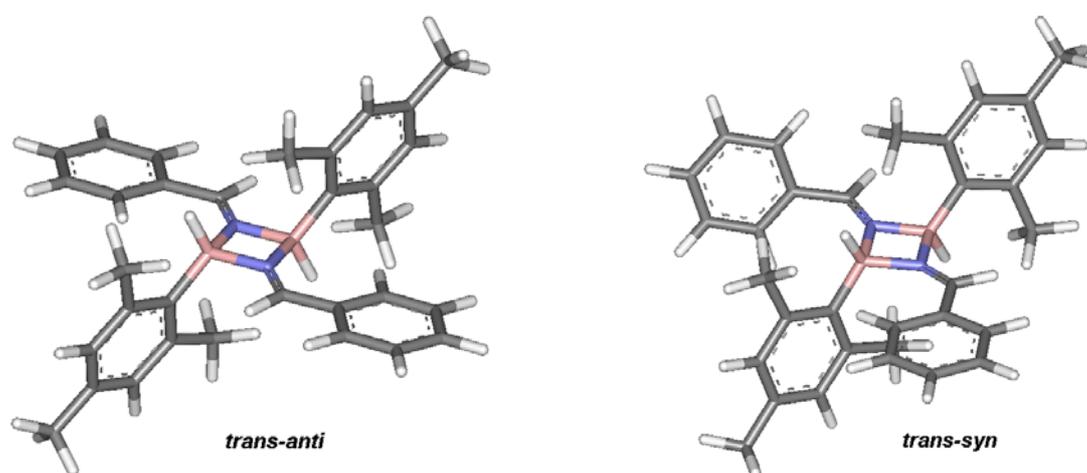


Figure 149 Structures de deux isomères proposés du composé **66**.

Comme nous pouvons l'observer dans la **Figure 149**, la symétrie des deux isomères est différente. Pour l'isomère *trans-anti*, nous pouvons voir un plan de symétrie latéral, alors que le plan de symétrie possible pour le *trans-syn* est longitudinal. Cette différence de symétrie rend les environnements des protons des mésityles, entre autres, très différents (**Figure 150**). Les spectres ^1H -RMN des ces deux isomères dans le chloroforme deutéré (CDCl_3) sont présentés dans la **Figure 150**.

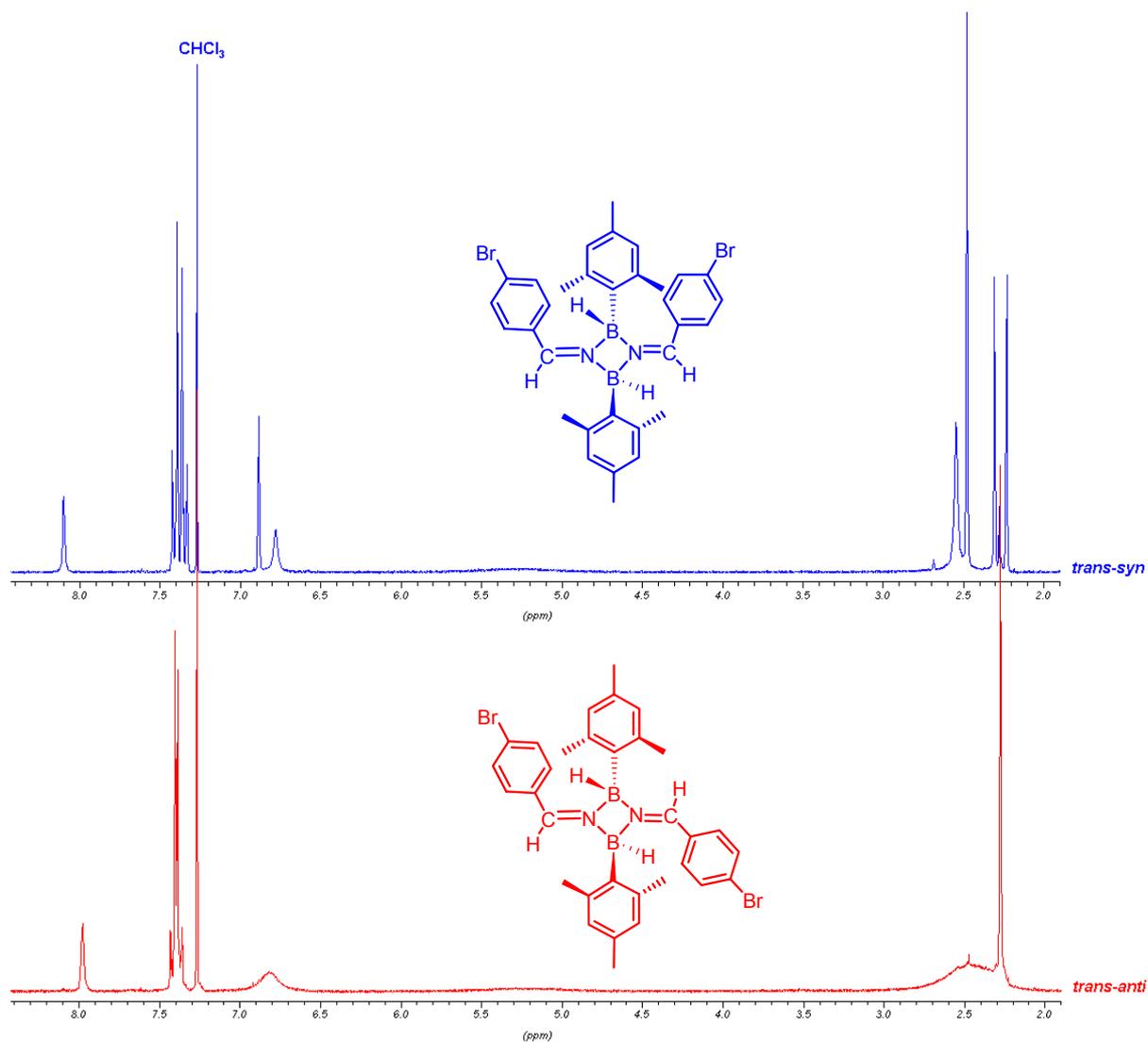


Figure 150 Spectres ¹H-RMN des deux isomères *trans-syn* (bleu) et *trans-anti* (rouge) du composé **66**.

La différence existe aussi bien pour les protons aromatiques que pour les protons aliphatiques.

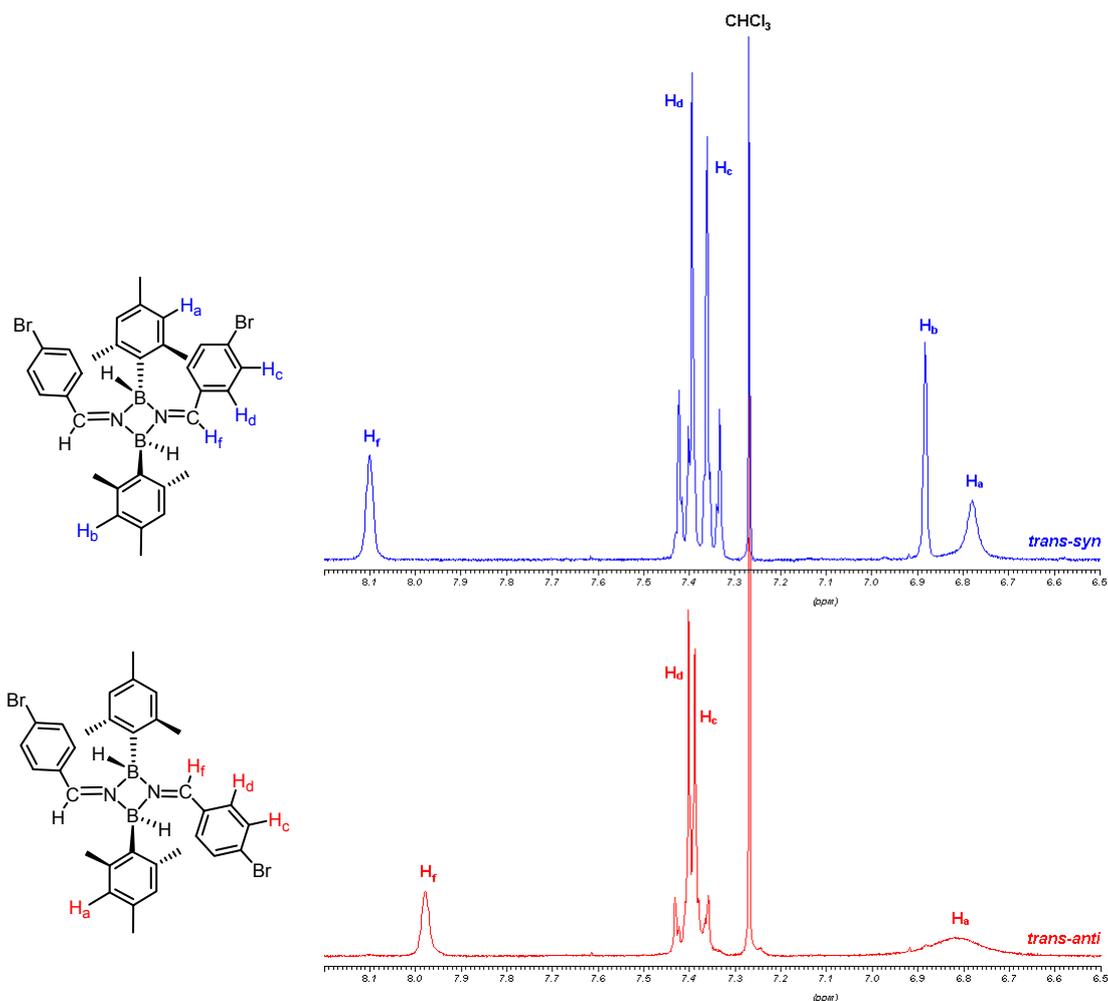


Figure 151 Parties correspondantes aux protons aromatiques des deux isomères du composé **66**.

Le spectre de l'isomère *trans-syn* montre un blindage de l'ordre de 0,12 ppm du proton de l'imine ($-\text{CH}=\text{N}<$), où le pic correspondant a été observé vers 8,10 ppm. Ainsi, les deux systèmes AB obtenus n'ont pas la même constante de couplage ($J_{\text{trans-anti}} = 9,00 \text{ Hz}$ et $J_{\text{trans-syn}} = 8,76 \text{ Hz}$). Cela indique que les groupements phényles portant l'atome de brome n'ont pas les mêmes environnements magnétiques. Les deux groupements mésityles de l'isomère *trans-anti* se trouvent dans deux environnements identiques, ce qui fait que leurs protons sont magnétiquement semblables. Cependant, suite à la rotation entravée du groupement mésityle, le pic correspondant à ces protons devient large, alors que les deux groupements mésityles dans le cas de l'isomère *trans-syn* sont magnétiquement différents. Les protons de chaque mésityle résonnent à des fréquences différentes. La rotation du mésityle situé entre les deux groupements phényles est bloquée, ce qui entraîne l'apparition d'un signal large des protons correspondant, tandis que celle de l'autre mésityle reste libre, et les pics des protons correspondant se présentent sous la forme de singulet fin (**Figure 151**).

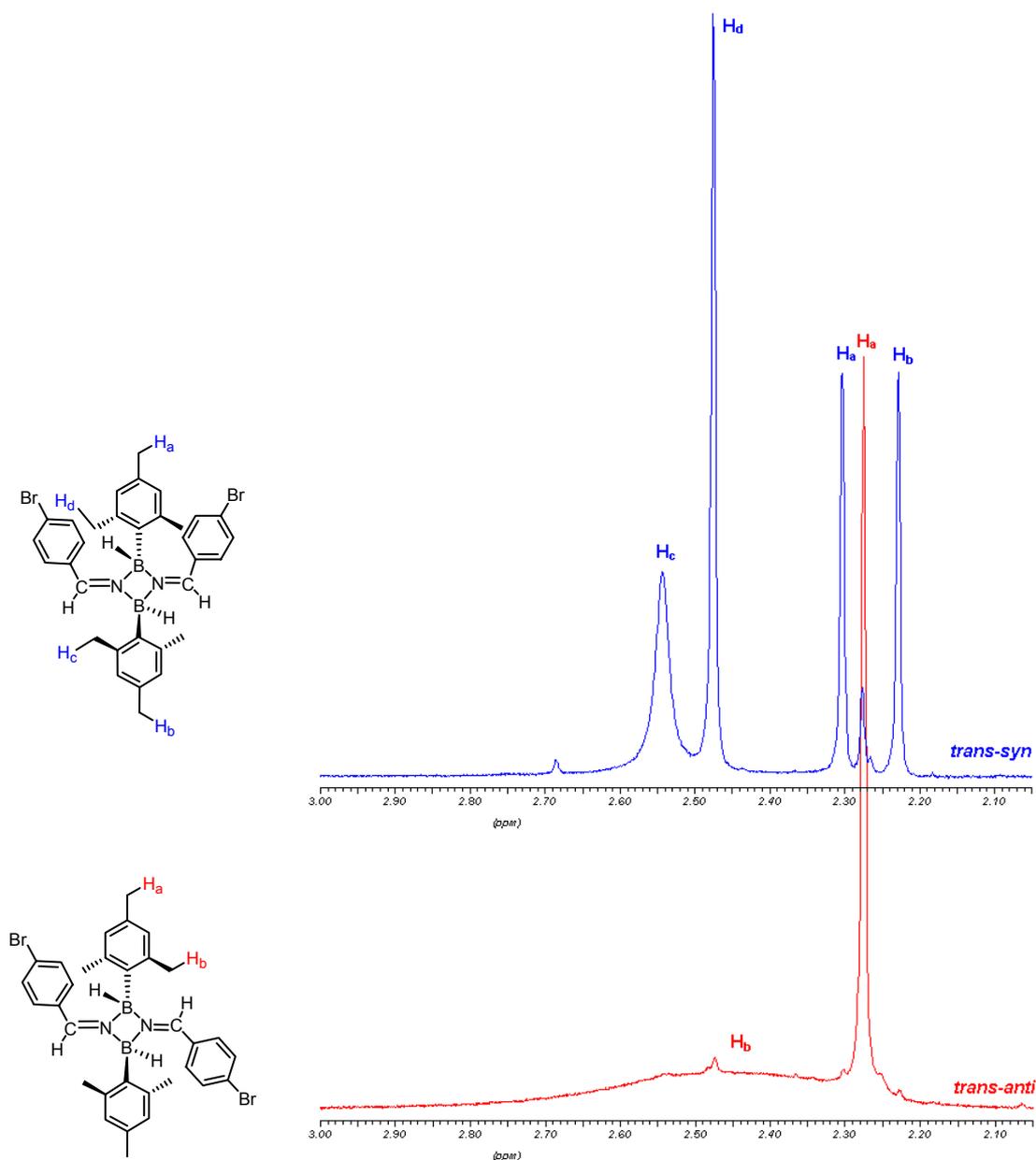


Figure 152 Parties correspondantes aux protons aliphatiques des deux isomères du composé **66**.

La ressemblance (cas du *trans-anti*) ou la différence (cas du *trans-syn*) des groupements mésityles affectent d'une façon remarquable la partie correspondant aux protons aliphatiques du spectre RMN de chaque isomère. Les protons du groupement méthyle en position *para*, dans le cas de l'isomère *trans-anti* sont identiques. Ces deux méthyles possèdent une rotation libre, et par conséquent le pic correspondant à ces protons est un singulet fin (2,27 ppm), tandis que dans le cas de l'isomère *trans-syn*, les deux groupements mésityles en position *para* ne sont pas identiques. Le groupement méthyle en *para* du mésityle situé entre les deux groupements phényles, se trouve

dans le cône de blindage de ces deux derniers (2,30 ppm), ce qui entraîne un blindage de 0,07 ppm par rapport à celui du groupement méthyle en *para* du deuxième mésityle (2,22 ppm).

De même, les protons des groupements méthyles en position *ortho*, dans le cas de l'isomère *trans-anti* sont identiques. La rotation de ces groupements est en partie freinée à cause de l'encombrement stérique du groupement phényle voisin, ce qui explique l'apparition d'un large pic correspondant à ces protons (2,10-2,90 ppm). Dans le cas de l'isomère *trans-syn*, les groupements méthyles en *ortho* ne sont pas identiques d'un mésityle à un autre. Les protons des deux groupements méthyles en *ortho* du mésityle situé entre les deux phényles donnent un signal large (2,54 ppm), à cause de leur rotation freinée, ainsi que leur position dans le cône de blindage des deux phényles. Les protons des groupements méthyles du deuxième mésityle possèdent une libre rotation, ce qui explique l'obtention d'un singulet fin moins blindé vers 2,47 ppm.

Finalement, le proton porté par l'atome de bore a été observé sous forme d'un large signal situé entre 4,4 et 6,1 ppm (**Figure 153**). Aucune différence remarquable entre ces deux signaux de deux isomères n'a été observée.

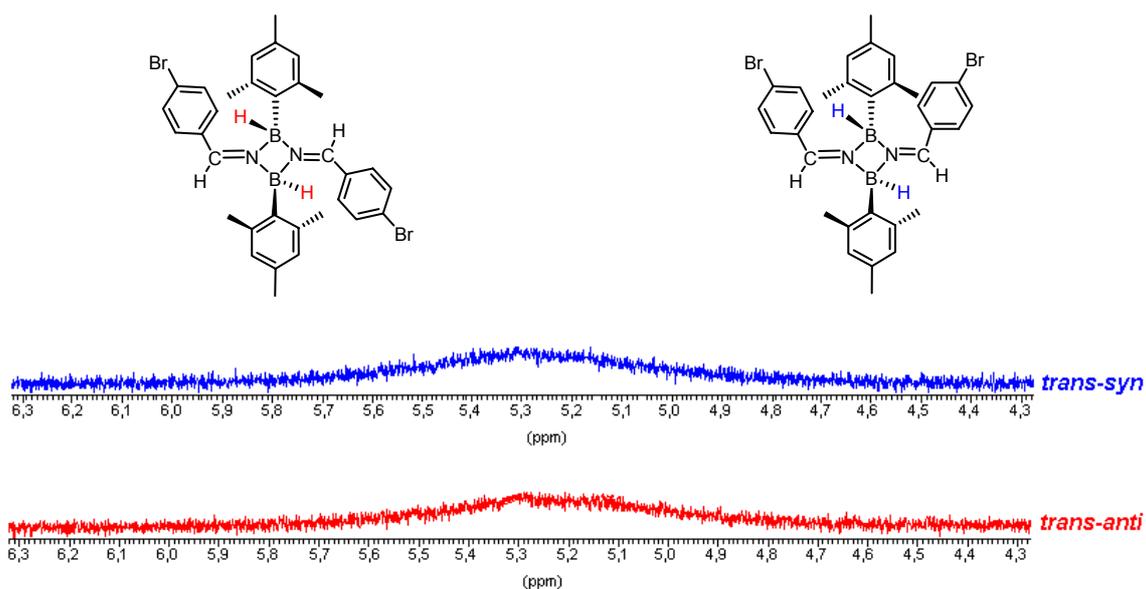


Figure 153 Parties correspondant aux protons aliphatiques des deux isomères du composé **66**.

Expérimentalement, l'isomère *trans-syn* est le produit majoritaire (60 %) de la réaction de formation de dibromocyclodiborazane (40 % de l'isomère *trans-anti*). Dans le cas de la réaction de formation de diiodocyclodiborazane (composé **67**), la séparation des deux isomères obtenus a été impossible. En effet, cette fois les deux isomères se forment avec la même proportion (50 % pour chacun).

VI. CONCLUSION

Deux critères importants ont dirigé nos travaux d'ingénierie moléculaire et de synthèse des chromophores : la pseudo-conjugaison et l'incorporation d'atomes de bore. En prenant en compte ces deux critères, trois cœurs ont été choisis pour les chromophores : le pyrazabole, le cyclodiborazane et le *p*-carborane. Ces trois cœurs ont été incorporés dans différentes structures organiques afin d'élaborer trois séries de chromophores conjugués absorbants à deux photons et contenant du bore.

Les propriétés photophysiques à un et deux photons des ces chromophores se sont avérées très intéressantes pour des applications biologiques, en raison des valeurs élevées de leurs sections efficaces d'absorption à deux photons, ainsi que de leurs rendements quantiques de fluorescence importants. D'autre part, les interactions électroniques au sein de ces chromophores à travers les trois cœurs ont été étudiées, que ce soit à partir des propriétés photophysiques linéaires et non-linéaires, ainsi qu'à partir de calculs théoriques (modélisation moléculaires par la méthode AM1). Si les cœurs pyrazabole et *p*-carborane ont montré des interactions électroniques modestes à travers leurs squelettes moléculaires, le cyclodiborazane, quant à lui, s'est révélé très favorable pour de fortes interactions électroniques entre les deux systèmes conjugués.

CHAPITRE IV

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

I. CONCLUSIONS

Lors de ce travail de thèse un important travail d'ingénierie moléculaire a été effectué afin d'obtenir des chromophores spécifiquement étudiés pour des applications biologiques. Ce travail de chimie organique, réellement multidisciplinaire, a été suivi d'une interaction très importante avec des physiciens (optique linéaire et non-linéaire) et avec des biologistes qui ont utilisé ces chromophores (microscopie à deux photons).

La première partie de ce travail a consisté à synthétiser deux séries de chromophores solubles dans l'eau, absorbants à deux photons et fluorescents dans le bleu. Une des séries possède une architecture symétrique et l'autre dissymétrique permettant une bio-conjugaison. En ce qui concerne la série des chromophores d'architecture symétrique, la solubilité dans l'eau a été induite par de chaînes oligo-éthylène glycol (OEG) de différentes tailles, afin d'obtenir des molécules bio-compatibles (soluble dans l'eau) et neutres (non-ionique). De plus, ces différentes tailles de chaînes OEG ont permis le contrôle de la solubilité dans l'eau ainsi que la masse molaire du colorant. Les propriétés photophysiques linéaires et non-linéaires ont été optimisées (passage du cœur biphenyle twisté au cœur fluorényle plan). Les chromophores symétriques se sont avérés très soluble dans l'eau et présentent un fort coefficient d'absorption à deux photons (ADP), ceci nous a encouragés à les fonctionnaliser en modifiant une de deux parties périphériques tout en gardant la deuxième intacte, pour conserver une bonne solubilité dans l'eau. Ceci a conduit à des dérivés dissymétriques. Pour cette série, nous avons utilisé deux types de fonctionnalisation : soit un groupement isothiocyanate qui permet d'obtenir un chromophore amino-réactif, soit un macrocycle azoté, le cyclène, qui permet de complexer des lanthanides, pour aboutir à un chromophore magnétiquement actif.

Les caractérisations photophysiques à un et deux photons de tous les chromophores ont été réalisées. Les valeurs élevées de leurs rendements quantiques de fluorescence dans l'eau ainsi que leurs section efficace d'absorption à deux photons (σ_2) ont permis plusieurs applications biologiques en particulier en microscopie de fluorescence à deux photons. Ces chromophores ont été utilisés à deux niveaux différents : cellulaire (cellules vivantes et cellules fixées) et petit animal (souris). Les chromophores symétriques se sont avérés être, à notre connaissance, les premiers colorants cytoplasmiques bleus optimisés à deux photons (coloration sélective du cytoplasme cellulaire). De plus, grâce à leurs coefficients de partage *n*-octanol/eau, qui se situent dans la fenêtre optimale pour la pénétration dans le système nerveux central et l'absorption orale, le chromophore **14** s'est montré capable de franchir la barrière hémato-encéphalique (BHE) et de colorer des cellules qui baignent dans l'espace extracellulaire du cortex.

Les chromophores amino-réactifs, quant à eux, ont été utilisés pour réaliser une bio-conjugaison avec une protéine (un anticorps précisément) ou un polymère d'intérêt biologique (polyéthylène imine PEI). Dans une première utilisation, le couplage d'un chromophore amino-réactif à un anticorps monoclonal a permis de localiser la protéine correspondant à l'anticorps, sans recours à l'utilisation d'un anticorps secondaire commercial, car le signal de fluorescence du chromophore est facilement détectable. Dans une seconde utilisation, le chromophore amino-réactif a été, couplé au PEI. Ce conjugué chromophore/PEI est ensuite complexé à un ADN donné. Il a ensuite été possible de suivre le mécanisme de la transfection non-virale de gènes, sans affecter l'efficacité de transfection du PEI. Finalement, le chromophore lié à un cyclène est complexé avec un Gadolinium III est en cours d'étude et les projets envisagés seront discutés dans le paragraphe suivant.

La deuxième partie de ce travail concernait un autre type d'application biologique, la Thérapie par Capture de Neutron par le Bore (BNCT en anglais). L'objectif consistait à combiner la microscopie de fluorescence par excitation à deux photons à cette thérapie. Ainsi, deux critères cruciaux (présence du bore et efficacité en ADP) intervenaient lors du travail d'ingénierie moléculaire des nouveaux matériaux. Ces travaux ont par ailleurs permis l'étude des interactions électroniques entre deux systèmes conjugués à travers d'un système pseudo-conjugué (cœur central dans notre cas). Pour ce faire, nous avons choisi trois cœurs centraux différents pseudo-conjugué et contenant du bore : le pyrazabole, le cyclodiborazane (2 atomes de bore/molécule), et le *p*-carborane (10 atomes de bore/molécule). Pour étendre notre étude sur les interactions électroniques, nous avons sélectionné trois types de groupes électrodonneurs : dérivés alkoxy, dérivé azoté et dérivé de BODIPY (boron-dipyromethene). L'effet de la taille du système conjugué a par ailleurs été également étudié dans le cas des chromophores à cœur pyrazabole. Ainsi, les interactions électroniques à travers les trois cœurs ont été étudiées, que ce soit à partir des propriétés photophysiques linéaires, non-linéaires des chromophores, ainsi qu'à partir de calculs théoriques (modélisation moléculaires par la méthode AM1). Parmi ces trois cœurs, le cyclodiborazane s'est avéré le plus intéressant.

II. PERSPECTIVES

Les travaux futurs concernant la première partie, consisteront dans un premier temps, à élaborer des colorants ayant les mêmes propriétés que les chromophores symétriques ou dissymétriques déjà préparés, mais qui fluorescent dans le rouge ou le proche infrarouge, afin de diminuer l'absorption et la dispersion de la lumière émise par les tissus biologiques. D'après ce qui a été vu dans le chapitre III, plus on augmente la taille du système conjugué et la force du groupement donneur, plus l'effet bathochrome devient important. Ainsi, de nouveaux

groupements donneurs azotés et solubles dans l'eau sont à l'étude. Ils présentent eux aussi des groupements OEG pour induire la solubilité dans l'eau tout en gardant des molécules neutres (**Figure 1**).

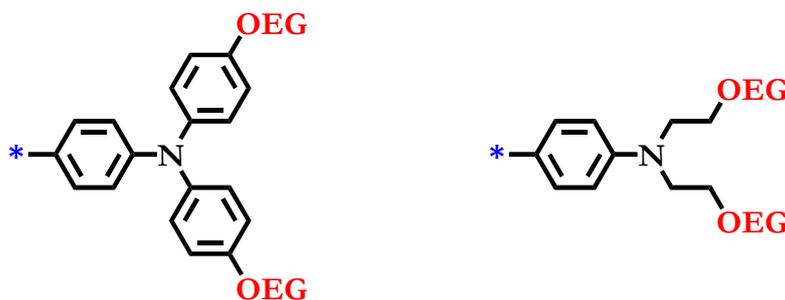


Figure 1 Groupements électrodonneurs proposés pour des futurs chromophores efficaces en ADP et solubles dans l'eau.

Ces chromophores fluorescents dans le rouge ou infrarouge devraient permettre, entre autre, l'imagerie biphotonique intravitale du cerveau de la souris sans pratiquer la craniotomie, afin de minimiser l'invasivité de la technique.

Le chromophore cyclène est le premier d'une série qui pourra être utilisé dans deux applications différentes : combiner la microscopie à deux photons avec l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) ou avec la thérapie par photoactivation. Cette dernière consiste à l'injection au cœur du volume tumoral d'une molécule contenant un élément lourd (Gadolinium III dans notre cas). L'injection est suivie par une irradiation 24 heures plus tard de ce même volume par rayonnement synchrotron dont l'énergie est légèrement supérieure au K-Edge de l'élément. Un électron de la couche K de l'élément va être arraché et va pouvoir induire des dégâts cellulaires irréversibles au niveau de la tumeur de façon directe (photoélectron) ou indirecte (cascade d'électrons Auger). L'irradiation a lieu en mode tomographique, centré sur le volume tumoral, afin de minimiser la dose imposée aux tissus sains (**Figure 2**). Les études *in-vitro* et *in-vivo* sur ce chromophore sont actuellement en cours.

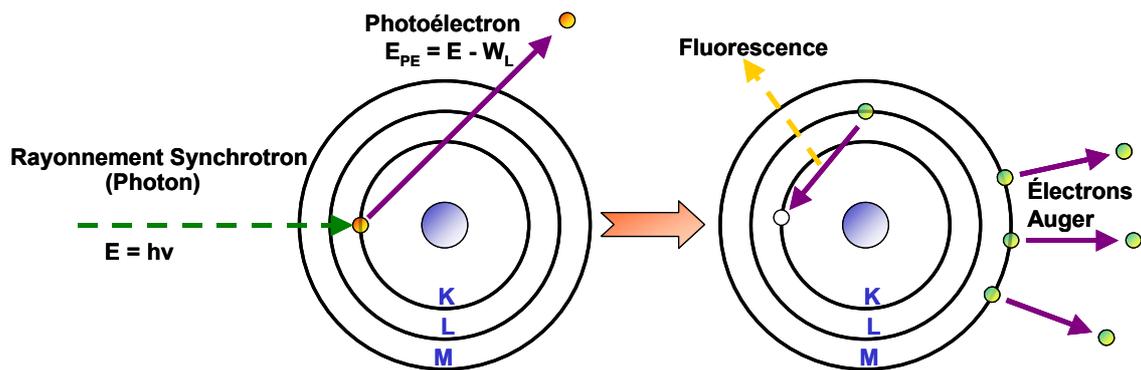


Figure 2 Schéma de principe de la thérapie par photoactivation.

D'autre part, nous nous proposons de modifier les chromophores contenant de bore sélectionnés (comme le chromophore **83**) afin de les rendre solubles dans l'eau afin de réaliser des tests d'accumulation dans les cellules tumorales, ainsi que des tests de thérapie par capture de neutrons.

Il est aussi important de continuer les études sur les interactions électroniques afin de bien comprendre les différents mécanismes d'interaction électronique (conjugaison, pseudo-conjugaison, couplage excitonique,...) ainsi que leur effet et leur importance relative sur les sections d'absorption à deux photons.

PARTIE EXPERIMENTALE

GENERALITES

I. APPAREILS ET SERVICES

I.A. RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE (RMN)

Les spectres de RMN du proton (^1H) et du carbone-13 (^{13}C) de tous les produits ont été enregistrés sur la machine de spectromètre de Brucker AVANCE 300 (300 MHz) au sein de notre groupe. Les spectres de RMN du bore-10 ont été enregistrés sur la machine de spectromètre de Brucker AVANCE 400 (400 MHz) à l'école européenne de chimie, polymères et matériaux de Strasbourg (ECPM) à l'Université Louis Pasteur - Strasbourg. La référence interne des spectres correspond au pic du solvant non deutéré (CD_2Cl_2 : 5,23 ppm ; THF : 1,7 et 3,55 ppm ; MeOH : 3,38 ppm ; DMSO : 2,49 ppm et CDCl_3 : 7,27 ppm en ^1H -RMN et 77,0 ppm en ^{13}C -RMN). Les attributions sont données de la façon suivante : déplacement chimique en ppm par rapport à la référence interne, puis entre parenthèse :

1. multiplicité du signal (s : singulet ; d : doublet ; dd : doublet dédoublé ; t : triplet ; m : multiplet),
2. constante(s) de couplage,
3. nombre de protons.

I.B. SPECTROSCOPIE DE MASSE

Les spectres de masse ont été effectués par le Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bioorganique, Université Louis Pasteur - Strasbourg.

I.C. ETUDES PHOTOPHYSIQUES

Les spectres UV-visible ont été mesurés sur un spectrophotomètre Hitachi U-3000.

Les spectres d'émission et d'excitation ont été mesurés sur un spectromètre PTI (Photon Technology International) mené d'un moteur MD-5020, une lampe LPS-220B (Lamp Power Supply), et un détecteur 814 (Photomultiplier Detection System).

II. SUPPORTS CHROMATOGRAPHIQUES

II.A. CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE SUR COLONNE

Silice : silica gel 60 (230-400 mesh, 0,040-0,063 mm), E, Merck

Alumine: oxyde d'aluminium 90 standardisé, E, Merck.

II.B. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

Silice : plaque d'aluminium recouverte de gel de silice 60 F₂₅₄, E, Merck.

Alumine : plaque Polygram Alox N/UV 254-0,2 mm d'oxyde d'aluminium avec indicateur de fluorescence, Macherey-Nagel.

III. SOLVANTS ET REACTIFS

Tous les solvants anhydres ont été obtenus par distillations sous argon sur un desséchant approprié (le THF sur sodium/benzophénone et le Et₃N sur KOH). Les autres solvants anhydres sont commerciaux (DMF, éthanol absolu, méthanol absolu, toluène, benzène, acétonitrile, DMSO). Tous les produits et réactifs commerciaux ont été utilisés sans traitement préalable.

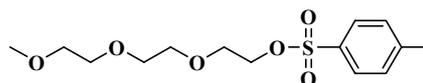
PARTIE EXPERIMENTALE

CHROMOPHORES ABSORBANTS A DEUX PHOTONS SOLUBLES DANS L'EAU :

APPLICATIONS EN IMAGERIES BIOLOGIQUES

Tosylate de monométhyléther triéthylène glycol (1a)

$C_{14}H_{22}O_6S$
Masse molaire (g/mol) : 318,39

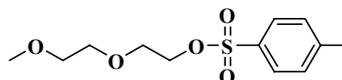


Dans un ballon bicol on dissout 50 g de chlorure de *p*-toluènesulfonyl (0,26 mol ; 1 éq.) dans 180 mL de pyridine. Le mélange réactionnel est refroidi à 5°C (Bain glace-eau), puis le triéthylène glycol (44 g ; 0,27 mol ; 1,10 éq.) est additionné lentement. Après l'addition, le mélange est agité pendant 15 minutes à 5 °C et versé dans l'eau glacée (300 mL). Le produit est extrait par 300 mL de dichlorométhane. La phase organique est ensuite lavée avec HCl 6N (3x150 mL) puis avec de l'eau (150 mL), et séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite pour obtenir **1a** sous forme d'une huile jaune (m = 71 g ; Rdt. = 86 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,79 (d, 2H, J = 8,55 Hz), 7,35-7,32 (dd, 2H, J₁=8,55 Hz, J₂=0,65 Hz), 4,15 (t, 2H, J = 4,83 Hz), 3,68 (t, 2H, J = 5,04 Hz), 3,61-3,52 (m, 8H), 3,37 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

Tosylate de monométhyléther diéthylène glycol (1b)

$C_{12}H_{18}O_5S$
Masse molaire (g/mol) : 274,33

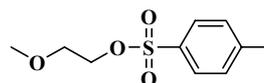


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **1a** en utilisant 50 g de chlorure de *p*-toluènesulfonyl (0,26 mol ; 1 éq.) et 32,40 g de diéthylène glycol (0,27 mol ; 1,1 éq.) dans 180 mL de pyridine. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 58 g ; Rdt. = 82 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,82 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,35-7,32 (dd, 2H, J₁=7,89 Hz, J₂=0,44 Hz), 4,18-4,15 (m, 2H), 3,70-3,67 (m, 2H), 3,59-3,54 (m, 2H), 3,50-3,46 (m, 2H), 3,34 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

Tosylate de monométhyléther monoéthylène glycol (**1c**)

$C_{10}H_{14}O_4S$
Masse molaire (g/mol) : 230,28

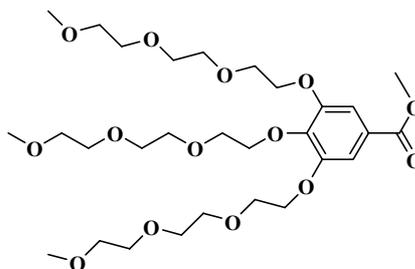


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **1a** en utilisant 50 g de chlorure de *p*-toluènesulfonyl (0,26 mol ; 1 éq.) et 44 g de monoéthylène glycol (0,27 mol ; 1,10 éq.) dans 220 mL de pyridine. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 51$ g ; Rdt. = 85 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,79 (d, 2H, $J = 8,33$ Hz), 7,35-7,32 (dd, 2H, $J_1=7,90$ Hz, $J_2=0,65$ Hz), 4,16-4,13 (m, 2H), 3,58-3,55 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

3,4,5-Tris-(monométhyléther triéthylène glycol)-benzoate de méthyle (**2a**)

$C_{29}H_{50}O_{14}$
Masse molaire (g/mol) : 622,70



On dissout 52,80 g de **1a** (0,14 mol ; 3,50 éq.) et 7,70 g de 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle « Méthyle gallate » (0,042 mol ; 1 éq.) dans 100 mL d'acétone. On additionne ensuite 57,50 g de K_2CO_3 (0,40 mol ; 10 éq.) et 100 mL d'acétone. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2 jours sous argon. Le mélange réactionnel est ensuite filtré sous vide sur célite. Le solvant est évaporé et l'huile brune obtenue est redissoute dans 500 mL de dichlorométhane. La phase organique est lavée avec 50 mL d'eau, 20 mL d'acide chlorhydrique et enfin 50 mL d'eau, puis est séchée sur MgSO_4 . Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange de dichlorométhane/méthanol (85/15 en volumes) comme éluant. On obtient **2a** sous forme d'une huile jaune ($m = 53$ g ; Rdt. = 60 %).

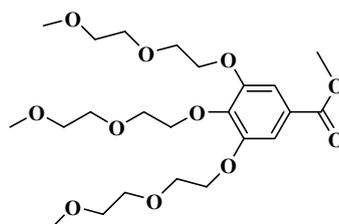
$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,28 (s, 2H), 4,17-4,23 (m, 6H), 3,88 (s, 3H), 3,86 (t, 4H, $J = 4,6$ Hz), 3,79 (t, 2H, $J = 5,05$ Hz), 3,73-3,69 (m, 6H), 3,67-3,60 (m, 12H), 3,57-3,47 (m, 6H), 3,37 (s, 9H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 166,57 ; 152,27 ; 142,54 ; 124,94 ; 109,01 ; 72,38 ; 71,90 ; 70,79 ; 70,66 ; 70,63 ; 70,56 ; 70,53 ; 70,49 ; 70,45 ; 69,60 ; 68,82 ; 58,98 ; 52,13 ; 31,71 ; 29,25.

✓SMHR : m/z 622,32005 (calculée pour C₂₈H₄₈O₁₃ m/z 622,32201).

3,4,5-Tris-(monométhyléther diéthylène glycol)-benzoate de méthyle (2b)

C₂₃H₃₈O₁₁
Masse molaire (g/mol) : 490,54



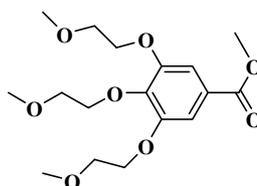
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **2a** en utilisant 39 g de **1b** (0,14 mol ; 3,50 équ.), 7,60 g de 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle « Méthyle gallate » (0,04 mol ; 1 équ.) et 57 g de K₂CO₃ (0,40 mol ; 10 équ.) dans 200 mL d'acétone. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant une semaine sous argon. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange de dichlorométhane/méthanol (99/1 en volumes) comme éluant. On obtient **2b** sous forme d'une huile jaune (m = 12 g ; Rdt. = 61 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,28 (s, 2H), 4,25-4,19 (m, 6H), 3,87 (s, 3H), 3,86 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 3,80 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,72-3,69 (m, 6H), 3,56-3,51 (m, 6H), 3,37 (s, 6H), 3,36 (s, 6H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 166,57 ; 152,27 ; 124,97 ; 108,99 ; 72,47 ; 72,03 ; 71,98 ; 70,74 ; 70,58 ; 70,45 ; 69,62 ; 68,85 ; 59,03 ; 58,99.

3,4,5-Tris-(monométhyléther monoéthylène glycol)-benzoate de méthyle (2c)

C₁₇H₂₆O₈
Masse molaire (g/mol) : 358,38



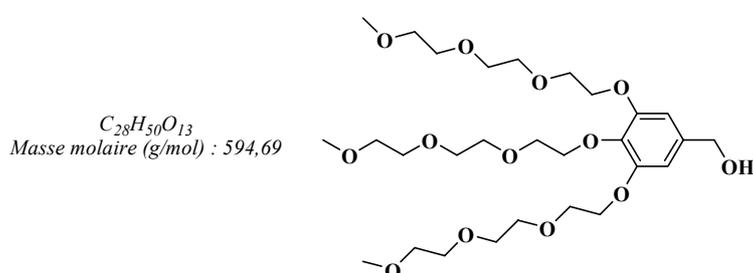
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **2a** en utilisant 15 g de **1c** (65 mmol ; 3,50 équ.), 3,43 g de 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle « Méthyle gallate » (18 mmol ; 1 équ.) et

25,70 g de K_2CO_3 (180 mmol ; 10 éq.) dans 200 mL d'acétone. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange de dichlorométhane/méthanol (99/1 en volumes) comme éluant. On obtient **2c** sous forme d'une huile jaune ($m = 3,90$ g ; Rdt. = 60 %)

\checkmark^1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,31 (s, 2H), 4,24-4,18 (m, 6H), 3,89 (s, 3H), 3,77 (t, 4H, $J = 4,81$ Hz), 3,72 (t, 4H, $J = 4,82$ Hz), 3,45 (s, 12H), 3,44 (s, 6H).

$\checkmark^{13}C$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 166,62 ; 152,41 ; 142,82 ; 125,04 ; 109,29 ; 72,30 ; 71,86 ; 70,97 ; 68,90 ; 59,16 ; 58,87 ; 52,18.

(3,4,5-Tris-[monométhyléther triéthylène glycol]-phényl)-méthanol (**3a**)



Sous argon, on dissout 5g de l'ester **2a** (8 mmol ; 1 éq.) dans 80 mL de THF anhydre. Le ballon est refroidi dans un bain de glace. On additionne 0,24 g de $LiAlH_4$ (6 mmol ; 0,75 éq.) par petites fractions. Ensuite le mélange réactionnel est réchauffé à température ambiante et porté à reflux sous argon pendant une nuit. L'excès de $LiAlH_4$ est neutralisé avec 1 mL d'acétate d'éthyle, 1 mL d'éthanol puis 10 mL d'eau. La solution est filtrée sur célite, puis extraite avec de dichlorométhane (2 x 250 mL). La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, et le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner **3a** sous forme d'une huile jaune ($m = 4,75$ g ; Rdt. = 99 %).

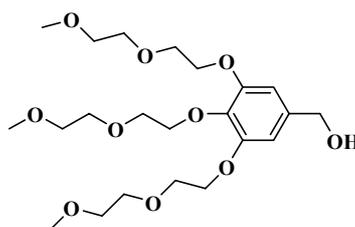
\checkmark^1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 6,62 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,18-4,11 (m, 6H), 3,83 (t, 4H, $J = 4,82$ Hz), 3,78 (t, 2H, $J = 5,04$ Hz), 3,74-3,67 (m, 6H), 3,66-3,57 (m, 12H), 3,56-3,52 (m, 6H), 3,375 (s, 3H), 3,372 (s, 6H).

$\checkmark^{13}C$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 152,62 ; 137,64 ; 136,83 ; 106,53 ; 72,23 ; 71,89 ; 70,73 ; 70,64 ; 70,53 ; 70,50 ; 70,45 ; 69,79 ; 68,78 ; 65,08 ; 58,96 ; 49,56.

\checkmark SMHR : m/z 594,32514 (calculée pour $C_{28}H_{48}O_{13}$ m/z 594,32568).

(3,4,5-Tris-[monométhyléther diéthylène glycol]-phényl)-méthanol (3b)

$C_{22}H_{38}O_{10}$
Masse molaire (g/mol) : 462,53



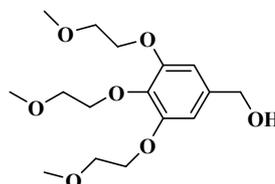
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **3a** en utilisant 10 g de l'ester **2b** (20 mmol ; 1 éq.), 0,59 g de $LiAlH_4$ (15 mmol ; 0,75 éq.) dans 150 mL de THF anhydre en chauffant à reflux pendant une nuit. Le produit **3b** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 7,87$ g ; Rdt. = 85 %).

1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 6,61 (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,18-4,12 (m, 6H), 3,84 (t, 4H, $J = 5,26$ Hz), 3,80 (t, 2H, $J = 4,83$ Hz), 3,73-3,69 (m, 6H), 3,57-3,54 (m, 6H), 3,37 (s, 9H).

^{13}C -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 152,65 ; 137,70 ; 136,56 ; 106,42 ; 72,31 ; 72,00 ; 71,95 ; 70,62 ; 70,49 ; 70,35 ; 69,78 ; 68,79 ; 65,23 ; 58,96.

(3,4,5-Tris-[monométhyléther monoéthylène glycol]-phényl)-méthanol (3c)

$C_{16}H_{26}O_7$
Masse molaire (g/mol) : 330,37



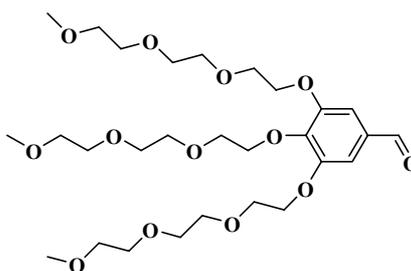
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **3a** en utilisant 3 g de l'ester **2c** (8 mmol ; 1 éq.), 0,24 g de $LiAlH_4$ (6 mmol ; 0,75 éq.) dans 80 mL de THF anhydre en chauffant à reflux pendant une nuit. Le produit **3c** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 2,58$ g ; Rdt. = 97 %).

1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 6,62 (s, 2H), 4,60 (s, 2H), 4,21-4,12 (m, 6H), 3,79-3,69 (m, 6H), 3,44 (s, 9H).

^{13}C -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 145,30 ; 133,72 ; 129,11 ; 105,20 ; 73,01 ; 72,75 ; 69,14 ; 53,96.

3,4,5-Tris-(monométhyléther triéthylène glycol)-benzaldéhyde (4a)

$C_{28}H_{48}O_{13}$
Masse molaire (g/mol) : 592,67



Dans un ballon de 250 mL, on dissout 4,60 g de l'alcool **3a** (7,70 mmol ; 1 éq.) dans 100 mL de dichlorométhane, puis on ajoute 7 g de MnO_2 (large excès ; 10 éq.). Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à température ambiante. On ajoute 7 g de $MgSO_4$, puis on filtre sur célite. Le solvant est évaporé sous pression réduite, pour obtenir **4a** sous forme d'une huile jaune (m = 4,60 g ; Rdt. = 96 %).

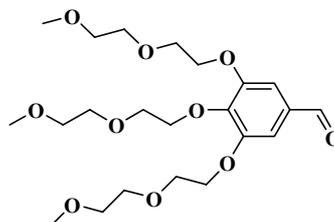
✓¹H-RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 9,81 (s, 1H), 7,13 (s, 2H), 4,28-4,2 (m, 6H), 3,87 (t, 4H, J = 4,61 Hz), 3,80 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,75-3,69 (m, 6H), 3,67-3,61 (m, 12H), 3,61-3,51 (m, 6H), 3,386 (s, 6H), 3,384 (s, 3H).

✓¹³C-RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 190,96 ; 153,04 ; 144,14 ; 131,58 ; 109,00 ; 72,53 ; 71,94 ; 70,85 ; 70,70 ; 70,68 ; 70,60 ; 70,58 ; 70,56 ; 70,53 ; 69,62 ; 68,98.

✓SMHR : m/z 592,30949 (calculée pour $C_{28}H_{48}O_{13}$ m/z 592,30888).

3,4,5-Tris-(monométhyléther diéthylène glycol)-benzaldéhyde (4b)

$C_{22}H_{36}O_{10}$
Masse molaire (g/mol) : 460,52



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **4a** en utilisant 4,23 g de l'alcool **3b** (9,10 mmol ; 1 éq.) et 7,90 g de MnO_2 (large excès ; 10 éq.) dans 100 mL de dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à température ambiante. Le produit **4b** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 4,17 g ; Rdt. = 99 %).

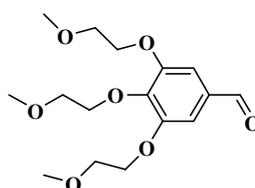
✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 9,82 (s, 1H), 7,14 (s, 2H), 4,18-4,12 (m, 6H), 3,88 (t, 4H, J = 5,26 Hz), 3,82 (t, 2H, J = 5,04 Hz), 3,74-3,70 (m, 6H), 3,58-3,52 (m, 6H), 3,38 (s, 6H), 3,37 (s, 3H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 190,95 ; 153,01 ; 144,05 ; 131,60 ; 108,91 ; 72,60 ; 72,02 ; 71,97 ; 70,76 ; 70,61 ; 70,47 ; 69,62 ; 68,95 ; 59,05 ; 59,01.

✓SMHR : m/z 460,23048 (calculée pour C₂₂H₃₆O₁₀ m/z 460,23085).

3,4,5-Tris-(monométhyléther monoéthylène glycol)-benzaldéhyde (4c)

C₁₆H₂₄O₇
Masse molaire (g/mol) : 328,36



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **4a** en utilisant 1,86 g de l'alcool **3c** (5,6 mmol ; 1 éq.) et 7 g de MnO₂ (large excès ; 10 éq.) dans 100 mL de dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à température ambiante. Le produit **4c** est une huile jaune (m = 1,76 g ; Rdt. = 96 %).

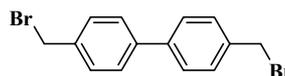
✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 9,83 (s, 1H), 7,15 (s, 2H), 4,27 (t, 4H, J = 4,6 Hz), 4,22 (t, 2H, J = 4,6 Hz), 3,78 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 3,73 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,45 (s, 6H), 3,44 (s, 3H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 190,95 ; 153,13 ; 144,29 ; 131,66 ; 109,15 ; 72,43 ; 71,86 ; 70,96 ; 70,94 ; 68,99 ; 68,90 ; 59,14 ; 58,87.

✓SMHR : m/z 328,15251 (Calculée pour C₁₆H₂₄O₇ m/z 328,15220).

4,4'-bis(bromométhyl)-1,1'-biphényle (5)

C₁₄H₁₂Br₂
Masse molaire (g/mol) : 340,05

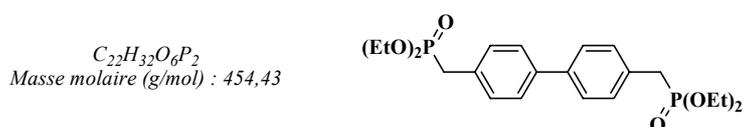


Dans un ballon bicol de 250 mL, on introduit 1 g de 4,4'-diméthylbiphényle (5,50 mmol ; 1 éq.), 2,14 g de N-bromosuccinimide (12 mmol ; 2,20 éq.), 10 mg de peroxyde de benzoyle et 20

mL de tétrachlorure du carbone. Le mélange est porté à reflux pendant 4 heures sous une lampe halogène de 300 W. Le succinimide obtenu insoluble est séparé par filtration et lavé avec du chloroforme. Les filtrats sont combinés et lavés avec une solution aqueuse de chlorure de sodium puis avec de l'eau. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le solide obtenu est cristallisé dans un mélange de CHCl₃/hexane pour donner des cristaux jaunes (m = 0,95 g ; Rdt. = 51 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,57-7,46 (AA'BB', 8H, J = 8,55 Hz), 4,55 (s, 4H).

4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphényle (6)



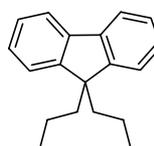
406 mg de 4,4'-Bis(bromométhyle)-1,1'-biphényle **5** (1,2 mmol ; 1 équ.) et 6 g de phosphite de triéthyle (36 mmol ; large excès) sont portés à reflux (165 °C) pendant 6 h. L'huile jaune clair obtenue est distillée sous pression réduite. L'excès de phosphite de triéthyle distille à 92 °C (6 mmHg) et le produit reste dans le ballon sous forme d'une huile jaune visqueuse (m = 507 mg ; Rdt. = 93 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,55-7,53 (d, 4H, J = 7,67 Hz), 7,38-7,34 (dd, 4H, J₁=2,42 Hz, J₂=5,92 Hz), 4,09-3,99 (m, 8H), 3,23-3,15 (d, 4H, J = 21,71 Hz) 1,27 (t, 12H, J = 7,23 Hz).

$\sqrt{^{13}\text{C NMR}}$, CDCl₃ ; (δ ppm) : 139,3 ; 130,7 ; 130,2 ; 127,1 ; 62,1 ; 32,3-34,5 ; 16,3.

9,9'-Di-*n*-propyl-fluorène (7)

$\text{C}_{19}\text{H}_{22}$
Masse molaire (g/mol) : 250,38



Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on introduit 16 g de fluorène (96 mmol ; 1 équ.), 32,50 g de *t*-BuOK (288 mmol ; 3 équ.) et 550 mL de DMSO. On agite pendant une heure, puis on ajoute 26 mL de 1-Bromopropane (35,42 g ; 288 mmol ; 3 équ.). Le mélange réactionnel est

agité pendant une nuit à température ambiante. Le mélange réactionnel est repris dans 200 mL d'eau, extrait avec dichlorométhane et lavé deux fois à l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant sous pression réduite on obtient une huile brune qui est purifiée par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec de l'hexane. Le produit **7** est obtenu sous forme d'un solide jaune ($m = 20 \text{ g}$; Rdt. = 80 %).

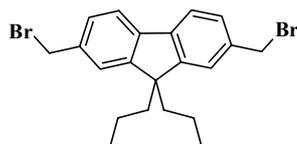
$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,71 (m, 2H), 7,32 (m, 6H), 2,03 (q, 4H, $J = 7,58 \text{ Hz}$), 0,32 (t, 6H, $J = 7,58 \text{ Hz}$),.

$^{13}\text{C NMR}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 150,80 ; 141,22 ; 127,13 ; 126,85 ; 122,98 ; 119,77 ; 55,34 ; 42,92 ; 17,31 ; 14,55.

$^{\checkmark}\text{SMHR}$: m/z 250,17215 (calculée pour $\text{C}_{19}\text{H}_{22}$ m/z 250,17230).

2,7-Bis(bromométhyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (**8**)

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{Br}_2$
Masse molaire (g/mol) : 436,22

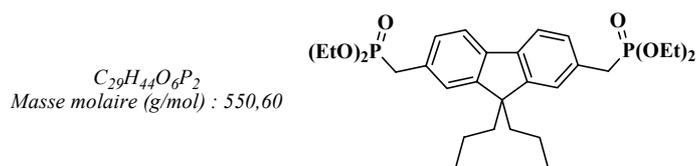


Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on introduit 20 g de **7** (0,08 mol, 1 éq.), 25 g de paraformaldéhyde (0,83 mol ; 10,40 éq.), 25 mL de H_3PO_4 (0,43 mol ; 5,4 éq.) et 170 mL de HBr (33% en masse dans l'acide acétique). Le mélange réactionnel est agité à 60 °C pendant 24 heures. Le mélange réactionnel est versé dans 250 mL d'eau, extrait au chlorure de méthylène et séché sur MgSO_4 . Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est un solide jaune. Après recristallisation dans l'hexane on obtient le produit désiré sous forme d'un solide blanc ($m = 15 \text{ g}$; Rdt. = 43 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,65-7,62 (d, 2H), 7,37-7,35 (m, 4H), 4,60 (s, 4H), 1,97-1,92 (m, 4H), 0,68-0,67 (m, 10H).

$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 151,64 ; 140,69 ; 136,90 ; 128,04 ; 123,62 ; 120,04 ; 55,31 ; 42,47 ; 34,39 ; 17,18 ; 14,43.

4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (9)

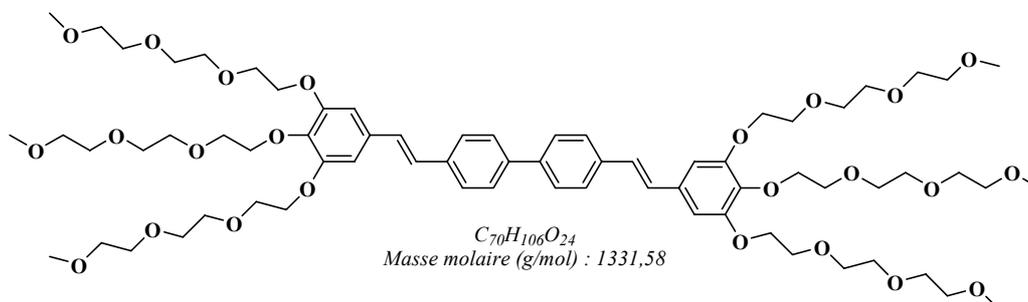


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **6** en utilisant 15 g de **8** (34 mmol ; 1 éq.), et un large excès de phosphite de triéthyle. L'excès de phosphite de triéthyle est distillé à 92 °C (6 mmHg) et le produit est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 17,78 g ; Rdt. = 95 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,61-7,58 (d, 2H), 7,24-7,23 (m, 4H), 4,03-3,97 (m, 8H), 3,23 (d, 4H), 1,96-1,93 (m, 4H), 1,23 (t, 12H), 0,64-0,63 (m, 10 H).

$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 150,95 ; 139,55 ; 130,23 ; 128,39 ; 124,17 ; 119,58 ; 62,17 ; 62,07 ; 55,08 ; 42,64 ; 34,89 ; 33,07 ; 17,07 ; 16,35 ; 16,30 ; 14,27.

4,4'-Bis-{2-[3,4,5-tris-(monométhyléther triéthylène glycol)-phényl]-vinyl}-biphényle (12)



A 4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphényle **6** (506 mg ; 1,12 mmol ; 1 éq.) dissout dans 75 mL de THF anhydre, on ajoute 0,60 g de NaH (25 mmol ; 22 éq. ; 60 % dans l'huile). Après effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C sous argon. A cette solution, on ajoute lentement 1,32 g de l'aldéhyde **4a** (2,23 mmol ; 2 éq.) dissout dans 80 mL de THF anhydre. Le mélange est porté à reflux (66 °C) pendant 2 heures. L'excès de NaH est neutralisé par 20 mL d'éthanol. Le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est dissoute dans 250 mL de dichlorométhane, lavée avec une solution aqueuse de NaCl (2 mL) puis avec de l'eau distillée (2 mL), et séchée sur MgSO_4 . Le produit **10** obtenu (huile jaune) est purifié

par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange de dichlorométhane/Méthanol (97/3 jusqu'à 50/50 en volumes) comme éluant ($m = 1,12 \text{ g}$; Rdt. = 75 %).

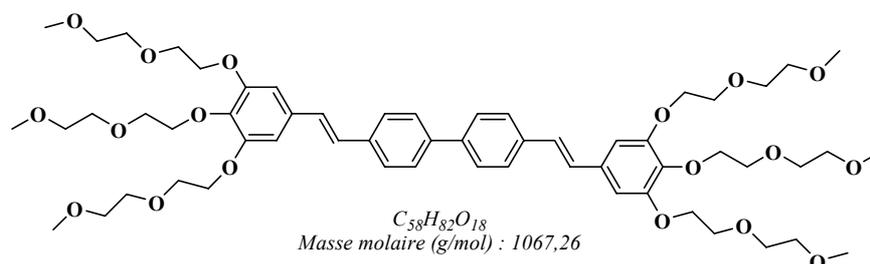
✓¹H-RMN, CDCl₃ ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,65-7,56 (AB, 8H, $J = 8,34 \text{ Hz}$), 7,02 (s, 4H), 6,79 (s, 4H), 4,23 (t, 8H, $J = 4,82 \text{ Hz}$), 4,18 (t, 4H, $J = 5,7 \text{ Hz}$), 3,89 (t, 8H, $J = 5,27 \text{ Hz}$), 3,81 (t, 4H, $J = 4,83 \text{ Hz}$), 3,78-3,72 (m, 12H), 3,70-3,64 (m, 24H), 3,57-3,54 (m, 12H), 3,38 (s, 18 H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; ($\delta \text{ ppm}$) : 151,79 ; 138,62 ; 137,52 ; 135,33 ; 131,89 ; 127,51 ; 126,61 ; 126,05 ; 125,87 ; 105,38 ; 71,40 ; 70,94 ; 70,92 ; 69,83 ; 69,70 ; 69,68 ; 69,56 ; 69,53 ; 69,51 ; 68,78 ; 67,91 et 58,02.

✓SMHR : m/z 1330,70745 (calculée pour C₇₀H₁₀₆O₂₄ m/z 1330,70741).

✓UV-vis : $\lambda_{\text{max}} = 357 \text{ nm}$, $\epsilon = 6,2 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Eau) ; $\lambda_{\text{max}} = 362 \text{ nm}$, $\epsilon = 7,3 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CH₂Cl₂).

4,4'-Bis-{2-[3,4,5-tris-(monométhyléther diéthylène glycol)-phényl]-vinyl}-biphényle (11)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **10** en utilisant 0,43 g de 4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphényle **6** (0,95 mmol ; 1 équ.), 0,60 g de NaH (25 mmol ; 60 % dans l'huile) et 0,88 g de l'aldéhyde **4b** (1,90 mmol ; 2 équ.) dans 150 mL de THF anhydre. Le produit obtenu (huile jaune) est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange de dichlorométhane/Méthanol (97/3 jusqu'au 50/50 en volumes) comme éluant ($m = 0,78 \text{ g}$; Rdt. = 77 %).

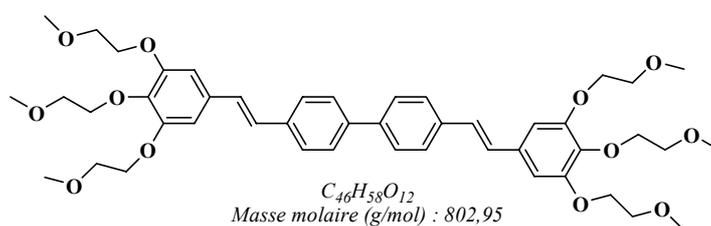
✓¹H-RMN, CDCl₃ ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,65-7,55 (AB, 8H, $J = 8,55 \text{ Hz}$), 7,02 (s, 4H), 6,79 (s, 4H), 4,25 (t, 8H, $J = 4,82 \text{ Hz}$), 4,20 (t, 4H, $J = 4,82 \text{ Hz}$), 3,90 (t, 8H, $J = 5,26 \text{ Hz}$), 3,83 (t, 4H, $J = 5,26 \text{ Hz}$), 3,76-3,72 (m, 12H), 3,60-3,56 (m, 12H), 3,40 (s, 12H), 3,39 (s, 6H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 152,8 ; 138,46 ; 136,35 ; 132,94 ; 128,52 ; 127,63 ; 127,07 ; 126,88 ; 106,32 ; 96,12 ; 72,50 ; 72,07 ; 72,02 ; 70,77 ; 70,58 ; 70,45 ; 69,81 ; 68,91 ; 59,09 et 59,04.

✓SMHR : m/z 1066,55171 (calculée pour C₅₈H₈₂O₁₈ m/z 1066,55012).

✓UV-vis : λ_{max}=357 nm, ε =5,9x10⁴ mol⁻¹.L.cm⁻¹ (Eau) ; λ_{max}=363 nm, ε=7,1x10⁴ mol⁻¹.L.cm⁻¹ (CH₂Cl₂).

4,4'-Bis-{2-[3,4,5-tris-(monométhyléther monoéthylène glycol)-phényl]-vinyl}-biphényle (10)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **10** en utilisant 0,72 g de 4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphényle **6** (1,58 mmol ; 1 éq.), 0,90 g de NaH (35 mmol ; 60 % dans l'huile) et 1,03 g d'aldéhyde **4c** (3,16 mmol ; 2 éq.) dans 150 mL de THF anhydre. Le produit obtenu (solide jaune) est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange de dichlorométhane/Méthanol (97/3 jusqu'au 50/50 en volumes) comme éluant (m = 0,95 g ; Rdt. = 75 %).

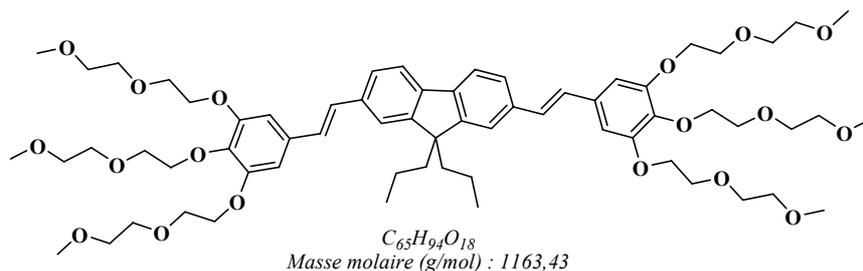
✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,65-7,55 (AB, 8H, J = 8,55 Hz), 7,03 (s, 4H), 6,81 (s, 4H), 4,24-4,17 (m, 12H), 3,79 (t, 8H, J = 5,04 Hz), 3,73 (t, 8H, J = 4,82 Hz), 3,48 (s, 12 H), 3,46 (s, 6 H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 152,93 ; 139,66 ; 138,94 ; 136,36 ; 132,99 ; 128,51 ; 127,68 ; 127,07 ; 127,02 ; 126,89 ; 106,91 ; 72,33 ; 71,87 ; 71,20 ; 71,19 ; 69,10 ; 59,22 ; 59,18 ; 59,18 ; 58,58.

✓SMHR : m/z 802,39374 (calculée pour C₄₆H₅₈O₁₂ m/z 802,39283).

✓UV-vis : λ_{max}=363 nm, ε=7,5x10⁴ mol⁻¹.L.cm⁻¹ (CH₂Cl₂).

4,4'-Bis-{2-[3,4,5-tris-(monométhyléther diéthylène glycol)-phényl]-vinyl}-9,9'-di-*n*-propylfluorène (13)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **10** en utilisant 0,55 g de **9** (1 mmol ; 1 équ.), et 0,95 g de l'aldéhyde **4b** (2 mmol ; 2 équ.). Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange de dichlorométhane/Méthanol (97/3 jusqu'au 50/50 en volumes) comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 0,38$ g ; Rdt. = 60 %).

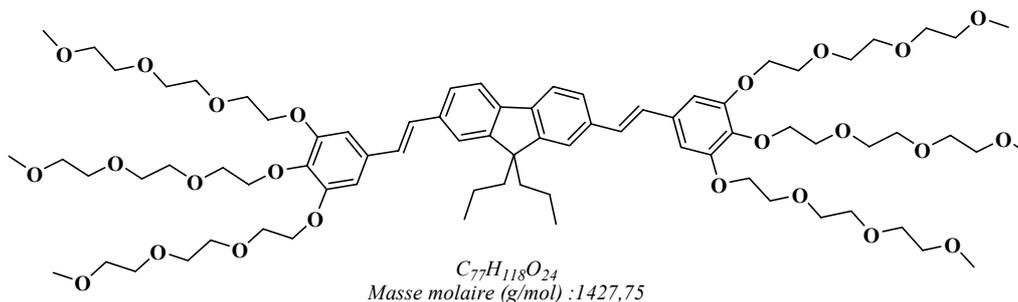
✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,59 (d, 2H, J = 8,44 Hz), 7,41 (m, 4H), 7,01 (s, 4H), 6,76 (s, 4H), 4,17 (m, 12H), 3,83 (t, 8H, J = 5,26 Hz), 3,77 (t, 4H, J = 5,37 Hz), 3,66-3,70 (m, 12H), 3,49-3,53 (m, 12 H), 3,33 (s, 12 H), 3,32 (s, 6H), 1,96 (m, 4H), 0,64 (m, 10H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 152,70; 151,43; 140,44; 138,20; 136,13; 133,05; 128,63; 127,70; 125,56; 120,57; 119,82; 106,08; 72,40; 71,96; 71,92; 70,64; 70,50; 70,33; 69,72; 68,81; 58,93; 58,89; 55,05; 42,79; 17,12; 14,41.

✓SMHR : m/z 1180.67672 (calculée pour C₇₀H₁₀₆O₂₄ m/z 1180,67784).

✓UV-vis : $\lambda_{\max} = 383$ nm $\epsilon = 8,6 \times 10^4$ mol⁻¹.L.cm⁻¹ (CH₂Cl₂).

4,4'-Bis-{2-[3,4,5-tris-(monométhyléther triéthylène glycol)-phényl]-vinyl}-9,9'-di-*n*-propylfluorène (14)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **10** en utilisant 1,10 g de **9** (2 mmol ; 1 équ.), et 2,30 g de l'aldéhyde **4a** (4 mmol ; 2 équ.). Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange de dichlorométhane/Méthanol (97/3 jusqu'au 50/50 en volumes) comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 2,05$ g ; Rdt. = 72 %).

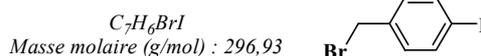
$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,65 (d, 2H, $J = 8,33$ Hz), 7,46 (m, 4H), 7,05 (s, 4H), 6,80 (s, 4H), 4,23 (t, 8H, $J = 4,92$ Hz), 4,18 (t, 4H, $J = 4,82$ Hz), 3,89 (t, 8H, $J = 5,02$ Hz), 3,81 (t, 4H, $J = 4,82$ Hz) 3,54-3,78 (m, 48H), 3,38 (s, 18 H), 2,01 (m, 4H), 0,70 (m, 10H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 152,74; 151,51; 140,51; 138,32; 136,14; 133,09; 128,71; 127,71; 125,58; 120,62; 119,83; 106,20; 72,36; 71,90; 70,79; 70,67; 70,65; 70,53; 70,49; 69,75; 68,83; 58,97; 55,12; 42,83; 17,15; 14,44.

$\sqrt{\text{SMHR}}$: m/z 1449,79217 (calculée pour $C_{70}H_{106}O_{24}$ m/z 1449,79053).

$\sqrt{\text{UV-vis}}$: $\lambda_{\text{max}} = 382$ nm, $\epsilon = 5,8 \times 10^4$ $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Eau) ; $\lambda_{\text{max}} = 382$ nm $\epsilon = 8,1 \times 10^4$ $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (CH_2Cl_2).

1-Bromométhyl-4-iodo-benzène (15)



Dans un ballon bicol de 250 mL, on introduit 10 g de 4-Iodotoluène (46 mmol ; 1 équ.), 8,98 g de N-bromosuccinimide (0,05 mol ; 1,10 équ.), 50 mg de peroxyde de benzoyle et 170 mL de

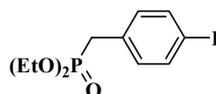
tétrachlorure de carbone. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 4 heures sous illumination sous une lampe halogène de 300 W. Après retour à température ambiante, le succinimide obtenu insoluble est filtré et rincé avec du chloroforme. Le filtrat est lavé avec une solution aqueuse de chlorure de sodium (75 mL) puis à l'eau (80 mL). La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé sous pression réduite, pour obtenir un solide violet qui est recristallisé dans l'hexane, pour donner **15** sous forme des cristaux blancs ($m = 3,42 \text{ g}$; Rdt. = 32 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,69 (d, 2H, $J = 8,6 \text{ Hz}$), 7,14 (d, 2H, $J = 8,6 \text{ Hz}$), 4,43 (s, 2H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 137,93 ; 137,39 ; 130,82 ; 94,13 ; 32,48.

Diéthyl 4-iodobenzylphosphonate (**16**)

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{IO}_3\text{P}$
Masse molaire (g/mol) : 354,12



Dans un ballon bicol de 100 mL, sous argon, un mélange de 1-Bromométhyl-4-iodo-benzène **15** (1 g ; 3,37 mmol ; 1 éq.) et de phosphite de triéthyle (Une quantité suffisante pour dissoudre le 1-Bromométhyl-4-iodo-benzène) est porté à reflux pendant une nuit. Le mélange réactionnel est distillé sous pression réduite. Le phosphite de triéthyle résiduel est passé à 92 °C (Sous 6 mmHg) et le produit final **16** est obtenu sous forme d'une huile incolore ($m = 672 \text{ mg}$; Rdt. = 95 %).

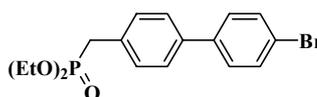
$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,62 (m, 2H), 7,05 (m, 2H), 4,01 (m, 4H), 3,07 (d, 2H, $J = 21,7 \text{ Hz}$), 1,24 (t, 6H, $J = 7,0 \text{ Hz}$).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 137,43 ; 131,57 ; 131,31 ; 92,15 ; 62,04 ; 33,21 ; 16,24.

$\sqrt{\text{SMHR}}$: m/z 354,9969 (calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{IP}$ m/z 354,9960).

(4-Bromo-4'-diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphényle (17)

$C_{17}H_{20}BrO_3P$
Masse molaire (g/mol) : 383,22



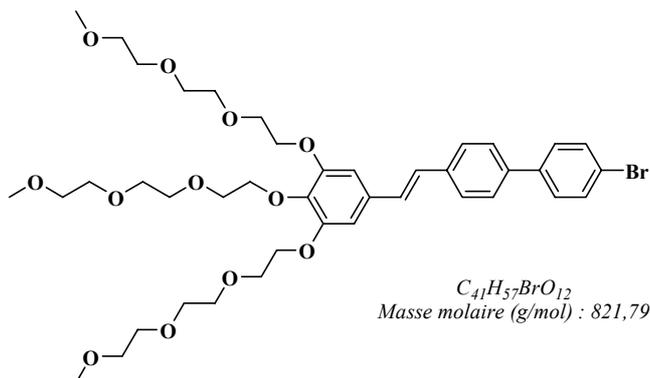
Dans un ballon bicol de 250 mL, préalablement purgé à l'argon, on introduit 1 g de (4-Iodobenzyl)-phosphonate d'éthyle **16** (2,80 mmol ; 1,50 éq.), 50 mL de benzène, 163 mg de tetrakis(triphénylphosphine) Paladium (0) - $[(C_6H_5)_3P]_4Pd$ - (0,19 mmol ; 0,10 éq.), et 10 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 . Le mélange est dégazé vigoureusement à l'argon, et chauffé à 80 °C. Une solution d'acide 4-bromophényl boronique (400 mg ; 1,90 mmol ; 1 éq.) dans 10 mL d'éthanol est introduite goutte à goutte dans le milieu réactionnel et le mélange est agité pendant 3 heures. Après retour à température ambiante, le mélange réactionnel est lavé 3 fois à l'eau distillée, et la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec du dichlorométhane et ensuite avec un mélange méthanol/dichlorométhane (5/95 en volumes) comme éluant pour donner une huile jaune.

✓¹H-RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,50 (d, 2H, J = 8,9 Hz), 7,51 (dd, 2H, $J_1=8,5$ Hz, $J_2=1,1$ Hz), 7,44 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,37 (dd, 2H, $J_1=11,8$ Hz, $J_2=2,6$ Hz) 4,10 (m, 4H), 3,19 (d, 2H, J = 21,7 Hz), 1,27 (dt, 6H, $J_1=7,2$ Hz, $J_2=0,4$ Hz).

✓¹³C-RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 131,87 ; 130,34 ; 130,25 ; 128,59 ; 128,57 ; 127,05 ; 127,01 ; 62,21 ; 62,12 ; 16,43 ; 16,35.

✓SMHR : m/z 383,0404 (calculée pour $C_{17}H_{21}O_3BrP$ m/z 383,0411).

4-Bromo-4'-[2-(3,4,5-tris-{monométhyléther triéthylène glycol}-phényl)-vinyl]-1,1'-biphényle (18)



Dans un ballon bicol de 250 mL, on introduit 600 mg de **17** (1,57 mmol ; 1 éq.), 50 mL de THF anhydre et 151 mg de NaH (6,26 mmol ; 4 éq.). Après l'effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C sous argon. Une solution d'aldéhyde **2c** (930 mg ; 1,57 mmol ; 1 éq.) dans 50 mL de THF anhydre est introduite lentement au milieu réactionnel. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, l'excès de NaH est neutralisé avec de l'éthanol. Les solvants sont évaporés sous pression réduite. L'huile obtenue est reprise dans du dichlorométhane. La solution obtenue est lavée avec 50 mL d'une solution aqueuse de NaCl, 100 mL d'eau et séchée sur sulfate de magnésium. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/Méthanol (95/5 en volumes) comme éluant, pour donner **18** sous forme d'une huile jaune (m = 1,03 g ; Rdt. = 80 %).

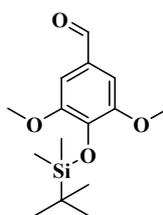
$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,57 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,56 (s, 4H), 7,47 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,02 (d, 2H, J = 1,9 Hz), 6,79 (s, 2H), 4,21 (2t, 6H, J = 5,0 Hz), 3,84 (2t, 6H, J = 5,0 Hz), 3,74 (m, 6H), 3,58 (m, 6H), 3,40 (2s, 9H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 139,56 ; 138,95 ; 136,70 ; 132,83 ; 132,16 ; 132,03 ; 131,90 ; 128,45 ; 128,40 ; 127,45 ; 127,14 ; 126,94 ; 121,55 ; 106,40 ; 72,50 ; 72,07 ; 72,02 ; 70,77 ; 70,58 ; 70,45 ; 69,81 ; 68,95 ; 59,08 ; 59,03.

$\sqrt{\text{SMHR}}$: m/z 820,3037 (calculée pour $\text{C}_{41}\text{H}_{57}\text{O}_{12}\text{Br}$ m/z 820,3033).

4-(*tert*-Butyl-diméthyl-silyloxy)-3,5-diméthoxy-benzaldéhyde (19)

$C_{13}H_{24}O_4Si$
Masse molaire (g/mol) : 296,43



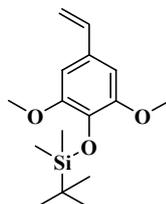
Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on dissout 4,6 g de chlorure de tert-butyl-diméthylsilyl (0,03 mol ; 1,10 éq.) et 2,1 g d'imidazole (0,03 mol ; 1,10 éq.) dans un mélange de diméthylformamide/dichlorométhane (DMF/CH₂Cl₂; 60 mL/60 mL). Sur la solution homogène, 5 g de syringaldéhyde (0,027 mol ; 1 éq.) sont ajoutés, puis le mélange réactionnel est chauffé à 80 °C pendant une nuit. On refroidit la solution à température ambiante, et on évapore les solvants sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est dissout dans 200 mL de CH₂Cl₂, et la solution est lavée à l'eau (150 mL) puis séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Après recristallisation dans le méthanol, on obtient le produit **19** sous forme de cristaux blancs (m = 4,96 g ; Rdt. = 62 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl₃; (δ ppm) : 9,82 (s, 1H), 7,10 (s, 2H), 3,87 (s, 6H), 1,01 (s, 9H), 0,16 (s, 6H).

$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl₃; (δ ppm) : 191,98 ; 151,92 ; 140,98 ; 129,3 ; 106,66 ; 55,75 ; 25,62 ; 18,73 ; -4,58.

4-(*tert*-Butyl-diméthyl-silyloxy)-3,5-diméthoxy-styrène (20)

$C_{16}H_{26}O_3Si$
Masse molaire (g/mol) : 294,46



Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on introduit 3,13 g de Bromure de méthyltriphénylphosphonium (8,77 mmol ; 1,30 éq.) et 100 mL de THF anhydre. On ajoute, lentement en plusieurs fractions, 1,05 g de tert-butoxyde de potassium (8,77 mmol ; 1,30 éq.) et on agite pendant une demi-heure. On ajoute 2 g de **19** (6,75 mmol ; 1 éq.) dissous dans 20 mL de THF anhydre goutte à goutte au mélange réactionnel et on agite pendant deux heures. Le solvant

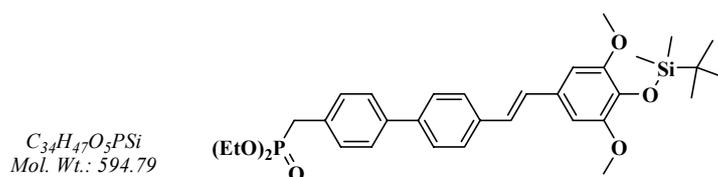
est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est repris dans du chlorure de méthylène, puis lavé avec 20 mL d'eau, puis séché sur MgSO₄. On purifie le produit brut par chromatographie sur colonne de silice avec du dichlorométhane comme éluant. Le produit **20** est obtenu sous forme d'un solide blanc (m = 1,37 g ; Rdt. = 69 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 6,67-6,58 (dd, 1H, J₁=10,96 Hz, J₂=17,54 Hz), 6,61 (s, 2H), 5,64-5,58 (dd, 1H, J₁=1,09 Hz, J₂=17,54 Hz), 5,17-5,13 (dd, 1H, J₁=1,09 Hz, J₂=17,54 Hz), 3,81 (s, 6H), 1,01 (s, 9H), 0,13 (s, 6H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 151,59 ; 136,98 ; 134,75 ; 130,30 ; 111,84 ; 103,84 ; 103,42 ; 55,69 ; 25,74 ; 18,69 ; -4,69.

✓SMHR : m/z 294,16472 (calculée pour C₁₄H₂₄O₃Si m/z 294,16512).

(4-{2-[4-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxy)-3,5-diméthoxy-phényl]-vinyl}-4'-diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphenyl (21)

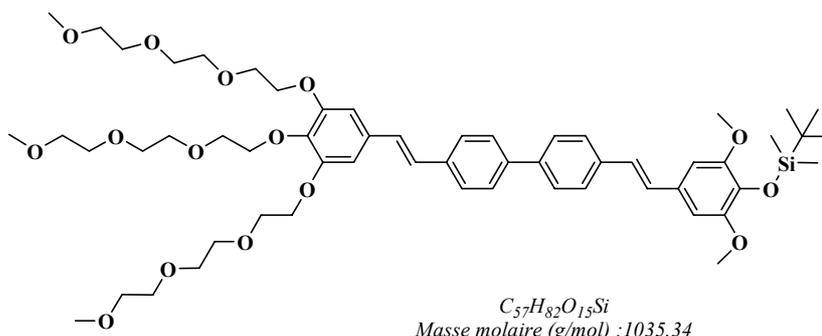


A 4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-1,1'-biphényle **6** (6 g ; 13,00 mmol ; 1 éq.) dans le THF anhydre (100 mL), on additionne 1,58 g de NaH (66,00 mmol ; 5 éq.). Après l'effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à température ambiante sous argon. A cette solution et à 0 °C on ajoute lentement une solution de **19** (3,9 g ; 13,00 mmol ; 1 éq.) dans 50 mL de THF anhydre. On agite à température ambiante pendant 24 heures. On neutralise le mélange réactionnel avec l'éthanol, ensuite on évapore le solvant sous pression réduite. L'huile obtenue est redissoute dans CH₂Cl₂, lavée avec 50 mL d'une solution aqueuse de NaCl et 50 mL d'eau et séché sur MgSO₄. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/Méthanol (98/2 en volumes) comme éluant, pour obtenir **21** sous forme d'une huile jaune (m = 2,70 g ; Rdt. = 35 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,61-7,54 (m, 6H), 7,40-7,36 (dd, J₁=2,41 Hz, J₂=8,33 Hz), 7,11-6,97 (AB, 2H, J = 16,22 Hz), 6,74 (s, 2H), 4,10-4,00 (m, 4H), 3,86 (s, 6H), 3,20 (d, 2H, J = 21,7 Hz), 1,27 (t, 6H, J = 6,79 Hz), 1,03 (s, 9H), 0,16 (s, 6H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 151,73 ; 139,40 ; 139,38 ; 139,20 ; 139,14 ; 136,58 ; 134,58 ; 130,71 ; 130,59 ; 130,21 ; 130,12 ; 130,04 ; 129,06 ; 127,11 ; 126,93 ; 126,89 ; 126,68 ; 126,36 ; 103,73 ; 62,17 ; 62,09 ; 55,75 ; 34,33 ; 32,51 ; 25,51 ; 25,78 ; 18,72 ; 16,41 ; 16,33 ; -4,63.

(4-{2-[4-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxy)-3,5-diméthoxy-phényl]-vinyl}-4'-{2-[3,4,5-Tris(monométhyléther triéthylène glycol)]-phényl}-vinyl)-1,1'-biphenyl (**22**)



1^{ère} méthode : Dans un ballon tricol de 100 mL, on introduit 765 mg de **18** (1,10 mmol ; 1 éq.), 127 mg d'acétate de Palladium II (0,55 mmol ; 0,50 éq.) et 205 mg de TOP «tri-ortho-lyphosphine» (0,66 mmol ; 0,60 éq.). Le montage est dégazé à l'argon, puis on introduit 60 mL de triéthylamine (Fraîchement distillée) et 60 mL de xylène. Le mélange réactionnel est chauffé pendant une heure et demi à 60 °C pour activer l'halogénure. Une solution de **20** (360 mg ; 1,20 mmol ; 1,10 éq.) dans 20 mL de xylène est introduite dans le milieu réactionnel. On augmente la température progressivement jusqu'à 120 °C et on agite pendant une semaine. On refroidit la solution, puis le mélange réactionnel est filtré sur célite et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est repris dans du dichlorométhane, lavé une fois par une solution aqueuse de NH_4Cl (200 mL) puis deux fois à l'eau (2 x 200 mL). La phase organique est séchée sur MgSO_4 puis le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange d'Heptane/Acétate d'éthyle (95/5 en volumes) comme éluant. Le produit **22** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 1,37 g ; Rdt. = 69 %).

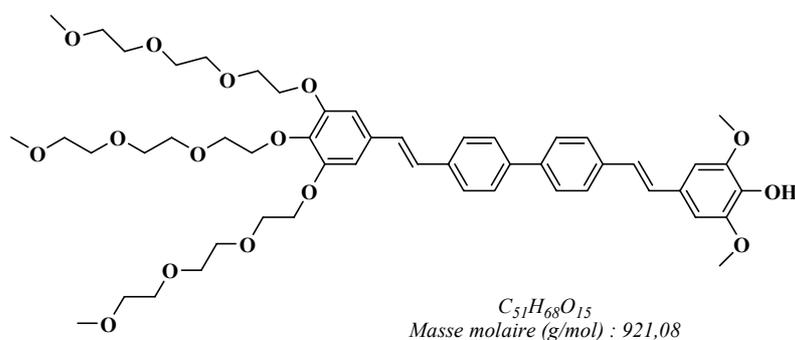
2^{ème} méthode : Dans un ballon bicol de 250 mL, on introduit 1 g de **21** (1,67 mmol ; 1 éq.), 75 mL de THF anhydre et 200 mg de NaH (5,01 mmol ; 3 éq.). Après l'effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C sous argon. Une solution d'aldéhyde **4a** (993 mg ; 1,67 mmol ; 1 éq.) dans 50 mL de THF anhydre est introduite lentement au milieu réactionnel.

Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, l'excès de NaH est neutralisé par de l'éthanol. Le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est reprise dans du dichlorométhane, lavée avec 50 mL d'une solution aqueuse de NaCl, 100 mL d'eau et séchée sur sulfate de magnésium. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/Méthanol (95/5 en volumes) comme éluant, pour donner **22** sous forme d'une huile jaune ($m = 1,38$ g ; Rdt. = 80 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,65-7,61 (dd, 4H, $J_1=1,75$ Hz, $J_2=8,33$ Hz), 7,57 (d, 4H, $J = 8,55$ Hz), 7,11-6,98 (AB, 4H, $J = 16,22$ Hz), 6,79 (s, 2H), 6,74 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, $J = 4,82$ Hz), 4,18 (t, 2H, $J = 4,82$ Hz), 3,86 (s, 6H), 3,90-3,64 (m, 22H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,385 (s, 3H), 3,381 (s, 6H), 1,03 (s, 9H), 0,16 (s, 6H).

$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 152,77 ; 151,73 ; 147,22 ; 139,64 ; 139,28 ; 138,49 ; 136,63 ; 136,24 ; 134,58 ; 132,86 ; 130,04 ; 129,08 ; 128,87 ; 128,44 ; 127,59 ; 126,98 ; 126,84 ; 126,70 ; 126,35 ; 106,34 ; 103,73 ; 103,35 ; 72,37 ; 71,91 ; 71,90 ; 70,79 ; 70,67 ; 70,65 ; 70,53 ; 70,49 ; 69,75 ; 68,88 ; 58,98 ; 56,27 ; 55,74 ; 53,41 ; 25,76 ; 18,72 ; -4,65.

(4-{2-[2,6-diméthoxy-phénol]-vinyl}-4'-{2-[3,4,5-Tris(monométhyléther triéthylène glycol)]-phényl}-vinyl)-1,1'-biphenyl (**23**)



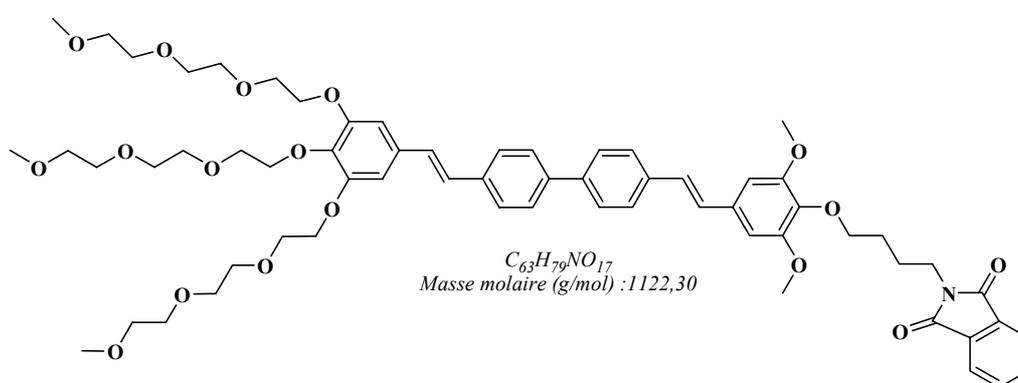
Dans un ballon bicol de 100 mL, sous argon, on dissout 390 mg de **22** (0,38 mmol ; 1 équ.) dans 50 mL de THF. Une solution de TBAF (1 mL ; 0,75 mmol ; 2 équ.) dans le THF est introduite goutte à goutte au milieu réactionnel. On agite le mélange à température ambiante pendant une heure. Le mélange réactionnel est versé dans une solution froide d'acide phosphorique 1M. On extrait le brut par l'éther éthylique, puis on lave à l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange acétate

d'éthyle/hexane (50/50 en volumes) comme éluant. Le produit **23** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 332 mg ; Rdt. = 95 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,65-7,62 (d, 4H), 7,58-7,55 (dd, 4H), 7,11-6,97 (q, 2H), 7,02 (s, 2H), 6,79 (s, 4H), 4,25-4,15 (2t, 6H), 3,96 (s, 6H), 3,90-3,87 (t, 4H), 3,81-3,79 (t, 2H), 3,78-3,53 (m, 24H), 3,37-3,36 (2s, 9 H).

✓SMHR : m/z 920,45547 (calculée pour C₅₁H₆₈O₁₅ m/z 920,45582).

Bi-Pht (24)



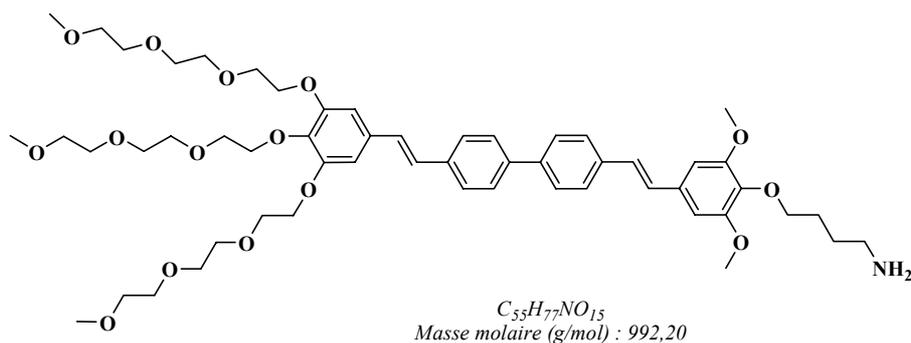
Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 50 mL de DMF et 954 mg de **23** (1,037 mmol ; 1 éq.). On ajoute sur le mélange réactionnel 721 mg de K₂CO₃ (5,18 mol ; 5 éq.), 437 mg de N-(4-Bromobutyl)-phthalimide (0,81 mmol ; 1,50 éq.), puis on chauffe à 80 °C pendant 4 jours sous argon. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le mélange réactionnel est repris dans de chlorure de méthylène puis la phase organique est lavée à l'eau puis on la sèche sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec de chlorure de méthylène pour obtenir le produit **24** sous forme d'une huile jaune (m = 465 mg ; Rdt. = 40 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,86-7,83 (m, 2H), 7,72-7,69 (m, 2H), 7,65-7,62 (d, 4H, J = 8,33 Hz) 7,59-7,56 (dd, 4H, J₁=3,07 Hz, J₂= 7,23 Hz), 7,11-7,06 (d, 1H, J = 16,22 Hz), 7,05-7,00 (d, 1H, J = 16,22 Hz), 7,02 (s, 2H), 6,79 (s, 2H), 6,74 (s, 2H), 4,25-4,21 (m, 4H), 4,19-4,16 (m, 2H), 4,05-4,01 (m, 2H), 3,91 (s, 6H), 3,88-3,54 (m, 32H), 3,38 (s, 3H), 3,38 (s, 6H), 1,96-1,91 (m, 2H), 1,83-1,78 (m, 2H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 168,38 ; 153,61 ; 139,58 ; 133,87 ; 133,78 ; 132,84 ; 127,02 ; 126,83 ; 123,18 ; 123,15 ; 123,08 ; 103,64 ; 72,56 ; 71,92 ; 71,90 ; 70,80 ; 70,67 ; 70,66 ; 70,54 ; 70,50 ; 70,49 ; 69,76 ; 68,91 ; 62,31 ; 58,98 ; 56,09 ; 37,65 ; 29,73 ; 25,21 ; 25,07.

✓SMHR : m/z 1121,53527 (calculée pour C₆₃H₇₉NO₁₇ m/z 1121,53480).

Bi-NH₂ (25)

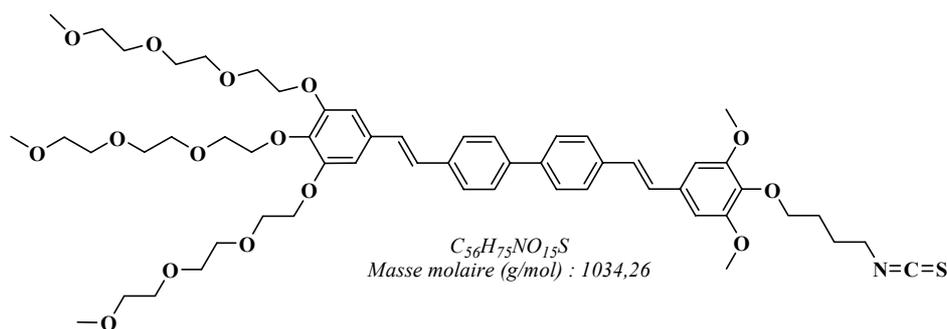


Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on dissout 300 mg de **24** (0,26 mmol ; 1 éq.) dans 30 mL d'éthanol absolu. On ajoute 0,04 mL d'hydrate d'hydrazine (0,80 mmol ; 3 éq.). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 48 heures. On revient à température ambiante et on ajoute 5 mL d'une solution de HCl 1M. le mélange réactionnel est neutralisé avec une solution aqueuse diluée de Na₂CO₃ (pH=7). Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec un mélange méthanol/chlorure de méthylène (5/95 en volumes), on obtient **25** sous forme d'un solide jaune (m = 185 mg ; Rdt. = 70 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,63 (d, 4H, J = 8,11 Hz), 7,59-7,55 (dd, 4H, J₁=3,51 Hz, J₂=6,79 Hz) 7,10 (d, 1H, J = 16,23 Hz), 7,03 (d, 1H, J = 16,23 Hz), 7,02 (s, 2H), 6,78 (s, 2H), 6,75 (s, 2H), 4,24-4,21 (m, 4H), 4,19-4,15 (m, 2H), 4,03-3,98 (m, 2H), 3,91 (s, 6H), 3,89-3,53 (m, 30H), 3,37 (s, 3H), 3,37 (s, 6H), 2,79-2,74 (m, 2H), 1,83-1,76 (m, 2H), 1,68-1,61 (m, 2H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 153,59 ; 152,77 ; 139,58 ; 139,55 ; 138,53 ; 137,27 ; 136,32 ; 133,30 ; 132,83 ; 128,71 ; 128,51 ; 127,55 ; 127,48 ; 127,08 ; 127,01 ; 126,84 ; 123,69 ; 106,39 ; 103,72 ; 73,23 ; 72,38 ; 71,90 ; 70,65 ; 70,65 ; 70,53 ; 70,49 ; 69,76 ; 68,90 ; 58,13 ; 56,13 ; 30,22 ; 29,64 ; 27,43.

✓SMHR : m/z 992,53560 (calculée pour C₅₅H₇₇O₁₅N m/z 992,53714).

Bi-NCS (26)

Dans un ballon bicol de 100 mL, sous argon, on introduit 80 mg de **25** (0,08 mmol ; 1 éq.) et 5 mL de chlorure de méthylène. On refroidit la solution à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, ensuite on ajoute successivement 44,30 mg de 4-N,N-diméthylaminopyridine (0,36 mmol ; 4,50 éq.) et 10 μl de thiophosgène (0,13 mmol ; 1,60 éq.). On suit la progression de la réaction par CCM. A la fin de la réaction, on revient à température ambiante et on évapore le solvant sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice on obtient le produit désiré sous forme d'une huile jaune ($m = 79,33\text{ mg}$; Rdt. = 96 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,66-7,62 (dd, 4H, $J_1=1,54\text{ Hz}$, $J_2=8\text{ Hz}$), 7,60-7,56 (dd, 4H, $J_1=4,17\text{ Hz}$, $J_2=4,27\text{ Hz}$), 7,13-7,08 (d, 1H, $J = 16,01\text{ Hz}$), 7,07-7,01 (d, 1H, $J = 16,01\text{ Hz}$), 7,02 (s, 2H), 6,79 (s, 2H), 6,76 (s, 2H), 4,25-4,21 (t, 4H), 4,19-4,16 (t, 2H), 4,04-4,00 (t, 2H), 3,92 (s, 6H), 3,90-3,54 (m, 32H), 3,38 (s, 3H), 3,38 (s, 6H), 2,03-1,96 (m, 2H), 1,91-1,85 (m, 2H).

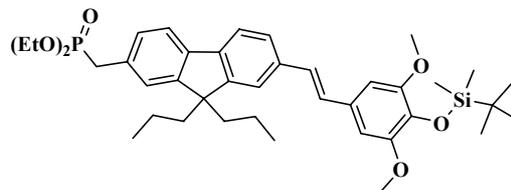
$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 153,52 ; 152,77 ; 139,66 ; 139,55 ; 138,55 ; 136,87 ; 136,35 ; 136,28 (NCS) ; 133,11 ; 132,84 ; 128,64 ; 128,52 ; 127,66 ; 127,56 ; 127,03 ; 127,02 ; 126,85 ; 106,41 ; 103,58 ; 72,38 ; 72,09 ; 71,90 ; 70,80 ; 70,67 ; 70,65 ; 70,54 ; 70,51 ; 70,49 ; 69,76 ; 68,90 ; 58,98 ; 56,08 ; 44,79 ; 26,99 ; 26,84.

$\sqrt{\text{SMHR}}$: m/z 1033,48768 (calculée pour $C_{56}H_{75}O_{15}NS$ m/z 1033,48574).

$\sqrt{\text{UV-vis}}$: $\lambda_{\text{max}}=365\text{ nm}$, $\epsilon=6,9\times 10^4\text{ mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$ (CH_2Cl_2).

(4-{2-[4-(*tert*-Butyl-diméthyl-silanyloxy)-3,5-diméthoxy-phényl]-vinyl}-4'-diéthoxyphosphinylméthyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (27)

$C_{40}H_{57}O_6PSi$
Masse molaire (g/mol) : 692,94



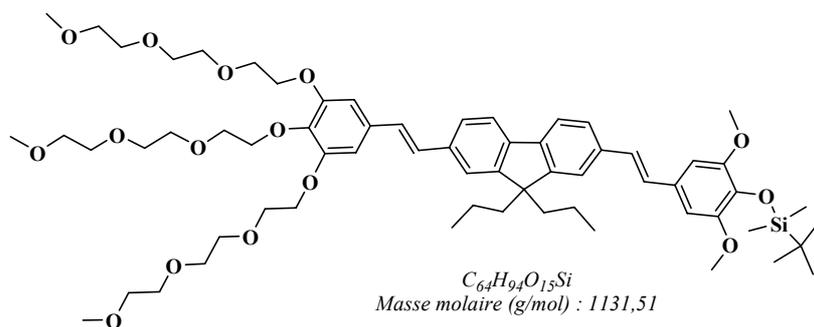
A 4,4'-Bis(diéthoxyphosphinylméthyl)-9,9'-dipropylfluorène **9** (3,34 g ; 6,08 mmol ; 1 éq.) dissout dans 50 mL de THF anhydre, on additionne 0,73 g de NaH (30,4 mmol ; 5 éq. ; 60 % dans l'huile). Après l'effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à température ambiante sous argon. A cette solution à 0 °C on ajoute lentement une solution de **19** (1,80 g ; 6,08 mmol ; 1 éq.) dans 50 mL de THF anhydre. On agite à température ambiante pendant 24 heures. On neutralise le mélange réactionnel par l'éthanol, ensuite on évapore le solvant sous pression réduite. L'huile obtenue est dissoute dans du CH₂Cl₂, lavée avec 50 mL d'une solution aqueuse de NaCl et 50 mL d'eau distillée. On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO₄. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/Méthanol (97/3 en volumes) comme éluant, on obtient **27** sous forme d'une huile jaune (m = 1,47 g ; Rdt. = 35 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,65-7,60 (m, 2H), 7,48-7,45 (m, 2H), 7,29-7,26 (m, 2H), 7,07 (s, 2H), 6,76 (s, 2H), 4,09-3,98 (m, 4H), 3,87 (s, 6H), 3,24 (d, 2H, J = 21,49 Hz), 2,20-1,97 (m, 4H), 1,23 (t, 6H, J = 7,02 Hz), 1,03 (s, 9H), 0,67 (s, 10H), 0,16 (s, 6H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 151,27 ; 151,27 ; 151,22 ; 151,11 ; 140,23 ; 104,20 ; 139,69 ; 139,64 ; 136,41 ; 136,39 ; 134,42 ; 130,29 ; 130,25 ; 130,17 ; 128,55 ; 128,46 ; 128,27 ; 127,50 ; 125,37 ; 124,28 ; 124,19 ; 120,45 ; 119,75 ; 119,61 ; 119,56 ; 103,61 ; 62,13 ; 62,04 ; 55,74 ; 55,10 ; 42,78 ; 35,00 ; 33,18 ; 25,76 ; 18,76 ; 17,12 ; 16,38 ; 16,30 ; 14,37 ; -4,66.

✓SMHR : m/z 692,3664 (calculée pour C₄₀H₅₇O₆PSi m/z 692,3662).

(4-{2-[4-(tert-Butyl-diméthyl-silanyloxy)-3,5-diméthoxy-phényl]-vinyl}-4'-{2-[3,4,5-Tris(monométhyléther triéthylène glycol)]-phényl}-vinyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (28)



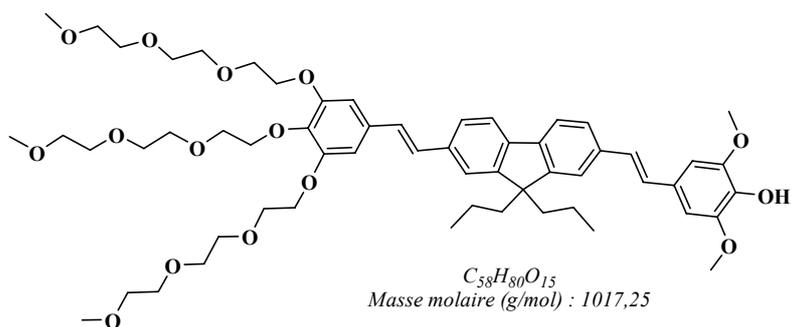
Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on dissout 1,02 g de **27** (1,47 mmol ; 1 éq.) dans 75 mL de THF anhydre, puis on additionne 294 mg de NaH (7,36 mmol ; 5 éq.). Après effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C. A cette solution on ajoute lentement une solution de 872,40 mg d'aldéhyde **1c** (1,47 mmol, 1 éq.) dans 40 mL de THF anhydre. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, on neutralise le NaH en excès par 20 mL d'éthanol, puis on évapore tous les solvants sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/Méthanol (90/10 en volumes) comme éluant, on obtient **28** sous forme d'une huile jaune (m = 1,41 g ; Rdt. = 85 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,64 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,48-7,46 (m, 4H), 7,08 (s, 2H), 7,06 (d, 2H, J = 1,09 Hz), 6,80 (s, 2H), 6,76 (s, 2H), 4,24 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,87 (s, 6H), 3,91-3,59 (m, 22H), 3,57-3,54 (m, 6H), 3,38 (s, 3H), 3,37 (s, 6H), 2,20-1,97 (m, 4H), 1,03 (s, 9H), 0,69 (s, 10H), 0,16 (s, 6H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 152,76 ; 151,73 ; 151,47 ; 140,59 ; 140,23 ; 138,35 ; 136,47 ; 136,06 ; 134,46 ; 133,08 ; 130,27 ; 129,75 ; 128,73 ; 128,33 ; 127,94 ; 127,66 ; 127,52 ; 125,58 ; 125,43 ; 120,60 ; 120,47 ; 119,80 ; 119,77 ; 106,23 ; 103,66 ; 71,93 ; 71,91 ; 70,81 ; 70,69 ; 70,67 ; 70,54 ; 70,53 ; 70,50 ; 69,76 ; 69,16 ; 58,98 ; 58,97 ; 55,74 ; 55,10 ; 53,37 ; 42,86 ; 25,76 ; 18,71 ; 17,15 ; 14,44 ; -4,66.

✓SMHR : m/z 1130,6380 (calculée pour C₆₄H₉₄O₁₅Si m/z 1130,6362).

(4-{2-[2,6-diméthoxy-phénol]-vinyl}-4'-{2-[3,4,5-Tris(monométhyléther triéthylène glycol)]-phényl}-vinyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (29)

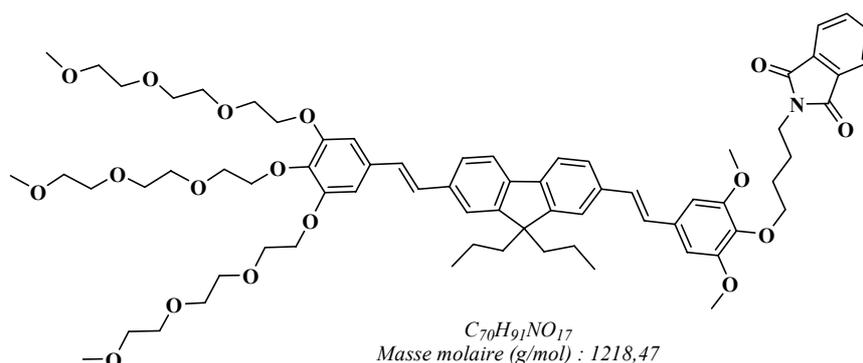


Dans un ballon bicol de 100 mL, sous argon, on dissout 1,12 g de **28** (0,99 mmol ; 1 équ.) dans 40 mL de THF. Une solution de TBAF (0,58 mL ; 1,98 mmol ; 2 équ.) dans le THF est introduite goutte à goutte. Le mélange est agité à température ambiante pendant 15 minutes. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec un mélange méthanol/dichlorométhane (10/90 en volumes). Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 957,12 mg ; Rdt. = 95 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,65 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,49-7,46 (m, 4H), 7,08 d, 2H, J = 1,98 Hz), 7,06 (d, 2H, J = 0,87 Hz), 6,809 (s, 2H), 6,801 (s, 2H), 5,60 (s, 1H), 4,23 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,97 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 3,81 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,78-3,64 (m, 16H), 3,57-3,54 (m, 6H), 3,38 (s, 9H), 2,20-1,97 (m, 4H), 0,70 (s, 10H).

✓SMHR : m/z 1016,55212 (calculée pour C₅₈H₈₀O₁₅ m/z 1016,54973).

F1-3-Pht (30)

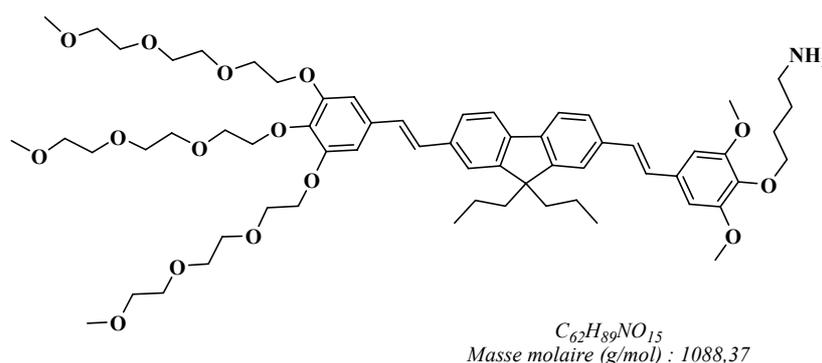


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **24** en utilisant 806 mg de **29** (0,79 mmol ; 1 éq.), 550 mg de K_2CO_3 (3,96 mol ; 5 éq.) et 269 mg de N-(4-Bromobutyl)-phthalimide (0,94 mmol ; 1,20 éq. ;) ; Le produit **30** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 818 mg ; Rdt ; = 85 %) ;

✓ 1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,85-7,82 (m, 2H), 7,71-7,68 (m, 2H), 7,65 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,49-7,46 (m, 4H), 7,08 (s, 2H), 7,05 (s, 2H), 6,79 (s, 2H), 6,75 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 4,03 (t, 2H, J = 6,36 Hz), 3,90 (s, 6H), 3,88-3,63 (m, 24H), 3,56-3,53 (m, 6H), 3,37 (s, 9H), 2,02-1,81 (m, 8H), 0,69 (s, 10H) ;

✓SMHR : m/z 1217,62882 (calculée pour $C_{70}H_{91}NO_{17}$ m/z 1217,62873) ;

F1-3-NH₂ (31)



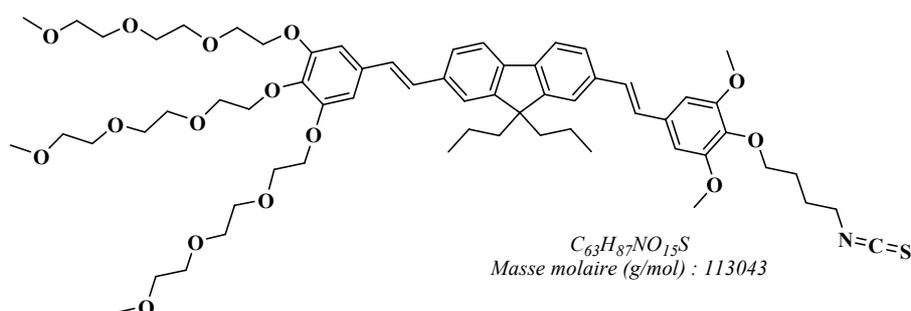
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **25** en utilisant 240 mg de **30** (0,2 mmol ; 1 éq.) et 0,2 mL d'hydrate d'hydrazine ; On purifie le produit par chromatographie sur colonne

de silice avec un mélange méthanol/dichlorométhane (90/10 en volumes) comme éluant, on obtient **31** sous forme d'une huile jaune (m = 163 mg ; Rdt ; = 75 %) ;

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,65 (d, 2H, J = 8,12 Hz), 7,49-7,46 (m, 4H), 7,10 (s, 2H), 7,05 (s, 2H), 6,79 (s, 2H), 6,76 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 4,07 (t, 2H, J = 6,36 Hz), 3,97 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 3,84-3,61 (m, 20H), 3,57-3,54 (m, 6H), 3,383 (s, 3H), 3,380 (s, 6H), 3,28-3,24 (m, 2H), 2,10-1,96 (m, 8H), 0,70 (s, 10H) ;

$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 153,54 ; 153,38 ; 152,77 ; 152,37 ; 139,57 ; 138,50 ; 137,12 ; 136,32 ; 132,86 ; 128,98 ; 128,68 ; 128,51 ; 127,57 ; 127,03 ; 126,85 ; 126,74 ; 108,20 ; 106,36 ; 103,67 ; 77,16 ; 73,26 ; 72,95 ; 72,37 ; 71,90 ; 70,79 ; 70,67 ; 70,53 ; 70,49 ; 69,49 ; 69,57 ; 68,88 ; 68,78 ; 58,98 ; 56,12 ; 41,79 ; 37,77 ; 29,86 ; 27,64 ; 27,46 ; 26,23.

F1-3-NCS (32)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **26** en utilisant 214 mg de **31** (0,20 mmol ; 1 éq.), 115 mg de 4-N,N-diméthylaminopyridine (0,88 mmol ; 4,50 éq.) et 0,09 mL de thiophosgène (0,31 mmol ; 1,60 éq. ;). On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol (95/5 en volumes) comme éluant. On obtient le produit désiré sous forme d'une huile jaune (m = 221 mg ; Rdt ; = 98 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,67-7,68 (dd, 2H, $J_1=0,88$ Hz, $J_2=8,33$ Hz), 7,50-7,46 (m, 4H), 7,11 (s, 2H), 7,06 (s, 2H), 6,80 (s, 2H), 6,78 (s, 2H), 4,24 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 4,03 (t, 2H, J = 6,36 Hz), 3,92 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, J = 4,82 Hz), 3,87-3,64 (m, 22H), 3,57-3,54 (m, 6H), 3,386 (s, 3H), 3,384 (s, 6H), 2,04-1,85 (m, 8H), 0,70 (s, 10H) ;

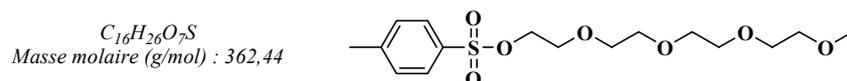
$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 152,75 ; 152,37 ; 151,49 ; 140,58 ; 140,47 ; 138,32 ; 137,50 ; 136,68 ; 136,18 ; 136,10 ; 133,34 ; 133,06 ; 128,79 ; 128,68 ; 127,86 ; 127,74 ; 125,59 ; 120,62 ; 119,85 ; 106,19 ; 105,37 ; 103,44 ; 77,18 ; 72,37 ; 72,07 ; 71,92 ; 71,90 ; 71,89 ; 70,80 ; 70,74 ; 70,68

; 70,66 ; 70,54 ; 70,51 ; 70,50 ; 70,45 ; 69,75 ; 68,83 ; 68,73 ; 58,99 ; 56,06 ; 55,93 ; 44,79 ; 26,99 ; 26,85 ; 17,15 ; 14,48.

✓**SMHR** : m/z 1129,57952 (calculée pour $C_{63}H_{87}NO_{15}S$ m/z 1129,57963) ;

✓**UV-vis** : λ_{\max} = 379 nm, ϵ = $6,1 \times 10^4$ mol⁻¹ ; L ; cm⁻¹ (CH₂Cl₂) ;

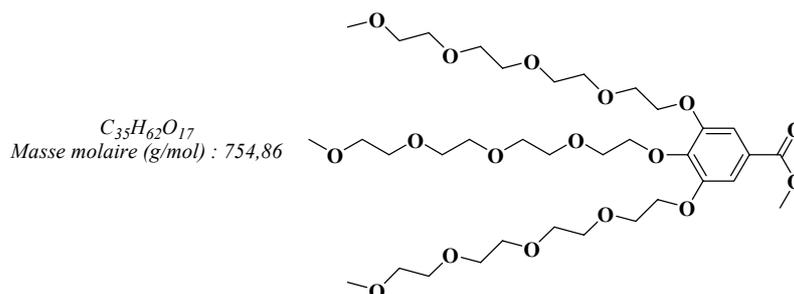
Tosylate de monométhyléther tétraéthylène glycol (**33**)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **1a** en utilisant 13,19 g de chlorure de *p*-toluènesulfonyl (69 mmol ; 1 éq.) et 15,8 g de tétraéthylène glycol monométhyléther (76 mmol ; 1,10 éq.) dans 60 mL de pyridine. Le produit **33** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 21,30$ g ; Rdt ; = 85 %).

✓**¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm)** : 7,76 (d, 2H, $J = 8,33$ Hz), 7,32-7,30 (dd, $J_1=0,66$ Hz, $J_2=7,89$ Hz), 4,13 (t, 2H, $J = 4,61$ Hz), 3,65 (t, 2H, $J = 4,82$ Hz), 3,64-3,49 (m, 12H), 3,34 (s, 3H), 2,41 (s, 3H).

3,4,5-Tris-(monométhyléther tétraéthylène glycol)-benzoate de méthyle (**34**)

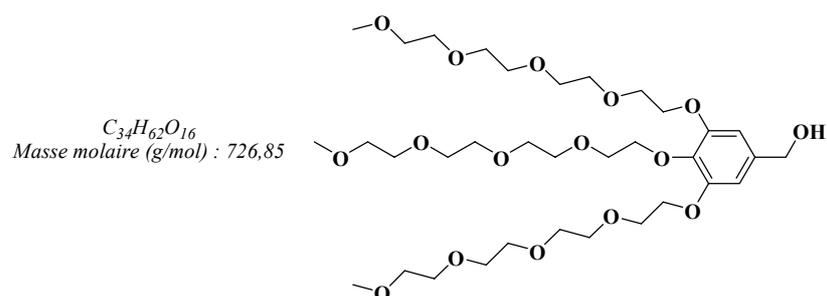


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **2a** en utilisant 22 g de **33** (0,06 mol ; 3,15 éq. ;), 3,55 g de 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle (19 mmol ; 1 éq.) et 13,10 g de K₂CO₃ (95 mmol ; 5 éq.) dans 200 mL d'acétone et 1 g de 18-crown-6 (0,0038 mol ; 0,20 éq.). Le mélange est chauffé à reflux pendant une semaine sous argon. Le produit est purifié sur une colonne d'alumine avec un mélange de dichlorométhane/méthanol (99/1 en volumes) comme éluant. On obtient une huile jaune ($m = 10,02$ g ; Rdt. = 86 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,22 (s, 2H), 4,17-4,11 (m, 6H), 3,81 (s, 3H), 3,79-3,56 (m, 38H), 3,55-3,45 (m, 6H), 3,30 (s, 9H) ;

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 166,42; ;152,20 ; 142,52 ; 124,81 ; 108,95 ; 72,31 ; 71,82 ; 70,71 ; 70,59 ; 70,56 ; 70,54 ; 70,51 ; 70,49 ; 70,46 ; 70,43 ; 70,39 ; 69,50 ; 69,34 ; 68,78 ; 58,88 ; 52,01 ;

(3,4,5-Tris-[monométhyléther tétraéthylène glycol]-phényl)-méthanol (35)

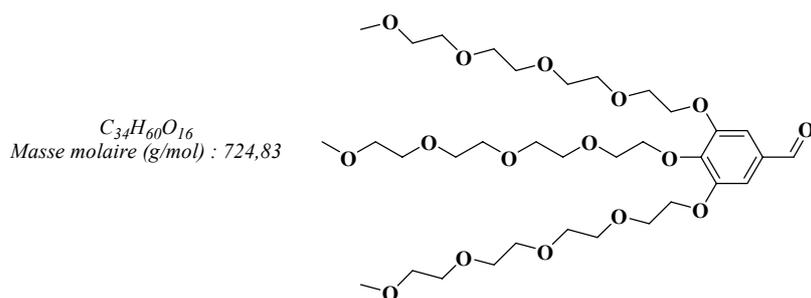


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **3a** en utilisant 12 g de l'ester **34** (16,00 mmol ; 1 éq.), 0,46 g de LiAlH_4 (12 mmol ; 0,75 éq.) dans 100 mL de THF anhydre en chauffant à reflux pendant une nuit. Le produit **35** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 11,28$ g ; Rdt. = 97 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 6,56 (s, 2H), 4,50 (d, 2H, $J = 5,02$ Hz), 4,11-4,04 (m, 6H), 3,77 (t, 4H, $J = 5,26$ Hz), 3,72 (t, 2H, $J = 5,26$ Hz), 3,65-3,56 (m, 32H), 3,56-3,46 (m, 6H), 3,31 (s, 3H), 3,30 (s, 6H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 152,54 ; 137,56 ; 136,85 ; 106,41 ; 72,17 ; 71,82 ; 70,67 ; 70,57 ; 70,56 ; 70,49 ; 70,47 ; 70,43 ; 70,38 ; 69,70 ; 68,75 ; 64,83 ; 58,89.

3,4,5-Tris-(monométhyléther tétraéthylène glycol)-benzaldéhyde (36)

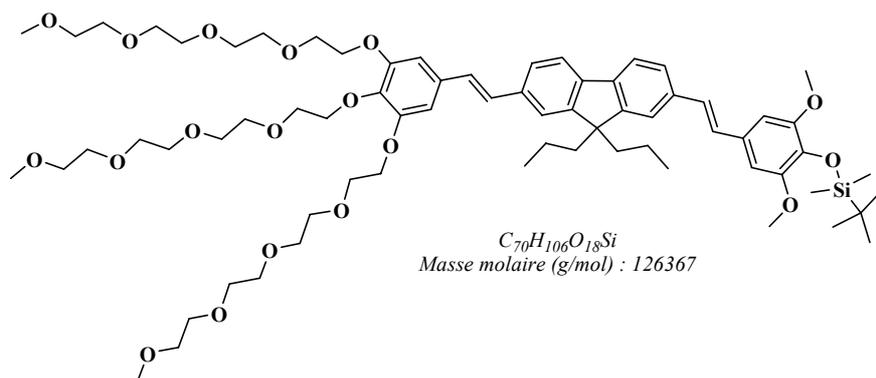


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **4a** en utilisant 10 g de l'alcool **35** (13,75 mmol ; 1 éq.) et 12 g de MnO_2 (large excès ; 10 éq.) dans 100 mL de dichlorométhane. Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à température ambiante. Le produit **36** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 9,56$ g ; Rdt. = 96 %).

1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 9,81 (s, 1H), 7,13 (s, 2H), 4,27-4,19 (m, 6H), 3,86 (t, 4H, $J = 5,62$ Hz), 3,79 (t, 2H, $J = 5,26$ Hz), 3,72-3,61 (m, 32 H) 3,54-3,51 (m, 6H), 3,36 (s, 6H), 3,44 (s, 3H).

^{13}C -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 190,85 ; 152,94 ; 144,03 ; 131,49 ; 108,89 ; 72,45 ; 71,83 ; 70,73 ; 70,57 ; 70,55 ; 70,51 ; 70,50 ; 70,47 ; 70,46 ; 70,41 ; 69,51 ; 68,89 ; 58,89.

(4-{2-[2,6-diméthoxy-phénol]-vinyl}-4'-{2-[3,4,5-Tris(monométhyléther tétraéthylène glycol)]-phényl}-vinyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (37)



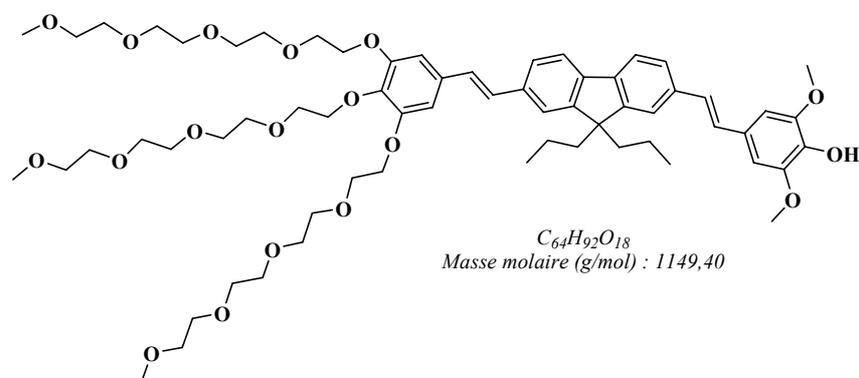
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **28** en utilisant 500 mg de **27** (0,72 mmol ; 1 éq.), 144 mg de NaH (3,6 mmol ; 5 éq.) et 523 mg de **36** (0,72 mmol, 1 éq.). Le produit **37** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 909,80$ mg ; Rdt = 85 %).

1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,64 (d, 2H $J = 8,33$ Hz), 7,48-7,46 (m, 4H), 7,08 (s, 2H), 7,05 (d, $J = 1,32$ Hz), 6,80 (s, 2H), 6,76 (s, 2H), 4,25-4,16 (m, 6H), 3,89 (t, 4H, $J = 5,26$ Hz), 3,87

(s, 6H), 3,81 (t, 2H, J = 5,26 Hz), 3,77-3,61 (m, 24H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,38 (s, 3H), 3,37 (s, 6H), 2,02-1,97 (m, 4H), 1,03 (s, 9H), 0,70 (s, 10H), 0,16 (s, 6H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 152,74 ; 151,72 ; 151,45 ; 140,58 ; 140,23 ; 138,26 ; 136,46 ; 136,04 ; 134,42 ; 133,10 ; 130,26 ; 128,72 ; 128,31 ; 127,64 ; 127,50 ; 125,59 ; 125,44 ; 120,60 ; 120,46 ; 119,81 ; 119,77 ; 106,13 ; 103,62 ; 71,88 ; 70,79 ; 70,65 ; 70,62 ; 70,57 ; 70,54 ; 70,47 ; 69,73 ; 68,81 ; 58,97 ; 55,73 ; 55,10 ; 53,39 ; 42,86 ; 25,76 ; 18,71 ; 17,15 ; 14,45 ; -4,65.

(4-{2-[2,6-diméthoxy-phénol]-vinyl}-4'-{2-[3,4,5-Tris(monométhyléther tétraéthylène glycol)]-phényl}-vinyl)-9,9'-di-*n*-propylfluorène (38)

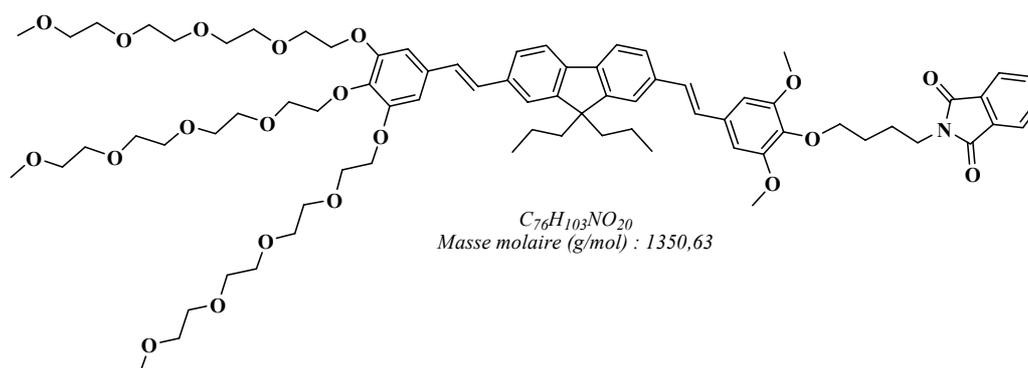


Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **29** en utilisant 550 mg de **37** (0,43 mmol ; 1 équ.) et 0,19 mL d'une solution de TBAF (0,65 mmol ; 1,50 équ.) dans le THF. Le produit **38** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 1,02 g ; Rdt. = 90 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,64 (d, 2H J = 8,33 Hz), 7,48-7,46 (m, 4H), 7,08 (d, 2H, J = 2,20 Hz), 7,05 (d, 2H, J = 1,09 Hz), 6,809 (s, 2H), 6,801 (s, 2H), 5,58 (s, 1H), 4,23 (t, 4H, J = 4,83 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,83 Hz), 3,97 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, J = 5,26 Hz), 3,81 (t, 2H, J = 5,26 Hz), 3,77-3,61 (m, 24H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,38 (s, 3H), 3,37 (s, 6H), 2,02-1,97 (m, 4H), 0,70 (s, 10H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 152,72 ; 151,51 ; 151,45 ; 147,19 ; 140,55 ; 140,31 ; 138,30 ; 136,34 ; 136,09 ; 134,68 ; 133,08 ; 129,14 ; 128,71 ; 128,09 ; 127,67 ; 127,40 ; 125,59 ; 125,43 ; 120,61 ; 120,44 ; 119,83 ; 106,15 ; 103,21 ; 77,16 ; 72,38 ; 71,90 ; 70,81 ; 70,65 ; 70,57 ; 70,54 ; 70,51 ; 70,49 ; 69,73 ; 68,83 ; 59,10 ; 58,99 ; 56,27 ; 55,11 ; 42,86 ; 29,66 ; 24,20 ; 19,76 ; 17,15 ; 14,45 ; 13,65.

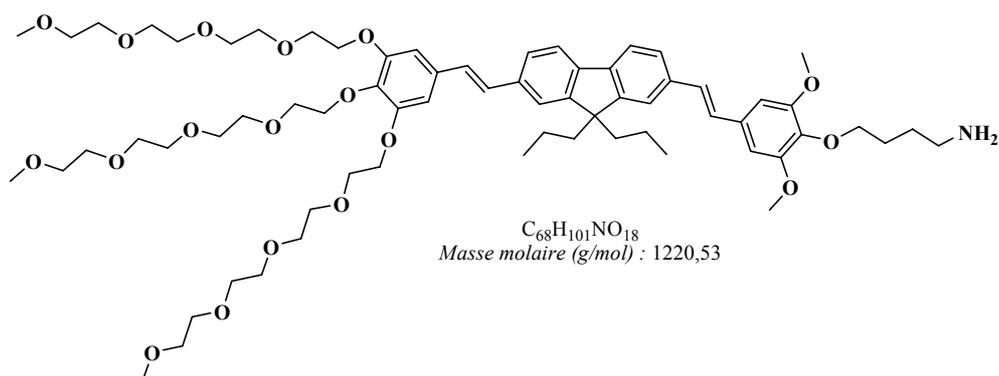
F1-4-Pht (39)



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **24** en utilisant 340 mg de **38** (0,29 mmol ; 1 éq.), 204 mg de K_2CO_3 (1,48 mol ; 5 éq.) et 100,15 mg de N-(4-Bromobutyl)-phthalimide (0,35 mmol ; 1,20 éq.). Le produit **39** est obtenu sous forme d'une huile jaune ($m = 333$ mg ; Rdt = 85 %).

$\sqrt{^1H}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,86-7,83 (m, 2H), 7,72-7,69 (m, 2H), 7,65 (d, 2H $J = 8,33$ Hz), 7,50-7,46 (m, 4H), 7,09 (s, 2H), 7,05 (d, 2H, $J = 0,87$ Hz), 6,80 (s, 2H), 6,76 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, $J = 4,83$ Hz), 4,18 (t, 2H, $J = 4,83$ Hz), 4,03 (t, 2H, $J = 6,35$ Hz), 3,91 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, $J = 5,26$ Hz), 3,81 (t, 2H, $J = 5,26$ Hz), 3,77-3,61 (m, 24H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,38 (s, 3H), 3,37 (s, 6H), 2,02-1,76 (m, 8H), 0,70 (s, 10H).

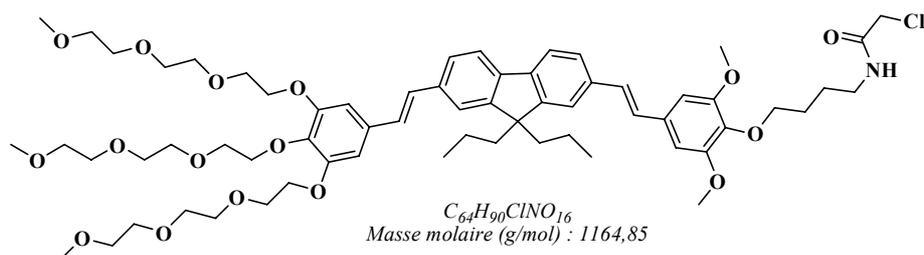
$\sqrt{^{13}C}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 168,39 ; 153,59 ; 152,74 ; 151,51 ; 151,49 ; 140,49 ; 138,28 ; 136,83 ; 136,18 ; 136,14 ; 133,78 ; 133,11 ; 133,08 ; 132,15 ; 128,70 ; 128,58 ; 127,98 ; 127,70 ; 125,56 ; 123,09 ; 120,61 ; 119,84 ; 106,15 ; 103,49 ; 77,17 ; 72,54 ; 72,38 ; 71,89 ; 70,79 ; 70,65 ; 70,62 ; 70,58 ; 70,57 ; 70,54 ; 70,51 ; 70,48 ; 69,74 ; 68,81 ; 58,98 ; 56,06 ; 55,13 ; 42,86 ; 37,78 ; 27,44 ; 25,22 ; 17,15 ; 14,45.

F1-4-NH₂ (40)

Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **25** en utilisant 620 mg de **39** (0,46 mmol ; 1 éq.) et 0,50 mL d'hydrate d'hydrazine ; Le produit **40** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 433 mg ; Rdt = 77 %) ;

$\sqrt{^1H}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,65 (d, 2H J = 8,33 Hz), 7,50-7,46 (m, 4H), 7,10 (s, 2H), 7,05 (s, 2H), 6,80 (s, 2H), 6,78 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, J = 4,83 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,83 Hz), 4,02 (t, 2H, J = 6,35 Hz), 3,92 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, J = 5,26 Hz), 3,81 (t, 2H, J = 5,26 Hz), 3,77-3,61 (m, 22H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,38 (s, 3H), 3,37 (s, 6H), 2,80 (t, 2H, J = 7,01 Hz), 2,02-1,65 (m, 8H), 0,70 (s, 10H).

$\sqrt{^{13}C}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 153,54 ; 153,13 ; 152,73 ; 152,35 ; 151,49 ; 151,23 ; 140,52 ; 138,26 ; 137,00 ; 136,15 ; 133,09 ; 128,65 ; 127,92 ; 127,71 ; 125,57 ; 122,80 ; 120,62 ; 119,84 ; 119,55 ; 111,27 ; 108,05 ; 106,13 ; 105,47 ; 103,57 ; 77,17 ; 73,23 ; 73,08 ; 72,38 ; 71,88 ; 70,78 ; 70,73 ; 70,63 ; 70,61 ; 70,56 ; 70,46 ; 69,73 ; 68,81 ; 68,70 ; 58,97 ; 56,11 ; 55,98 ; 55,13 ; 55,02 ; 42,85 ; 41,87 ; 38,19 ; 29,97 ; 27,45 ; 17,16 ; 14,45.

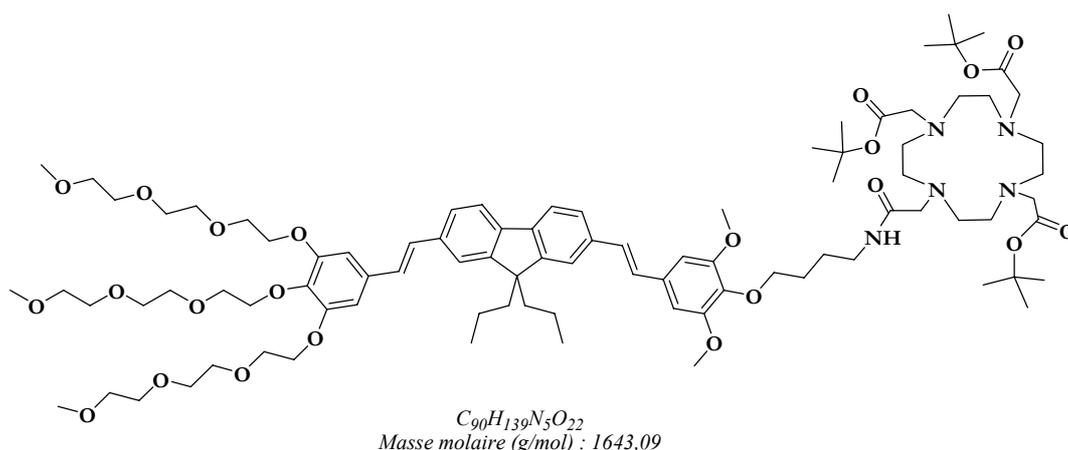
F1-4-Amd (42)

Dans un ballon tricol de 250 mL, sous argon, on introduit 300 mg de **31** (0,27 mmol ; 1 éq.) et 30 mL de dichlorométhane anhydre. On met le ballon dans un bain de glace, ensuite on ajoute 0,11 mL de triéthylamine (83 mg, 0,82 mmol ; 3 éq.), et 44 μ L de chlorure de chloroacetyl (62,28 mg ; 0,55 mmol ; 2 éq.). Le mélange réactionnel est agité pendant deux heures à température ambiante. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse de KOH (2 \times 20 mL), ensuite séchée sur $MgSO_4$. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol (9/1 en volumes) comme éluant. Le produit **42** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 270 mg ; Rdt. = 86%).

$\sqrt{^1H}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,65 (d, 2H J = 8,33 Hz), 7,50-7,46 (m, 4H), 7,11 (s, 2H), 7,06 (s, 2H), 6,80 (s, 2H), 6,78 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, J = 4,83 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,83 Hz), 4,05 (s, 2H), 4,03 (t, 2H, J = 6,35 Hz), 3,92 (s, 6H), 3,89 (t, 4H, J = 5,26 Hz), 3,81 (t, 2H, J = 5,26 Hz), 3,77-3,61 (m, 24H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,385 (s, 3H), 3,383 (s, 6H), 2,02-1,87 (m, 4H), 1,85-1,80 (m, 4H), 0,70 (s, 10H).

$\sqrt{^{13}C}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 165,83 ; 153,49 ; 152,74 ; 151,52 ; 151,49 ; 140,56 ; 140,48 ; 138,27 ; 136,78 ; 136,17 ; 136,11 ; 133,25 ; 133,08 ; 128,74 ; 128,69 ; 127,87 ; 127,72 ; 125,59 ; 120,63 ; 119,85 ; 106,15 ; 103,50 ; 77,18 ; 72,74 ; 72,37 ; 71,91 ; 71,90 ; 70,79 ; 70,91 ; 71,90 ; 70,79 ; 70,67 ; 70,65 ; 70,53 ; 70,49 ; 69,74 ; 68,81 ; 58,99 ; 56,07 ; 55,13 ; 42,85 ; 42,66 ; 39,60 ; 27,33 ; 25,89 ; 17,15 ; 14,45.

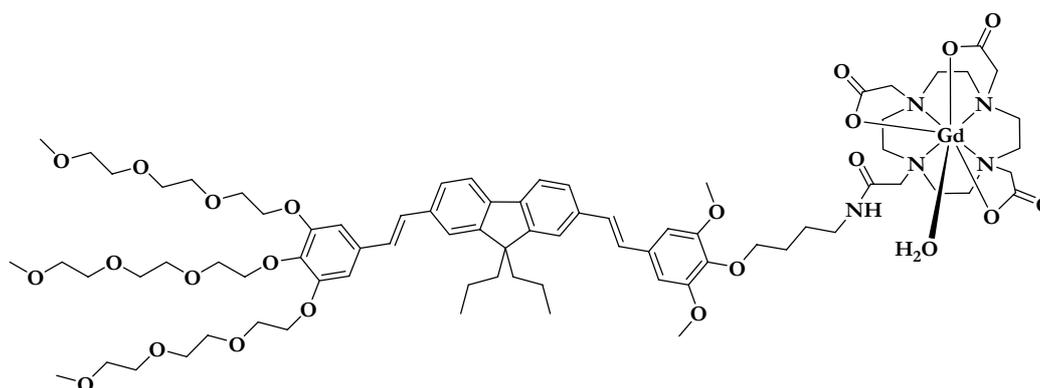
F1-4-Cyl (43)



Dans un ballon tricol de 250 mL, sous argon, on introduit 123,72 mg de cyclène (0,24 mmol ; 1 éq.), 5 équivalents de carbonate de potassium (166 mg ; 1,2 mmol) et 40 mL de l'acétonitrile anhydre. On chauffe le mélange réactionnel jusqu'à 65 °C, ensuite on ajoute goutte à goutte, une solution de 280 mg de **42** (0,24 mmol ; 1 éq.) dans 10 mL d'acétonitrile anhydre. On agite pendant une nuit à 65 °C. On filtre le mélange réactionnel sous vide et on évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol (96/4 en volumes) comme éluant. Le produit **43** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 335 mg ; Rdt. = 85%).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,65 (d, 2H J = 8,33 Hz), 7,49-7,46 (m, 4H), 7,09 (s, 2H), 7,05 (s, 2H), 6,79 (s, 2H), 6,75 (s, 2H), 4,23 (t, 4H, J = 4,83 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 4,83 Hz), 3,99 (m, 2H), 3,90-3,87 (m, 10H), 3,80 (t, 2H, J = 5,26 Hz), 3,77-3,61 (m, 24H), 3,57-3,53 (m, 6H), 3,378 (s, 3H), 3,377 (s, 6H), 3,04-1,77 (m, 32H), 1,46-1,43 (m, 27H), 0,70 (s, 10H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 172,23 ; 171,51 ; 170,67 ; 153,59 ; 152,73 ; 151,48 ; 140,51 ; 140,42 ; 138,29 ; 137,14 ; 136,23 ; 136,10 ; 133,06 ; 132,87 ; 128,68 ; 128,44 ; 128,06 ; 127,67 ; 125,56 ; 120,60 ; 119,81 ; 106,16 ; 103,55 ; 81,77 ; 81,75 ; 81,41 ; 80,86 ; 80,70 ; 77,21 ; 73,19 ; 72,35 ; 71,90 ; 71,88 ; 70,78 ; 70,66 ; 70,64 ; 70,51 ; 70,47 ; 69,73 ; 68,81 ; 58,97 ; 58,95 ; 56,09 ; 56,06 ; 55,70 ; 55,55 ; 55,10 ; 42,83 ; 39,06 ; 28,19 ; 28,17 ; 28,14 ; 28,05 ; 27,95 ; 27,89 ; 27,63 ; 25,81 ; 17,14 ; 14,43.

F1-4-Gd (44)

$C_{78}H_{114}GdN_5O_{23}$
Masse molaire (g/mol) : 1647,01

Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on dissout 105 mg de **43** (0,064 mmol ; 1 éq.) dans 10 mL de dichlorométhane, ensuite on ajoute 1,48 mL d'acide trifluoroacétique (0,019 mmol ; 0,30 éq.). On agite pendant une nuit à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On reprend le brut dans 3 mL de méthanol, puis on ajoute goutte à goutte 30 mL d'éther éthylique au mélange réactionnel. On isole le précipité par centrifugation, on obtient 85 mg de dérivé cyclène déprotégé.

Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on dissout le dérivé cyclène déprotégé (85 mg ; 0,058 mmol ; 1 éq.) dans 30 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 (100 mM), ensuite on ajoute 21,42 mg de chlorure de Gadolinium (III) hexahydraté (0,058 mmol ; 1 éq.). On agite à 80 °C pendant 12 heures. L'eau est évaporée sous pression réduite. On reprend le brut dans 20 mL de méthanol, puis on filtre sur célite. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par précipitation dans l'éther éthylique. On isole le précipité par centrifugation. Le produit **44** est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 86 mg ; Rdt. = 90 %).

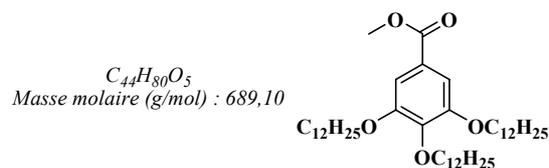
✓**SMHR** : m/z 1647,421 (calculée pour $C_{78}H_{114}GdN_5O_{23}$ m/z 1647,012).

PARTIE EXPERIMENTALE

**SYNTHESE DE NOUVEAUX CHROMOPHORES
MULTIPROPRIETES CONTENANT DU BORE**

Dérivés de Pyrazabole.

3,4,5-tridodécyloxybenzoate de méthyle (45)

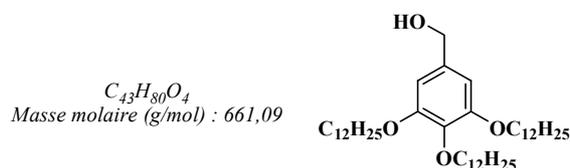


Dans un ballon de 1 litre, on introduit 47,18 g de 1-Bromododécane (190,00 mmol ; 3,50 éq.), 10,00 g de 3,4,5-trihydroxybenzoate de méthyle (54,00 mmol ; 1,00 éq.) et 100,00 mL de DMF. On ajoute 75,53 g de K_2CO_3 (0,54 mol ; 10,00 éq.) suivit de 100,00 mL de DMF. Le mélange réactionnel est chauffé à 80 °C pendant 2 jours sous argon. On filtre le mélange réactionnel sur célite, on évapore le solvant sous pression réduite, puis on reprend le produit brut dans 500,00 mL de CH_2Cl_2 . On lave avec 50,00 mL d'eau et 20,00 mL de HCl. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice par un mélange $CH_2Cl_2/MeOH$ (95/5 en volumes) comme éluant, pour obtenir le produit **45** sous forme d'un solide jaunâtre (m = 32,00 g ; Rdt. = 81 %).

1H -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,24 (s, 2H), 4,03-3,98 (m, 6H), 3,88 (s, 3H), 1,83-1,71 (m, 6H), 1,47-1,42 (m, 6H), 1,26 (m, 48H), 0,87 (t, 9H, J = 7,01 Hz).

^{13}C -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 166,94 ; 152,81 ; 142,36 ; 124,64 ; 107,97 ; 73,48 ; 69,16 ; 52,09 ; 31,94 ; 31,93 ; 30,33 ; 29,75 ; 29,72 ; 29,70 ; 29,67 ; 29,64 ; 29,57 ; 29,40 ; 29,37 ; 29,30 ; 26,08 ; 26,06 ; 22,69.

3,4,5-tridodécyloxybenzyl Alcool (46)



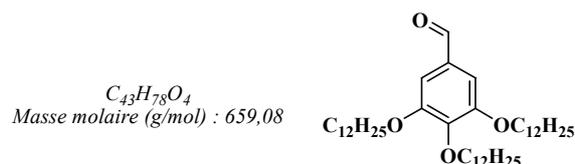
Dans un ballon bicol de 250 mL, préalablement purgé à l'argon, on dissout 5,00 g de l'ester **45** (7,00 mmol ; 1,00 éq.) dans 80,00 mL de THF anhydre. Le ballon est refroidi dans un bain de

glace-eau. On ajoute 0,21 g de LiAlH_4 (5,00 mmol ; 0,75 éq.) en petites fractions. Le mélange réactionnel est réchauffé à température ambiante et agité pendant une nuit. L'excès de LiAlH_4 est neutralisé avec 1,00 mL d'acétate d'éthyle, 1,00 mL d'éthanol puis 10,00 mL d'eau. Le mélange réactionnel est filtré sur célite. La phase organique est isolée avec du dichlorométhane (2 x 250,00 mL) et séchée sur MgSO_4 . Le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner le produit désiré sous forme d'un solide blanc ($m = 4,75 \text{ g}$; Rdt. = 99 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 6,55 (s, 2H), 4,59 (s, 2H), 3,99-3,91 (m, 6H), 1,82-1,71 (m, 6H), 1,47-1,44 (m, 6H), 1,27 (m, 48H), 0,88 (t, 9H, $J = 7,01 \text{ Hz}$).

$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 153,23 ; 137,54 ; 135,99 ; 105,29 ; 73,38 ; 69,05 ; 65,62 ; 63,05 ; 31,90 ; 31,88 ; 30,29 ; 29,71 ; 29,70 ; 29,66 ; 29,58 ; 29,38 ; 29,35 ; 29,33 ; 26,10 ; 26,06 ; 22,65 ; 14,06.

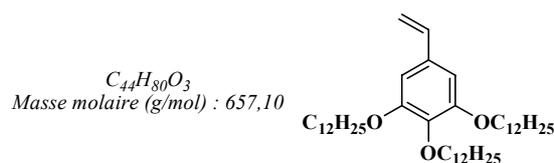
3,4,5-tridodécyloxybenzaldéhyde (47)



Dans un ballon de 250 mL, on dissout 4,75 g de **46** (7,00 mmol ; 1,00 éq.) dans 100,00 mL de chlorure de méthylène. Large excès de MnO_2 (7,00 g ; 10 éq.) est ajouté. On agite le mélange réactionnel pendant une nuit à température ambiante. On ajoute 7,00 g de MgSO_4 (même quantité que le MnO_2), puis on filtre le mélange sur célite. Le solvant est évaporé sous pression réduite pour obtenir le produit **47** sous forme d'un solide blanc ($m = 4,69 \text{ g}$; Rdt. = 99 %).

$^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 9,83 (s, 1H), 7,08 (s, 2H), 4,08-4,01 (m, 6H), 1,88-1,70 (m, 6H), 1,50-1,43 (m, 6H), 1,27 (m, 48H), 0,88 (t, 9H, $J = 7,01 \text{ Hz}$).

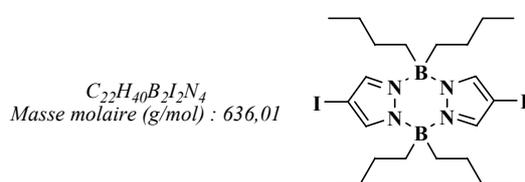
$^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 191,25 ; 153,47 ; 131,39, 107,80, 73,58 ; 69,19, 31,88, 30,30 ; 29,67 ; 29,65 ; 29,61 ; 29,58 ; 29,50 ; 29,33 ; 29,20 ; 26,02 ; 25,98 ; 22,64 ; 14,06.

3,4,5-tridodécyloxystyrène (48)

Dans un ballon bicol de 100 mL, sous argon, on introduit 3,03 g de PPh_3CH_3Br (8,50 mmol ; 1,20 éq.) et 40,00 mL de THF anhydre. On ajoute lentement (en plusieurs fractions) 952,00 mg de tBuOK (8,50 mmol ; 1,20 éq.) et on agite le mélange réactionnel pendant une demi-heure à température ambiante. Une solution de l'aldéhyde **47** (4,68 g ; 7,00 mmol ; 1,00 éq.) dans 20,00 mL de THF anhydre est ajoutée goutte à goutte. On agite le mélange réactionnel pendant une nuit à température ambiante. On évapore le solvant sous pression réduite, on reprend le produit brut avec du chlorure de méthylène et on lave avec 20,00 mL d'eau. On isole la phase organique et on la sèche sur $MgSO_4$. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec du dichlorométhane comme éluant. Le produit **48** est obtenu sous forme d'un solide blanc ($m = 3,20$ g ; Rdt. = 70 %).

$\sqrt{^1H}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 6,66-6,56 (dd, 1H, $J_1=10,96$ Hz, $J_2=10,74$ Hz), 5,65-5,59 (dd, 1H, $J_1=0,87$ Hz, $J_2=16,67$ Hz), 5,17 (d, 1H, $J = 11,40$ Hz), 4,01-3,93 (m, 6H), 1,85-1,70 (m, 6H), 1,50-1,43 (m, 6H), 1,27 (m, 48H), 0,89 (t, 9H, $J = 7,01$ Hz).

$\sqrt{^{13}C}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 153,15 ; 138,34 ; 136,91 ; 132,73 ; 112,64 ; 104,88 ; 73,44 ; 69,10 ; 31,91 ; 31,90 ; 30,30 ; 29,72 ; 29,70 ; 29,67 ; 29,63 ; 29,58 ; 29,39 ; 29,36 ; 29,33 ; 26,10 ; 26,07 ; 22,66 ; 14,07.

4,4,8,8-Tétrabutyl-2,6-diiodopyrazabole (49)

Dans un ballon bicol de 250 mL, on introduit sous argon, 4,00 g de 4-Iodopyrazole (10,31 mmol ; 1,00 éq.) et 80,00 mL de xylène. On ajoute 20,64 mL (1,0 M) d'une solution de tributylborane dans le THF. Le mélange réactionnel est porté à reflux (120 °C) pendant 12 h. On

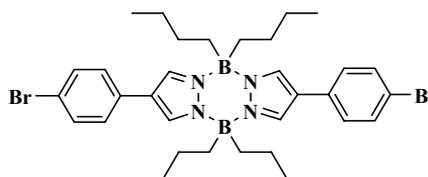
évaapore le solvant sous pression réduite. Le produit brut est lavé au méthanol pour obtenir le produit désiré sous forme d'un solide blanc (m = 4,60 g ; Rdt. = 70 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,60 (s, 4H), 1,40-1,21 (m, 8H), 0,80-0,70 (m, 8H), 0,78 (t, 12H, J = 7,28 Hz), 0,67-0,60 (m, 8H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 138,39 ; 56 ; 73 ; 27,26 ; 25,97 ; 13,96.

4,4,8,8-Tétrabutyl-2,6-bis(4-bromophényl)pyrazabole (50)

$\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{B}_2\text{Br}_2\text{N}_4$
Masse molaire (g/mol) : 694,20

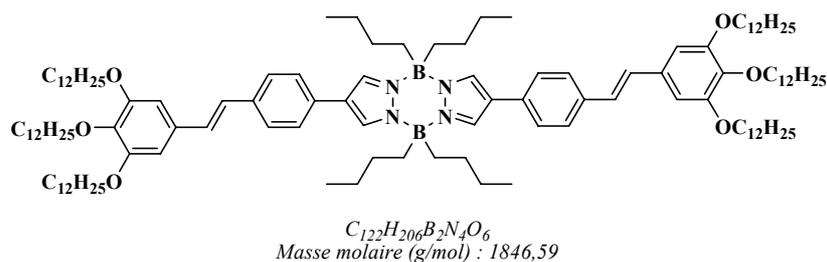


Dans un ballon bicol de 250 mL, préalablement purgé à l'argon, on introduit 2,00 g de **49** (3,14 mmol ; 1,10 éq.), 50,00 mL de benzène, 0,20 mmol de tetrakis(triphénylphosphine) Paladium (0) (234,00 mg ; 0,10 éq.), et 10,00 mL d'une solution aqueuse de Na_2CO_3 . Le mélange réactionnel est dégazé à l'argon puis il est chauffé à 80 °C. On ajoute goutte à goutte une solution d'acide 4-bromophényl boronique (1,15 g ; 5,70 mmol ; 2,00 éq.) dans 10,00 mL d'éthanol et on agite pendant 2 jours. On lave 3 fois à l'eau, ensuite On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO_4 . Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange méthanol/dichlorométhane (5/95 en volumes) comme éluant. Le produit **50** est obtenu sous forme d'un solide blanc (m = 1,18 g ; Rdt. = 60%).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,82 (s, 4H), 7,56-7,42 (AB, 8H, J = 8,55 Hz), 1,26-1,13 (m, 8H), 0,90-0,71 (m, 16H), 0,78 (t, 12H, J = 7,23 Hz).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 132,05 ; 130,29 ; 127,24 ; 122,05 ; 120,83 ; 27,49 ; 26,05 ; 14,01.

$\sqrt{\text{SMHR}}$: m/z 694,20382 (calculée pour $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{B}_2\text{Br}_2\text{N}_4$ m/z 694,20172).

Pz-1 (51)

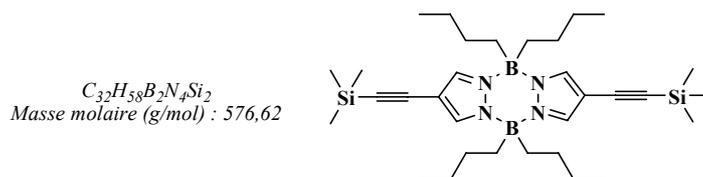
Dans un ballon tricol de 250 mL, on introduit 430,00 mg de **50** (0,62 mmol ; 1,00 éq.), 50,00 mg d'acétate de Palladium (II) (0,22 mmol ; 0,36 éq.) et 144,00 mg de TOP «tri-*o*-tolylphosphine» (0,47 mmol ; 0,75 éq.). On dégaze le montage à l'argon, puis on introduit 30,00 mL de triéthylamine et 60,00 mL de xylène. Le mélange réactionnel est chauffé à 60 °C pendant une heure et demi. On introduit une solution de **48** (895,00 mg ; 1,36 mmol ; 2,20 éq.) dans 10,00 mL de xylène, puis on augmente la température progressivement jusqu'à 120 °C et on agite pendant une semaine. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On reprend le produit brut dans du dichlorométhane et on lave à l'eau (2 x 200,00 mL). On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec du cyclohexane comme éluant. Le produit **51** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 228,00 mg ; Rdt. = 20 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,86 (s, 4H), 7,56 (s, 8H), 7,08-6,96 (AB, 4H, J = 16,01 Hz), 6,74 (s, 4H), 4,04 (t, 8H, J = 6,57 Hz), 3,98 (t, 4H, J = 6,58 Hz), 1,89-1,60 (m, 12H), 1,50-1,45 (m, 8H), 1,40-1,15 (m, 124H), 0,89 (t, 18H, J = 6,58 Hz), 0,79 (t, 12H, J = 7,24 Hz).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 153,30 ; 138,39 ; 136,30 ; 132,37 ; 130,31 ; 130,20 ; 128,79 ; 127,04 ; 126,91 ; 125,84 ; 122,74 ; 105,20 ; 73,50 ; 69,17 ; 43,42 ; 31,90 ; 31,89 ; 30,31 ; 30,13 ; 29,72 ; 29,72 ; 29,70 ; 29,67 ; 29,66 ; 29,63 ; 29,61 ; 29,58 ; 29,42 ; 29,39 ; 29,36 ; 29,33 ; 27,53 ; 26,87 ; 26,85 ; 26,09 ; 22,65 ; 14,07 ; 14,03.

✓SMHR : m/z 1846,5 (calculée pour C₁₂₂H₂₀₆B₂N₄O₆ m/z 1846,5).

4,4,8,8-Tetrabutyl-2,6-bis(triméthylsilyléthynyl)pyrazabole (52)

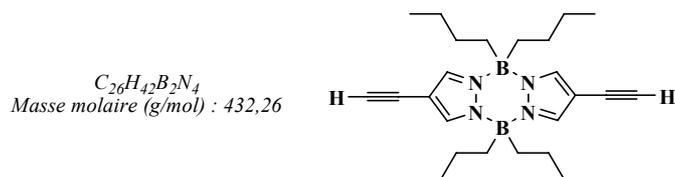


Dans un ballon tricol de 100 mL, sous argon, on dissout 2,00 g de 4,4,8,8-Tetrabutyl-2,6-diiodopyrazabole **49** (3,14 mmol ; 1,00 éq.) dans 60,00 mL de THF anhydre. On ajoute 110,00 mg de chlorure de Bis(triphénylphosphine)palladium (II) (0,16 mmol ; 0,05 éq.), 30,00 mg d'iodure de cuivre (I) (0,16 mmol ; 0,05 éq.), 1,40 mL de triméthylsilylacétylène (9,50 mmol ; 3,00 éq.) et 20,00 mL de diéthylamine. Le mélange réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 48 heures. On évapore le solvant sous pression réduite. On reprend le produit brut dans l'éther diéthylique et on lave à l'eau. La phase organique est isolée et séchée sur MgSO₄. On purifie le produit brut par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange cyclohexane/méthanol (98/2 en volumes) comme éluant. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide blanc (m = 1,63 g ; Rdt. = 90 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,68 (s, 4H), 1,19-1,10 (m, 8H), 0,79-0,70 (m, 8H), 0,77 (t, 12H, J = 7,23 Hz), 0,66-0,59 (m, 8H), 0,26 (s, 18H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 136,44 ; 103,91 ; 96,57 ; 94,66 ; 27,28 ; 26,05 ; 13,97 ; -0,16.

2,6-Diéthynyl-4,4,8,8-tetrabutylpyrazabole (53)



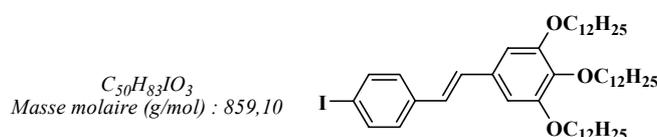
Dans un ballon bicol de 100 mL, on dissout 300,00 mg de 4,4,8,8-Tetrabutyl-2,6-bis(triméthylsilyléthynyl)-pyrazabole **52** (0,52 mmol ; 1,00 éq.) dans 30,00 mL de THF. Une solution de TBAF (0,82 mL ; 0,62 mmol ; 1,20 éq.) dans le THF est introduite goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une heure. Le produit brut est extrait par l'éther diéthylique (2 x 100,00 mL), et la phase organique est lavée à l'eau, séchée sur

sulfate de magnésium (MgSO_4), et le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit brut par chromatographie sur colonne de silice avec du cyclohexane comme éluant, pour donner **53** sous forme d'un solide blanc ($m = 202,00 \text{ mg}$; Rdt. = 90 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,71 (s, 4H), 3,10 (s, 2H), 1,21-1,13 (m, 8H), 0,80-0,72 (m, 8H), 0,77 (t, 12H, $J = 7,23 \text{ Hz}$), 0,68-0,61 (m, 8H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 136,64 ; 102,76 ; 79,47 ; 73,74 ; 27,25 ; 25,97 ; 13,95.

(Z)-4-Iodo-3',4',5'-tridodécyloxystilbène (**54**)



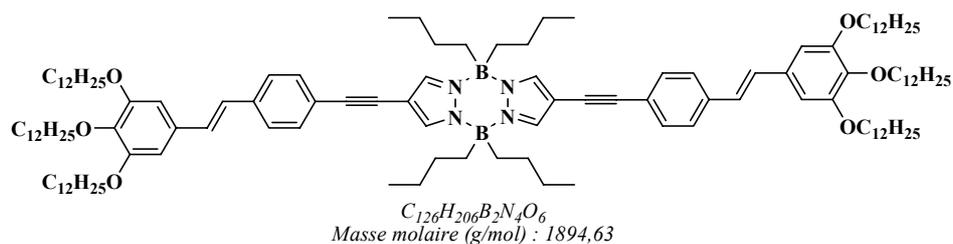
On dissout 1,00 g de diéthyl-(4-Iodo-benzyl)phosphonate **16** (2,80 mmol ; 1,00 éq.) dans 5,00 mL de THF anhydre, puis on additionne 565,00 mg de NaH (14,00 mmol ; 5,00 éq. ; 60 % dans l'huile). Après effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C sous argon. A cette solution on ajoute lentement la solution de l'aldéhyde **47** (1,85 g ; 2,80 mmol, 1,00 éq.) dans le THF anhydre (40,00 mL). On porte le mélange réactionnel à reflux pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, on filtre le solide en suspension et on neutralise le filtrat par l'éthanol. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On dissout le solide obtenu dans 200,00 mL de dichlorométhane, on lave cette solution avec 10,00 mL d'eau. On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO_4 . Le produit est recristallisé dans le méthanol pour obtenir le produit **54** sous forme d'un solide blanc ($m = 2,04 \text{ g}$; Rdt. = 85 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,66 (d, 2H, $J = 8,33 \text{ Hz}$), 7,23 (d, 2H, $J = 8,55 \text{ Hz}$), 7,03-6,85 (AB, 2H, $J = 16,23 \text{ Hz}$), 6,70 (s, 2H), 4,04-3,95 (m, 6H), 1,87-1,71 (m, 6H), 1,50-1,48 (m, 6H), 1,36-1,27 (m, 48H), 0,89(t, 9H, $J = 6,36 \text{ Hz}$).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 153,29 ; 138,55 ; 137,66 ; 136,90 ; 132,04 ; 129,69 ; 128,02 ; 126,42 ; 105,26 ; 92,41 ; 73,49 ; 69,15 ; 31,91 ; 31,89 ; 30,30 ; 29,72 ; 29,70 ; 29,68 ; 29,66 ; 29,62 ; 29,58 ; 29,39 ; 29,36 ; 29,33 ; 26,08 ; 22,66 ; 14,08.

$\sqrt{\text{SMHR}}$: m/z 858,53688 (calculée pour $\text{C}_{50}\text{H}_{83}\text{IO}_3$ m/z 858,53869).

Pz-2 (55)



Dans un ballon tricol de 100 mL, sous argon, on dissout 270,00 mg de 2,6-Diéthynyl-4,4,8,8-tetrabutylpyrazabole **53** (0,62 mmol ; 1,00 éq.) dans 30,00 mL de THF anhydre. On ajoute 43,80 mg de chlorure de Bis(triphénylphosphine)palladium (II) (0,06 mmol ; 0,10 éq.), 11,80 mg d'iodure de cuivre (I) (0,06 mmol ; 0,10 éq.), 1,10 g de **54** (1,28 mmol ; 2,05 éq.) et 10,00 mL de diéthylamine. Le mélange réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 24 heures. On évapore le solvant sous pression réduite, on reprend le produit brut dans l'éther diéthylique et on lave à l'eau. On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO₄. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec du cyclohexane. Le produit **55** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 587,00 mg ; Rdt. = 50 %).

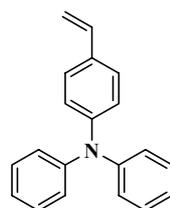
✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,79 (s, 4H), 7,51 (s, 8H), 7,09-6,94 (AB, 4H, J = 16,00 Hz), 6,74 (s, 4H), 4,06-3,98 (m, 12H), 1,87-1,76 (m, 12H), 1,51-1,45 (m, 8H), 1,30-1,19 (m, 124H), 0,91 (t, 18H, J = 6,58 Hz), 0,82 (t, 12H, J = 7,23 Hz).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 153,31 ; 138,64 ; 137,59 ; 137,59 ; 137,55 ; 137,23 ; 136,04 ; 135,96 ; 132,18 ; 131,66 ; 130,00 ; 126,79 ; 126,31 ; 121,51 ; 105,37 ; 104,16 ; 104,07 ; 91,34 ; 80,03 ; 73,51 ; 69,18 ; 31,93 ; 31,92 ; 31,34 ; 29,74 ; 29,72 ; 29,70 ; 29,68 ; 29,66 ; 29,60 ; 29,44 ; 29,41 ; 29,38 ; 29,36 ; 27,39 ; 27,33 ; 26,11 ; 26,08 ; 26,02 ; 25,96 ; 22,68 ; 14,09 ; 14,03.

✓SMBR : m/z 1894,6 (calculée pour C₁₂₆H₂₀₆B₂N₄O₆ m/z 1894,6).

4-(*N,N*-Diphénylamino)styrène (56)

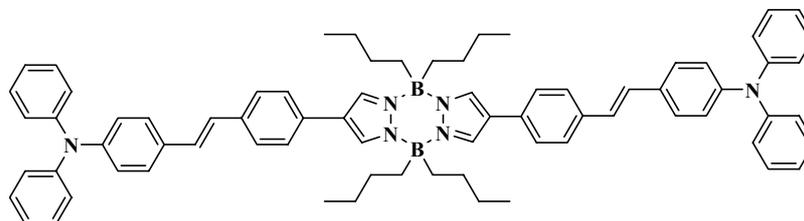
$C_{20}H_{17}N$
Masse molaire (g/mol) : 271,36



Dans un ballon bicol de 250 mL, sous argon, on introduit le PPh_3CH_3Br (3,41 g ; 9,51 mmol ; 1,30 éq.) et 60,00 mL de THF anhydre. On ajoute lentement en plusieurs fractions 1,10 g de t-BuOK (4,75 mmol ; 1,30 éq.) et on agite pendant une demi-heure à température ambiante. Une solution de 4-Diphénylamino-benzaldéhyde (2,00 g ; 7,32 mmol ; 1,00 éq.) dans 50,00 mL de THF anhydre est ajoutée goutte à goutte. On agite le mélange réactionnel pendant deux jours à température ambiante. On évapore le solvant, puis le produit brut est repris avec du chlorure de méthylène (150,00 mL). On lave à l'eau, on isole la phase organique avec du CH_2Cl_2 (4 x 20,00 mL) et on la sèche sur $MgSO_4$. On purifie le produit brut par chromatographie sur colonne de silice avec du dichlorométhane comme éluant. Le produit **56** est obtenu sous forme d'un solide jaunâtre (m = 1,39 g ; Rdt. = 70 %).

$\sqrt{^1H}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 7,31-7,22 (m, 6H), 7,12-7,00 (m, 8H), 6,72-6,62 (dd, 1H, $J_1=10,97$ Hz, $J_2=10,96$ Hz), 5,68-5,61 (dd, 1H, $J_1=1,10$ Hz, $J_2=17,76$ Hz), 5,18-5,14 (dd, 1H, $J_1=1,09$ Hz, $J_2=10,96$ Hz).

$\sqrt{^{13}C}$ -RMN, $CDCl_3$; (δ ppm) : 147,70 ; 136,4 ; 132,1 ; 129,50 ; 127,30 ; 124,60 ; 123,80 ; 123,10 ; 112,40 ; 47,80.

Pz-3 (57)

$C_{74}H_{80}B_2N_6$
Masse molaire (g/mol) : 1075,09

Dans un ballon tricol de 100 mL, on introduit 250,00 mg de 4,4,8,8-Tétrabutyl-2,6-bis(4-bromophényl)-pyrazabole **50** (0,36 mmol ; 1,00 éq.), 32,00 mg d'acétate de Palladium (II) (0,14

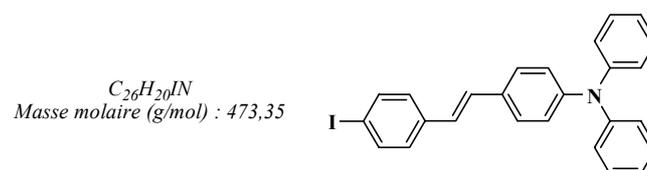
mmol ; 0,40 éq.) et 82,00 mg de TOP «tri-*o*-tolylphosphine» (0,27 mmol ; 0,75 éq.). On dégaze le montage à l'argon, puis on introduit 40,00 mL de triéthylamine. Le mélange réactionnel est chauffé pendant une heure et demi à 60 °C, ensuite on dissout 215,00 mg de **56** (0,79 mmol ; 2,20 éq.) dans 80,00 mL de xylène et on introduit la solution dans le milieu réactionnel. On augmente progressivement la température jusqu'à 140 °C et on agite pendant une semaine. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On reprend le produit brut dans du dichlorométhane et on lave à l'eau (2 x 200,00 mL). La phase organique est isolée et séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit brut par chromatographie sur colonne de silice avec du chlorure de méthylène comme éluant. Le produit **57** est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 42,00 mg ; Rdt. = 11 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,86 (s, 4H), 7,56 (s, 8H), 7,42 (d, 4H, J = 8,77), 7,30-7,25 (m, 12H), 7,14-7,00 (m, 16H), 1,30-1,18 (m, 16H), 0,89-0,77 (m, 8H), 0,79 (t, 12H, J = 7,23 Hz).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 147,48 ; 147,40 ; 140,68 ; 139,94 ; 136,66 ; 136,52 ; 131,44 ; 131,34 ; 130,19 ; 130,17 ; 129,24 ; 128,74 ; 128,19 ; 128,05 ; 127,32 ; 127,28 ; 126,84 ; 126,67 ; 126,67 ; 126,46 ; 126,37 ; 125,84 ; 124,47 ; 123,52 ; 123,02 ; 122,76 ; 77,16 ; 29,79 ; 29,65 ; 27,53 ; 26,32 ; 26,11 ; 14,03.

✓MALDI : m/z 1075,297 (calculée pour C₇₄H₈₀B₂N₆ m/z 1075,089).

(Z)-4-Iodo-4'-(*N,N*-diphénylamino)stilbène (**58**)



On dissout 1,00 g de diéthyl-(4-Iodo-benzyl)phosphonate **16** (2,80 mmol ; 1,00 éq.) dans 75,00 mL de THF anhydre, puis on ajoute 339,00 mg de NaH (14 mmol ; 5 éq. ; 60 % dans l'huile). Après effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C sous argon. A ce mélange on ajoute lentement la solution de 4-Diphénylamino-benzaldéhyde (765,30 mg ; 2,80 mmol, 1,00 éq.) dans le THF anhydre (20,00 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 2 heures. Après refroidissement, on neutralise l'hydrure de sodium restant par 20,00 mL d'éthanol. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On dissout le solide obtenu dans 200,00 mL de dichlorométhane, on lave avec 10,00 mL d'une solution aqueuse de NaCl puis 10,00 mL

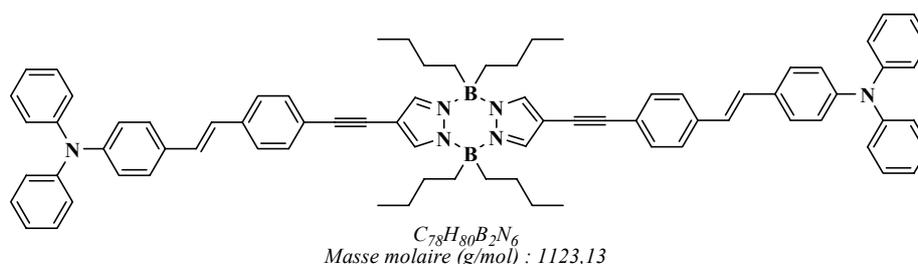
d'eau. On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO_4 . Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol (97/3 jusqu'au 50/50 en volumes) comme éluant, on obtient le produit désiré sous forme d'un solide jaune ($m = 1,12 \text{ g}$; Rdt. = 85 %).

✓ $^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,66 (d, 2H, $J = 8,34 \text{ Hz}$), 7,37 (d, 2H, $J = 8,55 \text{ Hz}$), 7,30-7,21 (m, 6H), 7,13-7,02 (m, 8H), 7,08-6,87 (AB, 2H, $J = 16,22 \text{ Hz}$).

✓ $^{13}\text{C-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 147,62 ; 147,41 ; 137,64 ; 137,14 ; 130,89 ; 129,27 ; 128,95 ; 127,96 ; 127,40 ; 125,67 ; 124,56 ; 123,33 ; 123,12 ; 92,19.

✓ SMHR : m/z 473,06354 (calculée pour $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{IN}$ m/z 473,064052).

Pz-4 (59)



Dans un ballon tricol de 100 mL, sous argon, on dissout 200,00 mg de 2,6-Diéthynyl-4,4,8,8-tetrabutylpyrazabole **53** (0,46 mmol ; 1,00 éq.) dans 30,00 mL de THF anhydre. On ajoute 34,00 mg de chlorure de Bis(triphénylphosphine)palladium(II) (0,046 mmol ; 0,10 éq.), 10,00 mg d'iodure de cuivre (I) (0,046 mmol ; 0,10 éq.), 438,00 g de **58** (0,92 mmol ; 2,00 éq.) et 10,00 mL de diéthylamine. Le mélange réactionnel est chauffé à 60 °C pendant 48 heures. On évapore le solvant sous pression réduite. On reprend le produit brut dans l'éther diéthylique et on lave à l'eau. On isole la phase organique et on la sèche sur MgSO_4 . Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange cyclohexane/méthanol (98/2 en volumes) comme éluant. Le produit désiré est obtenu sous forme d'un solide jaune ($m = 258,00 \text{ mg}$; Rdt. = 50 %).

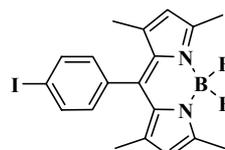
✓ $^1\text{H-RMN}$, CDCl_3 ; ($\delta \text{ ppm}$) : 7,77 (s, 4H), 7,49 (s, 8H), 7,40 (d, 2H, $J = 8,99 \text{ Hz}$), 7,30-7,24 (m, 12H), 7,14-6,95 (m, 20H), 1,26-1,15 (m, 8H), 0,86-0,71 (m, 16H), 0,80 (t, 12H, $J = 7,24 \text{ Hz}$).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 147,40 ; 137,76 ; 137,23 ; 135,95 ; 131,64 ; 129,27 ; 127,44 ; 126,21 ; 126,03 ; 124,58 ; 123,28 ; 123,13104,02 ; 102,55 ; 91,35,79,93 ; 30,13 ; 29,66 ; 27,36 ; 27,30 ; 26,85 ; 26,08 ; 26,01.

✓SMHR : m/z 1123,670172 (calculée pour C₇₈H₈₀B₂N₆ m/z 1123,670883).

p-(4-iodophényl)BODIPY (60)

C₁₉H₁₈BF₂IN₂
Masse molaire (g/mol) : 450,07



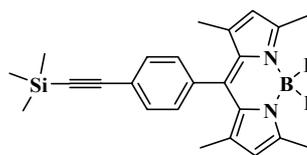
Dans un ballon tricol de 250 mL, sous argon, on introduit 1,65 mL de 2,4-diméthylpyrrole (16,00 mmol ; 2,00 éq.) et 90,00 mL de chlorure de méthylène. A cette solution on ajoute goutte à goutte à température ambiante 1,50 g de chlorure de *p*-Iodobenzoyl (8,00 mmol, 1,00 éq.). Le mélange réactionnel est chauffé à 50 °C pendant 2 heures. On évapore le solvant sous pression réduite, et on ajoute 190,00 mL de toluène, 10,00 mL de dichlorométhane et 5,31 mL de triéthylamine (3,88 g ; 38,00 mmol ; 4,75 éq.). Le mélange est agité pendant 30 minutes ensuite 7,00 mL d'éthérate de trifluorure de bore (7,82 g ; 55,00 mmol ; 6,90 éq.) sont ajoutés. On chauffe le mélange réactionnel à 50 °C pendant une heure et demi. On évapore le solvant sous pression réduite, on reprend le produit brut dans du dichlorométhane, et on lave à l'eau. On isole la phase organique, on la sèche sur MgSO₄, et on évapore le solvant sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange cyclohexane/dichlorométhane (de 100/0 à 25/75 en volumes) comme éluant. Le produit **60** est obtenu sous forme de cristaux rouges (m = 1,30 g ; Rdt. = 36%).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,85 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,05 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 5,99 (s, 2H), 2,55 (s, 6H), 1,42 (s, 6H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 155,83 ; 142,87 ; 140,02 ; 138,31 ; 137,52 ; 134,51 ; 129,91 ; 121,38 ; 94,70 ; 26,87 ; 14,61 ; 14,56.

***p*-(4-Triméthylsilyléthynylphényl)BODIPY (61)**

$C_{24}H_{27}BF_2N_2Si$
Masse molaire (g/mol) : 420,38

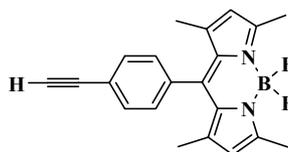


Dans un ballon bicol de 100,00 mL, on introduit 0,28 mL de Triméthylsilylacétylène (198,4 mg ; 2,02 mmol, 1,00 éq.), 1,00 g de Iodo-BODIPY **60** (2,22 mmol ; 1,10 éq.), 85,40 mg Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,12 mmol ; 0,06 éq.), 60,00 mL de THF et 10,00 mL d'*i*-Pr₂NH. On dégaze la solution rose formée à l'argon. On ajoute 39,00 mg de CuI (0,202 mmol ; 0,1,00 éq.) sur le mélange réactionnel. On soumet le mélange réactionnel à des ultrasons pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite on agite une nuit à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol (95/5 en volumes) comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'un solide rouge (m = 679,00 mg ; Rdt. = 80 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl₃; (δ ppm) : 7,61 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,25 (d, 2H, J = 8,55 Hz), 5,98 (s, 2H), 2,55 (s, 6H), 1,40 (s, 6H), 0,28 (s, 9H).

***p*-(4-éthynylphényl)BODIPY (62)**

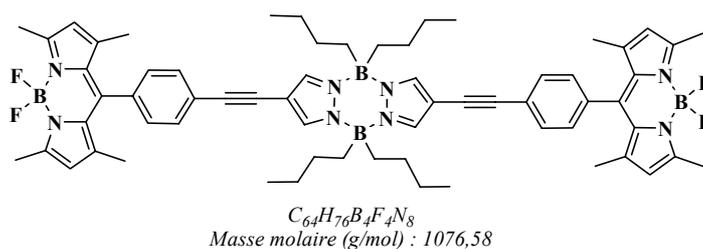
$C_{21}H_{19}BF_2N_2$
Masse molaire (g/mol) : 348,20



Dans un ballon bicol de 100 mL, on dissout 230,00 mg de **61** (0,54 mmol ; 1,00 éq.) dans 30,00 mL de THF. Une solution de TBAF (0,86 mL ; 0,65 mmol ; 1,20 éq.) dans le THF est introduite goutte à goutte au milieu réactionnel. Le mélange est agité à température ambiante pendant 15 minutes. On filtre le mélange réactionnel sur silice et on lave plusieurs fois au dichlorométhane. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On obtient le produit désiré sous forme d'un solide rouge (m = 170,00 mg ; Rdt. = 90 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl₃; (δ ppm) : 7,63 (d, 2H, J = 8,11 Hz), 7,27 (d, 2H, J = 7,89 Hz), 5,99 (s, 2H), 3,18 (s, 2H), 2,56 (s, 6H), 1,40 (s, 6H).

Pz-5 (63)



Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 170,00 mg de **62** (0,49 mmol, 2,00 éq.), 170,80 mg de 4,4,8,8-Tetra-butyl-2,6-diiodopyrazabole **49** (0,27 mmol ; 1,10 éq.), 10,30 mg Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,015 mmol ; 0,06 éq.), 30,00 mL de THF et 5,00 mL d'i-Pr₂NH. On dégaze la solution rose formée à l'argon. On ajoute 4,70 mg de CuI (0,024 mmol ; 0,10 éq.) au mélange réactionnel. On soumet le mélange réactionnel à des ultrasons pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite on agite 2 jours à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol (95/5 en volumes) comme éluant. Le produit **63** est obtenu sous forme d'un solide rouge-orangé (m = 131,00 mg ; Rdt. = 50 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,80 (s, 4H), 7,67 (d, 4H, J = 8,11 Hz), 7,31 (d, 4H, J = 7,90 Hz), 6,00 (s, 4H), 2,57 (s, 12H), 1,43 (s, 12H), 1,22-1,15 (m, 8H), 0,89-0,69 (m, 16H), 0,80 (t, 12H, J = 7,23 Hz).

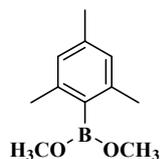
✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 155,79 ; 142,89 ; 140,58 ; 136,12 ; 135,16 ; 132,04 ; 128,41 ; 128,30 ; 123,62 ; 121,35 ; 103,61 ; 90,49 ; 80,68 ; 77,16 ; 31,39 ; 30,14 ; 29,65 ; 27,36 ; 26,04 ; 22,64 ; 14,56 ; 14,50 ; 14,01.

✓SMHR : m/z (calculée pour C₆₄H₇₆B₄F₄N₈ m/z 1076,57945).

Dérivés de Cyclodiborazane.

Diméthoxymésitylborane (64)

$C_{11}H_{17}BO_2$
Masse molaire (g/mol) : 192,06



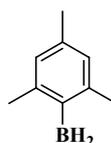
Dans un ballon tricol de 250 mL, on introduit 3,10 g de magnésium (127,80 mg-atm) et un cristal d'iode. Sur ce mélange on ajoute goutte à goutte une solution de 2-bromomésitylène (23,40 g ; 117,5 mmol) dans 80,00 mL de THF à température ambiante. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. Après retour à température ambiante, on ajoute goutte à goutte cette solution sur une solution de triméthylborane (26,00 mL ; 229 mmol) dans 80,00 mL d'éther diéthylique à $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ce mélange est agité pendant 3 heures à $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. On réchauffe à température ambiante et on agite pendant une nuit. Le mélange réactionnel est filtré sous argon en lavant le sel résiduel au pentane anhydre (20,00 mL). On évapore le solvant du filtrat ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$; 760 mmHg). Le produit est purifié par distillation ($76\text{ }^{\circ}\text{C}$ à 5,0 mmHg), pour obtenir **64** sous forme d'une huile incolore ($m = 11,60\text{ g}$; Rdt. = 51 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 6,84 (s, 2H), 3,59 (s, 6H), 2,29 (s, 3H), 2,27 (s, 6H).

$\sqrt{^{11}\text{B-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 31,7.

Mésitylborane (65)

$C_9H_{13}B$
Masse molaire (g/mol) : 132,01



Sous argon, à $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, on ajoute une suspension de LiAlH_4 (1,08 g ; 28,63 mmol) dans l'éther diéthylique (30,00 mL), à une solution de diméthoxymésitylborane **64** (5,00 g ; 26,03 mmol ; 1,00 équ.) dans l'éther diéthylique (100,00 mL) et pentane (25,00 mL). On réchauffe à température ambiante et on agite pendant 3 heures. Le mélange réactionnel est filtré sous argon et le sel résiduel est lavé à l'éther diéthylique anhydre (20,00 mL) et pentane anhydre (5,00 mL). Au filtrat on ajoute goutte à goutte 3,33 mL de chlorure de triméthylsilyl (26,03 mmol ; 1,00 équ.) et on agite

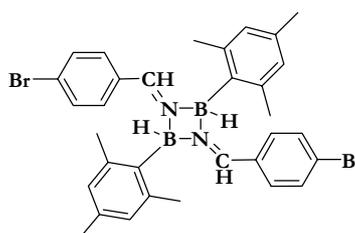
pendant 3 heures à température ambiante. Le précipité est éliminé sous argon par décantation. On évapore le solvant sous pression réduite pour obtenir le mésitylborane **65** sous forme d'un solide blanc ($m = 2,40 \text{ g}$; Rdt. = 70 %; mp 46 °C).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 6,92 (s, 2H), 2,39 (s, 6H), 2,32 (s, 3H).

✓¹¹B-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 22,4.

4,4'-di(bromophényl)dimésitylcyclodiborazane (**66**)

$C_{32}H_{34}B_2Br_2N_2$
Masse molaire (g/mol): 628,06



Cette réaction a été réalisée directement sur le mésitylborane **65** formé lors de la réaction précédente dans le même montage. Sur le 2,40 g de mésitylborane **65** (18,18 mmol; 1,10 éq.) on ajoute 50,00 mL de THF fraîchement distillé. Une solution de 3,01 g de 4-bromobenzonitrile (16,52 mmol; 1,00 éq.) dans 100,00 mL de THF est ajoutée goutte à goutte au mélange réactionnel à 0°C. On réchauffe le mélange réactionnel à température ambiante et on agite pendant 12 heures. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par recristallisation dans le méthanol ($m_1 = 3,42 \text{ g}$; Rdt.₁ = 60 %; $m_2 = \dots \text{ g}$; Rdt.₂ = ... %), Les deux stéréoisomères (solide blanc) possibles sont séparés par chromatographie sur colonne d'alumine avec de l'hexane.

Isomère *trans-syn* :

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 8,09 (s, 2H), 7,42-7,33 (AB, 8H, J = 8,77 Hz), 6,88 (s, 2H), 6,77 (s large, 2H), 5,90-4,60 (large bande, B-H, 1H), 2,54 (s large, 6H), 2,47 (s, 6H), 2,30 (s, 3H), 2,22 (s, 3H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) :

✓¹¹B-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 3,40.

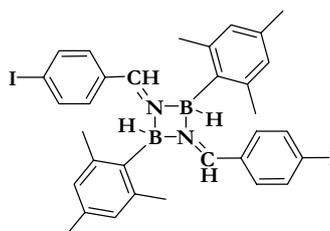
✓IR (cm⁻¹) : 1652 (ν_{C=N}), 2365 (ν_{B-H}).

Isomère *trans-anti* :

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,97 (s, 2H), 7,43-7,35 (AB, 8H, $J = 9,00$ Hz), 7,00-6,60 (large bande, 4H), 5,90-4,60 (large bande, B-H, 1H), 3,10-2,10 (large bande, 12H), 2,27 (s, 6H).-

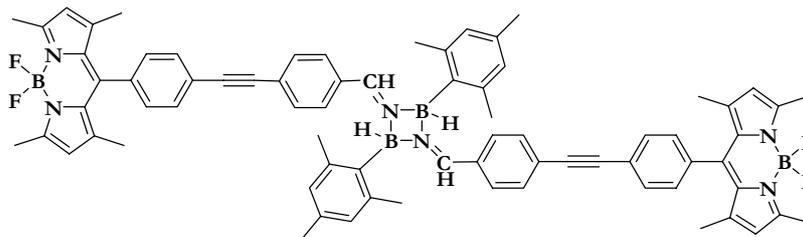
4,4'-di(iodophényl)dimésitylcyclodiborazane (67)

$\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{B}_2\text{I}_2\text{N}_2$
Masse molaire (g/mol): 722,06



Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **66** en utilisant 2,40 g de mésitylborane **65** (18,18 mmol ; 1,10 éq.) et 3,80 g de 4-Iodobenzonitrile (16,56 mmol ; 1,00 éq.). On purifie le produit (mélange d'isomères) par recristallisation dans le méthanol ($m = 3,58$ g ; Rdt. = 60 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,94-8,06 (CH=N, 2H), 7,17-7,63 [Ar-H (phenyl), 8H], 6,77-6,78 [Ar-H (mesityl), 4H], 2,22-2,53 (CH₃, 18H).

CB-1 (68)

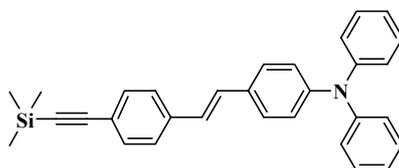
$\text{C}_{74}\text{H}_{70}\text{B}_4\text{F}_4\text{N}_6$
Masse molaire (g/mol) : 1162,63

Dans un ballon bicol de 100,00 mL, on introduit 207,00 mg de **62** (0,59 mmol, 2,00 éq.), 195,00 mg de **67** (0,29 mmol ; 1,10 éq.), 10,60 mg PdCl_2 (0,059 mmol ; 0,10 éq.), 1,80 mg d'acétate de cuivre monohydrate (0,009 mmol ; 0,015 éq.), 62,37 mg de triphénylphosphine (0,24 mmol ; 0,40 éq.), 15,00 mL de THF et 50,00 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est

dégazé à l'argon. On chauffe le mélange réactionnel à 80 °C pendant 12 heures. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol (70/30 en volumes) comme éluant, pour obtenir le produit **68** sous forme d'une poudre rouge (m = 171,00 mg ; Rdt. = 50 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 8,05 (CH=N, 2H), 7,91 (d, 4H, J = 9 Hz), 7,73-7,67 (m, 4H), 7,55-7,43 (AB, 8H, J = 9Hz), 7,35-7,30 (m, 4H), 6,99 (s, Ar-H (mesityl), 2H), 6,91-6,71 [large pic, Ar-H (mesityl), 2H], 6,00 (s, 2H), 5,99 (s, 2H), 2,57 (s, 24H), 1,48-1,42 [-CH₃ (*o*-mesityl), 12H], 1,31-1,26 [-CH₃ (*p*-mesityl), 6H].

(Z)-4-Triméthylsilyléthynyl-4'-(*N,N*-diphénylamino)stilbène (**69**)



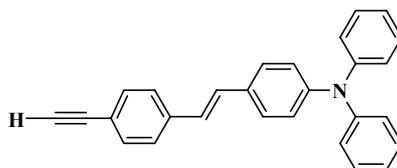
$C_{31}H_{29}NSi$
Masse molaire (g/mol) : 443,65

Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 0,13 mL de Triméthylsilylacétylène (94,30 mg ; 0,96 mmol, 1,00 éq.), 500,00 mg de **58** (1,05 mmol ; 1,10 éq.), 42,9 mg Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,057 mmol ; 0,06 éq.), 60,00 mL de THF et 10,00 mL d'*i*-Pr₂NH. On dégaze la solution à l'argon. On ajoute 18,67 mg de CuI (0,096 mmol ; 0,1,00 éq.) puis on soumet le mélange réactionnel à des ultrasons pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite on agite pendant une nuit à 60 °C. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol (95/5 en volumes) comme éluant. Le produit **69** est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 381,00 mg ; Rdt. = 90 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,45-7,40 (AB, 4H, J = 6,14 Hz), 7,37 (d, 2H, J = 8,55 Hz), 7,30-7,24 (m, 5H), 7,13-6,92 (m, 9H), 0,19 (s, 9H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 147,59 ; 147,43 ; 137,77 ; 132,23 ; 131,03 ; 129,26 ; 129,12 ; 127,41 ; 126,13 ; 125,97 ; 124,57 ; 123,30 ; 123,11 ; 121,61 ; 105,27 ; 94,83 ; -0,03.

✓MALDI : m/z 443,109 (calculée pour C₃₁H₂₉NSi m/z 443,654).

(Z)-4-éthynyl-4'-(N,N-diphénylamino)stilbène (70)

$C_{28}H_{21}N$
Masse molaire (g/mol) : 371,47

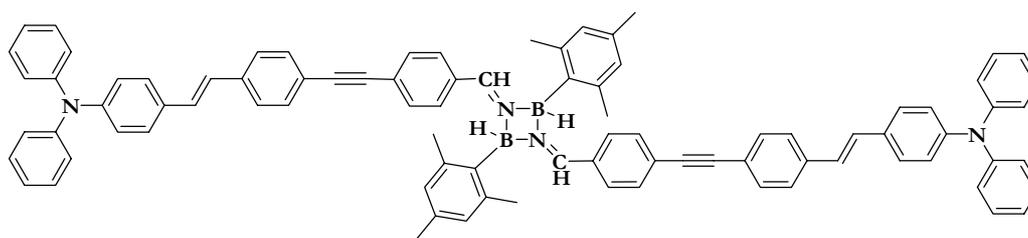
Dans un ballon de 100,00 mL, on dissout 200,00 mg (0,45 mmol ; 1,00 éq.) de **69** dans 20,00 mL de THF. On ajoute goutte à goutte 0,20 mL de TBAF (0,67 mmol ; 1,5 éq.) dans le THF. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant une heure. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec du cyclohexane, on obtient le produit désiré sous forme d'un solide jaune (m = 150,00 mg ; Rdt. = 80 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,46-6,93 (m, 20H), 3,12 (s, 1H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 147,64 ; 147,40 ; 138,12 ; 132,39 ; 130,92 ; 129,34 ; 129,26 ; 127,44 ; 126,05 ; 125,97 ; 124,60 ; 124,57 ; 123,28 ; 123,13 ; 120,52 ; 83,79.

✓MALDI : m/z 371,117 (calculée pour C₂₈H₂₁N m/z 371,473).

CB-2 (71)



$C_{88}H_{74}B_2N_4$
Masse molaire (g/mol) : 1209,18

Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 200,00 mg de **70** (0,53 mmol, 2,00 éq.), 194,38 mg de 4,4'-diiodocyclodiborazane **67** (0,26 mmol ; 1,00 éq.), 9,50 mg PdCl₂ (0,053 mmol ; 0,10 éq.), 1,60 mg d'acétate de cuivre monohydrate (0,008 mmol ; 0,015 éq.), 56,49 mg de triphénylphosphine (0,21 mmol ; 0,40 éq.), 15,00 mL de THF et 45,00 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On chauffe le mélange réactionnel à 80 °C pendant 12 heures. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol comme éluant, on isole deux isomères pour le produit désiré sous forme de solides jaunes ($m_1 = 146,00$ mg ; Rdt.₁ = 44 % ; $m_2 = 30,00$ mg ; Rdt.₂ = 12 %).

Isomère *trans-anti* :

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 8,03 (CH=N, 2H), 7,52-7,37 (m, 18H), 7,30-7,25 (m, 10H), 7,13-6,93 (m, 18H), 6,86-6,83 [Ar-H (mesityl), 4H], 2,73-2,18 [-CH₃ (*o*-mesityl), 12H], 1,44 [-CH₃ (*p*-mesityl), 6H].

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 158,66 ; 147,66 ; 147,40 ; 138,04 ; 136,63 ; 135,73 ; 132,72 ; 131,96 ; 131,51 ; 130,95 ; 130,47 ; 129,35 ; 128,74 ; 128,21 ; 127,46 ; 126,66 ; 126,16 ; 126,01 ; 125,47 ; 123,27 ; 123,14 ; 121,17 ; 92,78 ; 89,61 ; 77,16 ; 34,18 ; 21,00.

✓SMHR : m/z 1209,438 (calculée pour C₈₈H₇₄B₂N₄ m/z 1209,178).

Isomère *trans-syn*

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 8,03 (CH=N, 2H), 7,53-7,25 (m, 38H), 7,14-6,91 (m, 12H), 6,87-6,70 [Ar-H (mesityl), 4H], 2,80-2,20 [-CH₃ (*o*-mesityl), 12H], 2,27 [-CH₃ (*p*-mesityl), 6H].

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) :

✓MALDI : m/z 1209,466 (calculée pour C₈₈H₇₄B₂N₄ m/z 1209,178).

Cristallographie

Un monocristal du chromophore 71 a été analysé par un détecteur diffractomètre type Nonius Kappa-CCD (Mo K α λ = 0,71073 Å). Les conditions complètes de collection des données (logiciel Denzo) et le raffinement de la structure, sont donnés en dessous. Les paramètres de la cellule ont été déterminés de réflexions prises d'un ensemble de 10 images (1,0° pas par angle phi), chacun à 20 s d'exposition. Un nombre total de 5234 réflexions, $1,52^\circ < \theta < 27,37^\circ$, 7713 réflexions indépendantes avec 4286 ont $I > 2\sigma(I)$; 428 paramètres.

Empirical formula	C ₈₈ H ₇₄ B ₂ N ₄
Formula weight	1209.13 g/mol
Crystal color, Habit	Yellow, prismatic crystal
Crystal dimensions	0.10×0.10×0.08 mm ³
Crystal system	triclinic
Space group	P-1
Lattice parameters	a = 8.2350(10) Å b = 14.4660(10) Å c = 16.4020(10) Å α = 102.61(5)° β = 101.87(5)° γ = 105.00(5)° V = 1769.1(3) Å ³
Z value	Z = 1
ρ_{calc}	1.135 g.cm ⁻³
μ (Mo K α)	0.065 mm ⁻¹

La structure a été analysée en utilisant la méthode directe (SHELXS97) et ensuite raffinée contre F2 en utilisant le logiciel SHELXL97.^{Ref} Tous les atomes non-hydrogénés ont été raffinés d'une façon anisotrope. Les atomes hydrogénés ont été générés selon leur stéréochimie et raffinés en utilisant un modèle de lecture dans SHELXL97. Les résultats finaux sont : $R_1 = 0,0866$, $wR_2 = 0,2283$, $Goof = 0,968$, densité résiduelle électronique maximale = $0,165 \text{ e}^- \cdot \text{Å}^{-3}$.

Les données cristallographiques (sans les facteurs de la structure) ont été déposées dans Cambridge Crystallographic Data Centre comme une publication supplémentaire n° CCDC 609596. Les images ORTEP du chromophore **71** sont présentées dans les figures 1- 4.

^{Ref} Sheldrick, G.M. SHELXL97, University of Göttingen, Germany, **1997**

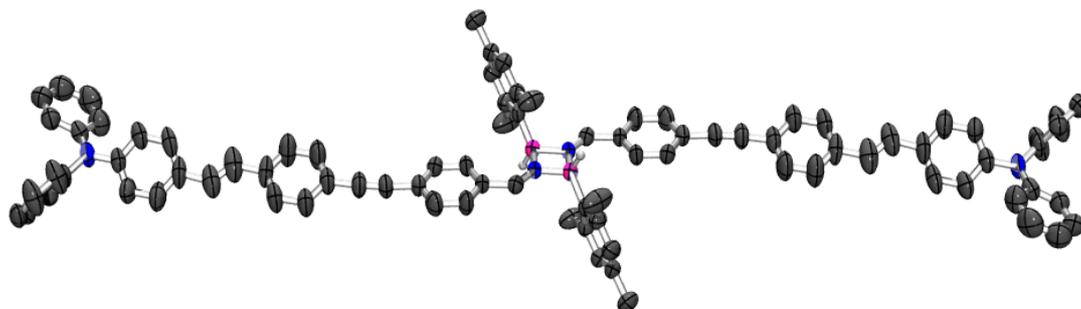


Figure-1 : Dessins ORTEP du chromophore 71. vue 1.

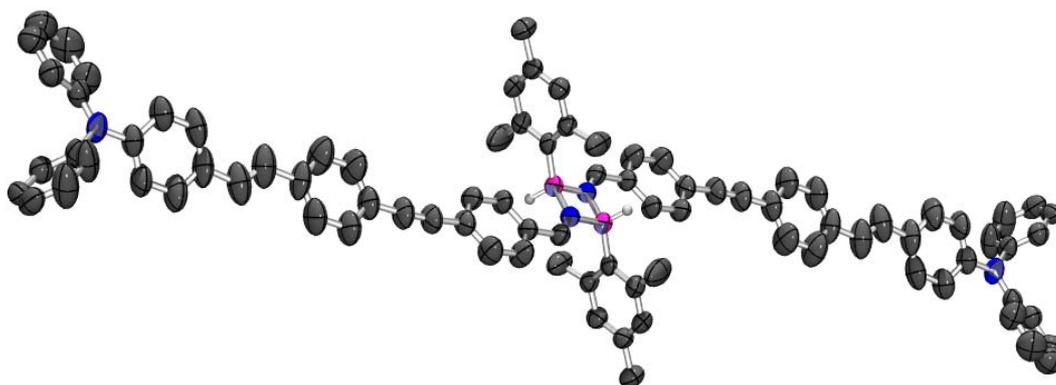


Figure-2 : Dessins ORTEP du chromophore 71. (vue plane 001).

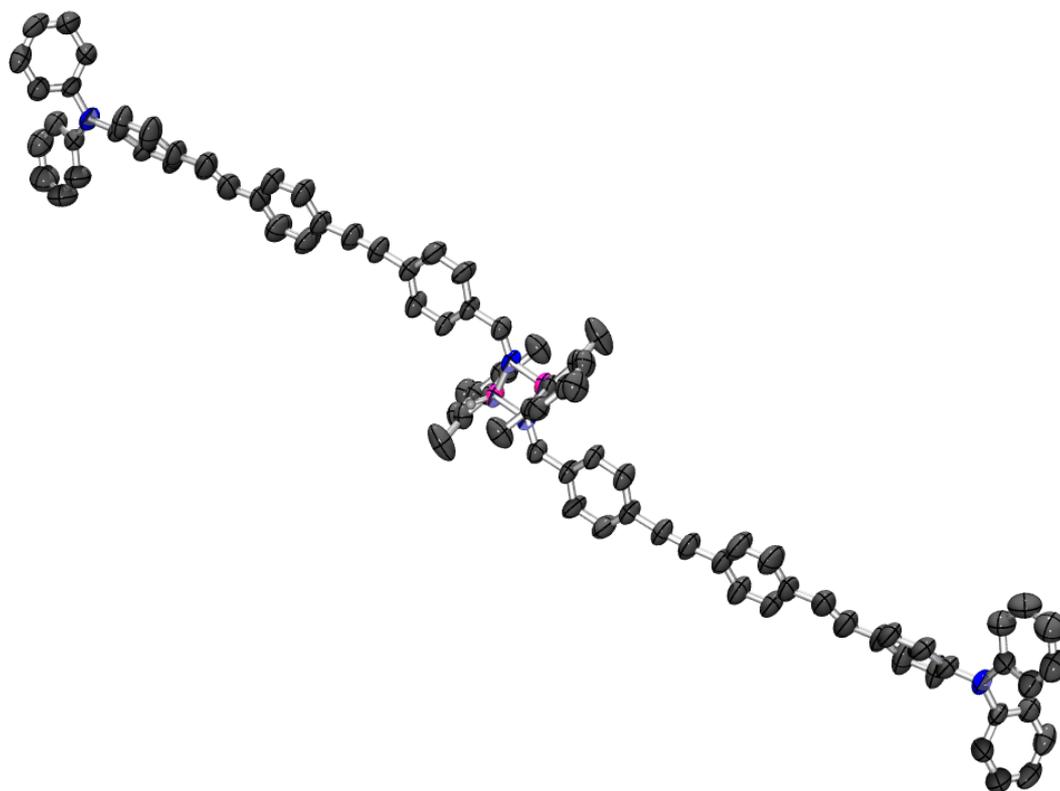


Figure-3 : Dessins ORTEP du chromophore **71**. (vue plane 020).

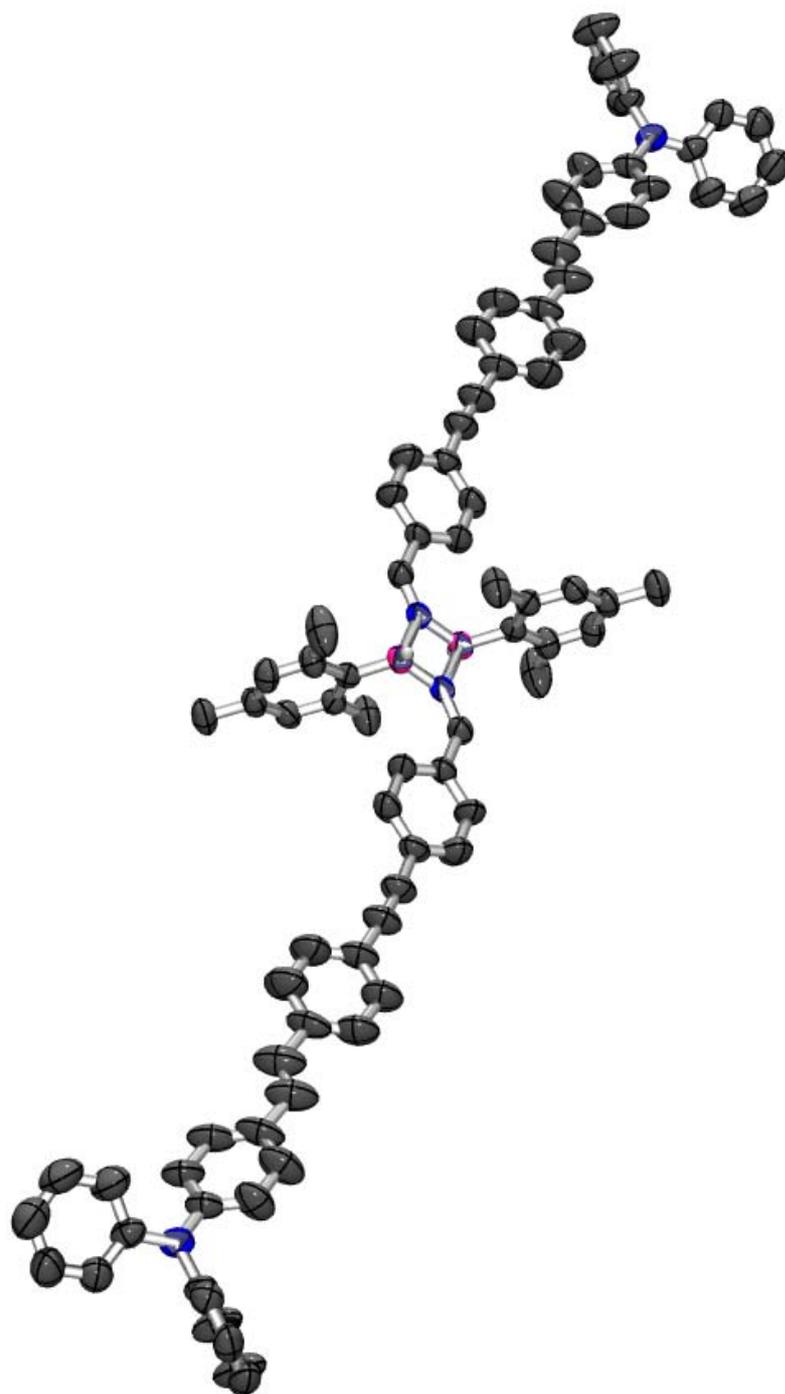
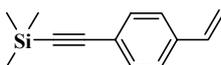


Figure-4: Dessins ORTEP du chromophore **71**. (vue plane 100).

4-Triméthylsilyléthynylstyrène (84)

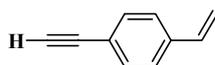
$C_{13}H_{16}Si$
Masse molaire (g/mol) : 200,35

Dans un ballon tricol, on introduit 1,14 g de triméthylsilylacétylène (1,64 mL, 11,60 mmol, 2,3 éq.), 0,66 mL de 4-bromostyrène (930 mg, 5,08 mmol, 1 éq.), 75 mg de Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,10 mmol ; 0,02 éq.), 15 mg de CuI (0,08 mmol ; 0,015 éq.) et 40 ml de triéthylamine. Le mélange réactionnel a été chauffé à 50° C pendant 48 heures à l'abri de la lumière. On refroidit le mélange réactionnel à température ambiante, ensuite le sel d'ammonium précipité a été filtré. On évapore le solvant sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur alumine en éluant avec un mélange cyclohexane/dichlorométhane (90/10 en volumes) (m=631 mg, Rdt.= 62 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,44 (d, 2H, J=8,00 Hz), 7,35 (d, 2H, J=8,00Hz), 6,69 (dd, 1H, J₁=11,20 Hz, J₂=17,60 Hz), 5,77 (d, 1H, J=17,60 Hz), 5,30 (d, 1H, J=11,20 Hz), 0,28 (s, 9H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 137,59 ; 136,19 ; 132,12 ; 125,99 ; 122,36 ; 114,80 ; 105,08 ; 94,77 ; -0,03.

✓SMHR : m/z 200,10240 (calculée pour C₁₃H₁₆Si m/z 200,10212).

4-éthynylstyrène (85)

$C_{10}H_8$
Masse molaire (g/mol) : 128,17

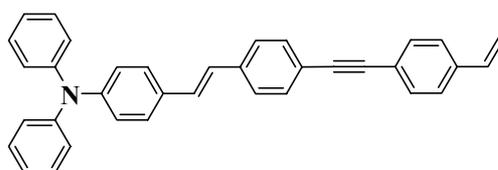
Dans un ballon de 100 mL, on dissout 216,00 mg (1,08 mmol ; 1,00 éq.) de **72** dans 20,00 mL de THF. On ajoute goutte à goutte 0,18 mL de TBAF (1,29 mmol ; 1,20 éq.). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 heure à température ambiante. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec du cyclohexane, on obtient le produit **85** sous forme d'un liquide translucide (m = 135,40 mg ; Rdt. = 98 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,46 (d, 2H, J=8,00 Hz), 7,32 (d, 2H, J=8,00Hz), 6,70 (dd, 1H, J₁=11,20 Hz, J₂=17,60 Hz), 5,72 (d, 1H, J=17,60 Hz), 5,34 (d, 1H, J=11,20 Hz), 2,09 (s, 1H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 138,16 ; 136,30 ; 131,93 ; 126,23 ; 122,80 ; 115,03 ; 105,13 ; 87,90.

✓SMHR : m/z 128,16901 (calculée pour C₁₃H₁₆Si m/z 128,17052).

Monomère (71-M)



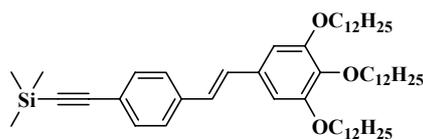
C₃₆H₂₇N
Masse molaire (g/mol) : 473,61

Un mélange de 4-éthynylstyrène (135,40 mg 1,06 mmol, 1 éq.), **7** (500 mg, 1,06 mmol, 1 éq.), CuI (3 mg, 0,016 mmol, 0,015 éq.), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (16,40 mg, 0,022 mmol, 0,02 éq.) ont été dissous dans 40 mL de triéthylamine. Le mélange réactionnel a été sévèrement dégazé avec l'argon et laissé réagir à température ambiante pendant 12 heures. Le solvant a été évaporé, et le produit a été purifié par chromatographie sur silice en éluant avec le dichlorométhane. Le produit **71-M** est obtenu sous forme d'un solide jaune. (m = 351,40 mg, Rdt. = 70%).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,52-7,40 (m, 9H), 7,24-7,15 (m, 5H), 7,06-6,95 (m, 8H), 6,75-6,65 (dd, 1H, J₁=11,01 Hz, J₂=11,04 Hz), 5,82-5,76 (dd, 1H, J₁=1,10 Hz, J₂=17,42 Hz), 5,25-5,21 (dd, 1H, J₁=0,88 Hz, J₂=10,80 Hz).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 114,67 ; 121,77 ; 123,11 ; 123,32 ; 124,56 ; 126,13 ; 127,42 ; 129,06 ; 129,25 ; 131,06 ; 131,69 ; 131,84 ; 136,22 ; 137,34 ; 137,59 ; 147,43 ; 147,58.

✓SMHR : m/z 473,60768 (calculée pour C₃₆H₂₇N m/z 473,60628).

(Z)-3',4',5'-Tridodécyloxy-4-triméthylsilyléthynylstilbène (72)

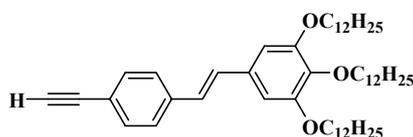
$C_{55}H_{92}O_3Si$
Masse molaire (g/mol) : 829,40

Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 0,08 mL de Triméthylsilylacétylène (51,96 mg ; 0,53 mmol ; 1,00 éq.), 500,00 mg de **54** (0,58 mmol ; 1,10 éq.), 24,51 mg Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,035 mmol ; 0,06 éq.), 10,21 mg de CuI (0,052 mmol ; 0,10 éq.), 30,00 mL de THF et 5,00 mL d'*i*-Pr₂NH. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On soumet le mélange réactionnel à des ultrasons pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite on agite pendant une nuit à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol (97/3 en volumes) comme éluant, on obtient le produit désiré sous forme d'un solide blanc (m = 360,00 mg ; Rdt. = 82 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,46-7,40 (AB, 4H, J = 8,77 H), 7,05-6,90 (AB, 2H, J = 16,22 Hz), 6,70 (s, 2H), 4,04-3,95 (m, 6H), 1,85-1,73 (m, 6H), 1,54-1,44 (m, 6H), 1,27 (m, 48H), 0,88 (t, 9H, J = 6,35 Hz), 0,27 (s, 9H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 153,28 ; 138,59 ; 137,88 ; 132,39 ; 132,09 ; 130,08 ; 126,74 ; 126,13 ; 120,73 ; 105,31 ; 80,65 ; 73,50 ; 69,16 ; 31,90 ; 31,88 ; 30,30 ; 29,71 ; 29,69 ; 29,66 ; 29,62 ; 29,57 ; 29,39 ; 29,35 ; 29,32 ; 26,08 ; 22,64 ; 14,07 ; -0,05.

✓MALDI : m/z 829,147 (calculée pour C₅₅H₉₂O₃Si m/z 829,403).

(Z)-3',4',5'-Tridodécyloxy-4-éthynylstilbène (73)

$C_{52}H_{84}O_3$
Masse molaire (g/mol) : 757,22

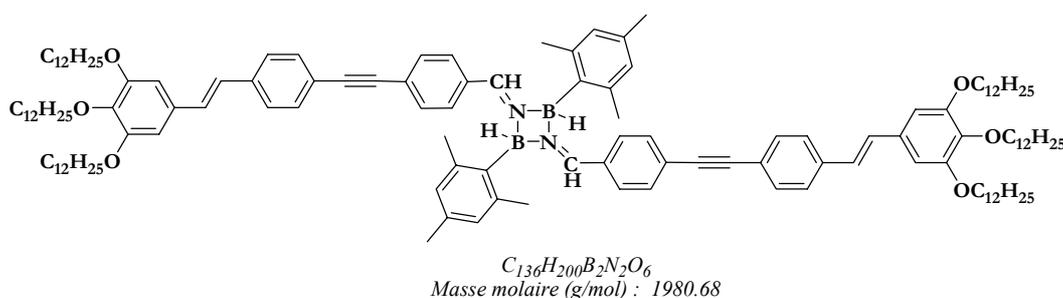
Dans un ballon de 100 mL, on dissout 400,00 mg (0,48 mmol ; 1,00 éq.) de **72** dans 20,00 mL de THF. On ajoute goutte à goutte 0,28 mL de TBAF (0,96 mmol ; 2,00 éq.). Le mélange

réactionnel est agité pendant 15 minutes à température ambiante. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec du cyclohexane, on obtient le produit **73** sous forme d'un solide blanc ($m = 356,00$ mg ; Rdt. = 98 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,49-7,42 (AB, 4H, $J = 8,55$ Hz), 7,06-6,91 (AB, 2H, $J = 16,22$ Hz), 6,71 (s, 2H), 4,04-3,95 (m, 6H), 3,13 (s, 1H), 1,87-1,70 (m, 6H), 1,54-1,44 (m, 6H), 1,27 (m, 48H), 0,88 (t, 9H, $J = 6,35$ Hz).

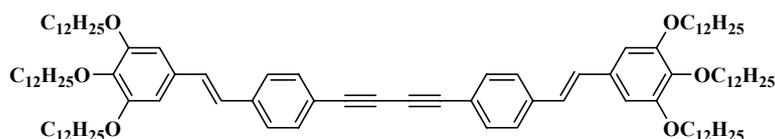
$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 153,28 ; 138,59 ; 137,88 ; 132,39 ; 132,09 ; 130,08 ; 126,74 ; 126,13 ; 120,73 ; 105,31 ; 83,71 ; 73,50 ; 69,16 ; 31,90 ; 31,88 ; 30,30 ; 29,71 ; 29,69 ; 29,66 ; 29,62 ; 29,57 ; 29,39 ; 29,35 ; 29,32 ; 26,08 ; 22,64 ; 14,07.

CB-3 (74)



Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 285,00 mg de **73** (0,37 mmol, 2,00 éq.), 135,90 mg de 4,4'-diiodocyclodiborazane **67** (0,18 mmol ; 1,00 éq.), 6,70 mg PdCl_2 (0,037 mmol ; 0,10 éq.), 1,13 mg d'acétate de cuivre monohydrate (0,0056 mmol ; 0,015 éq.), 39,48 mg de triphénylphosphine (0,15 mmol ; 0,40 éq.), 15,00 mL de THF et 45,00 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On chauffe le mélange réactionnel à 80 °C pendant 12 heures. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol comme éluant. Le produit **74** est obtenu sous forme d'un solide jaunâtre ($m = 205,00$ mg ; Rdt. = 56 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 8,03 (CH=N, 2H), 7,68-6,90 (m, 12H), 7,46 (s, 8H), 6,89 (large pic, Ar-H (mesityl), 2H), 6,70 [s, Ar-H (mesityl), 2H], 6,71 (s, 4H), 4,05-3,95 (m, 12H), 2,83-2,20 (m, $-\text{CH}_3$ (*o*-mesityl), 12H), 1,44 [$-\text{CH}_3$ (*p*-mesityl), 6H], 1,87-1,65 (m, 12H), 1,49-1,27 (m, 108H), 0,89 (t, 18H).

Dy-1 (75-O)

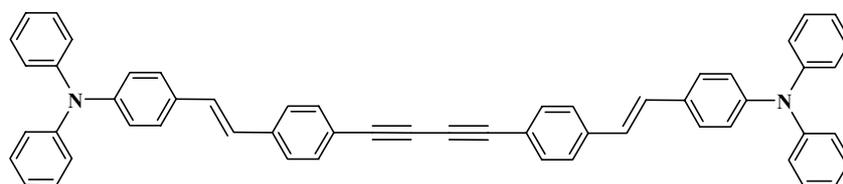
$C_{104}H_{166}O_6$
Masse molaire (g/mol) : 1512,42

Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 285,00 mg de **73** (0,37 mmol, 2,00 équ.), une quantité catalytique de CuCl et 20,00 mL de pyridine. On fait buller d'oxygène dans le mélange réactionnel pour quelques minutes. On agite à température ambiante pendant 24 heures. Le solvant est évaporé sous pression réduite. La phase organique est prise dans du dichlorométhane et lavée deux fois à l'eau, ensuite séchée sur MgSO₄. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange cyclohexane/méthanol (98/2 en volumes) comme éluant. Le produit **75** est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 224,00 mg ; Rdt. = 80 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,52-7,44 (AB, 8H, J = 8,55 Hz), 7,07-6,91 (AB, 4H, J = 15,97 Hz), 6,72 (s, 4H), 4,05-3,96 (m, 12H), 1,85-1,73 (m, 12H), 1,54-1,42 (m, 6H), 1,30-1,27 (m, 48H), 0,89 (t, 9H, J = 6,79 Hz).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 153,30 ; 138,31 ; 132,76 ; 132,03 ; 130,47 ; 126,47 ; 105,45 ; 77,15 ; 74,85 ; 73,52 ; 69,21 ; 31,89 ; 31,87 ; 30,30 ; 29,70 ; 29,68 ; 29,66 ; 29,64 ; 29,61 ; 29,56 ; 29,40 ; 29,38 ; 29,33 ; 29,31 ; 26,07 ; 22,63 ; 14,04.

✓MALDI : m/z 1512,280 (calculée pour C₁₀₄H₁₆₆O₆ m/z 1512,427).

Dy-2 (75-N)

$C_{56}H_{40}N_2$
Masse molaire (g/mol) : 740,93

Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 137,00 mg de **70** (0,37 mmol, 2,00 équ.), une quantité catalytique de CuCl et 20,00 mL de pyridine. On fait buller d'oxygène dans le mélange réactionnel pour quelques minutes. On agite à température ambiante pendant 24 heures. Le

solvant est évaporé sous pression réduite. La phase organique est prise dans du dichlorométhane et lavée deux fois à l'eau, ensuite séchée sur MgSO₄. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange cyclohexane/méthanol (99/1 en volumes) comme éluant. Le produit **75** est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 110,00 mg ; Rdt. = 80 %).

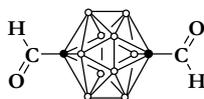
✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,52-7,44 (AB, 8H, J = 9,00 Hz), 7,39 (d, 4H, J = 9,00 Hz), 7,30-7,25 (m, 8H), 7,14-7,03 (m, 16H), 6,97 (d, 4H, J = 15,00 Hz).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 147,75 ; 147,39 ; 132,76 ; 130,84 ; 129,72 ; 129,27 ; 127,51 ; 126,17 ; 125,88 ; 124,62 ; 123,21 ; 123,17.

✓MALDI : m/z 740,720 (calculée pour C₅₅H₉₂O₃Si m/z 740,930).

Dérivés de Carborane.

C,C-Diformyl-*p*-carborane (76)



$C_4H_{12}B_{10}O_2$
Masse molaire (g/mol) : 200,25

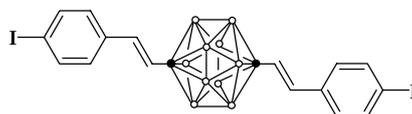
Dans un ballon tricol de 250 mL, on introduit 170,00 mg de *p*-carborane (1,18 mmol ; 1,00 éq.), et 10,00 mL de Et₂O. On refroidit la solution à 0 °C dans un bain d'eau glacée, ensuite on ajoute lentement 1,66 mL de *n*-BuLi (2,65 mmol ; 2,00 éq.). Le mélange réactionnel est agité pendant 30 minutes à 0 °C, suivit par 45 minutes à température ambiante. On refroidit le mélange réactionnel à - 40 °C dans un bain de carboglace/acétone, et on ajoute lentement 0,37 mL de formate de méthyle (6,03 mmol ; 5,11 éq.). On réchauffe le mélange réactionnel à température ambiante et on laisse le mélange réactionnel réagir pendant une nuit. Le mélange réactionnel est refroidi à 0 °C, lavé avec une solution aqueuse diluée de HCl (3,00 mL). On évapore l'éther diéthylique sous pression réduite, et on isole la phase organique avec de l'hexane (3 × 10,00 mL). La phase organique est séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice (10-25% de Et₂O dans l'hexane) pour obtenir le produit désiré sous forme d'un solide blanc (m = 106,00 mg ; Rdt. = 45 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 8,80 (s, 2H), 3,32-1,19 (m, 10H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δppm) : 185,4 ; 84,5.

✓SMHR : m/z 200,18404 (calculée pour C₄H₁₂B₁₀O₂ m/z 200,18345).

C,C-Di(4-Iodophénylvinyl)-*p*-carborane (77)



$C_{18}H_{22}B_{10}I_2$
Masse molaire (g/mol) : 600,29

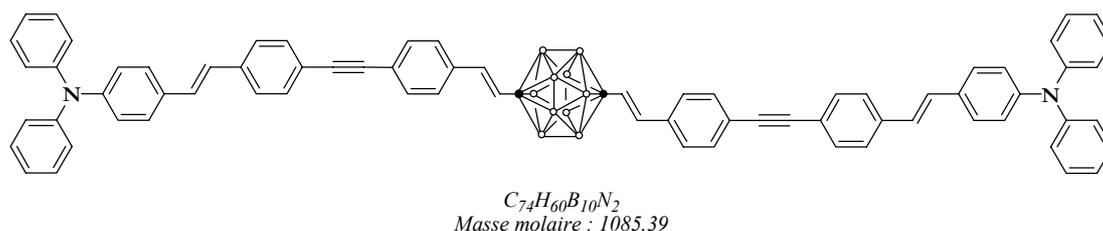
On dissout 354,12 mg de 4-iodobenzylphosphonate de diéthyle 16 (1,00 mmol ; 2,00 éq.) dans 30,00 mL de THF anhydre, puis on additionne 100,00 mg de NaH (2,50 mmol ; 5 éq. ; 60%

dans l'huile). Après effervescence, la suspension est agitée pendant 1 heure à 50 °C sous argon. A cette solution on ajoute lentement la solution de **76** (100,00 mg ; 0,50 mmol ; 1,00 éq.) dans le THF anhydre (20,00 mL). Le mélange réactionnel est porté à reflux (T = 66 °C) pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, on filtre le mélange réactionnel, puis on évapore le solvant du filtrat sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne de silice avec du dichlorométhane, on obtient le produit sous forme d'un solide blanc (m = 160,00 mg ; Rdt. = 54%).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,61-6,95 (AX, 8H, J = 8,44 Hz), 6,29-5,85 (AX, 4H, J = 15,79 Hz), 3,40-1,21 (m, 10H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 137,65 ; 134,70 ; 131,96 ; 128,24 ; 127,50 ; 93,85.

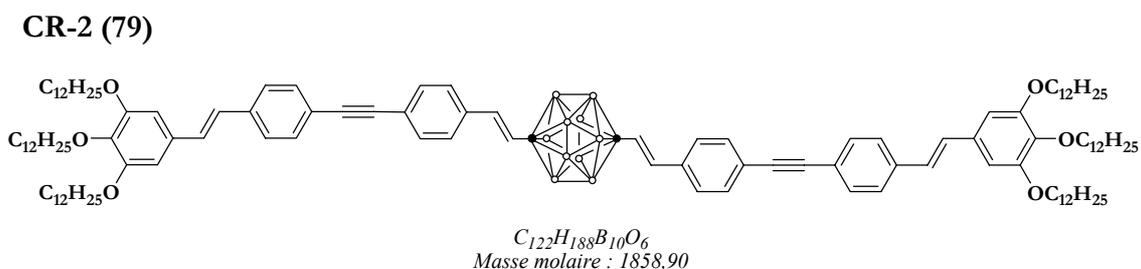
CR-1 (**78**)



Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 148,51 mg de **70** (0,39 mmol, 2,00 éq.), 120,00 mg de C,C-Di(4-iodophenylvinyl)-p-carborane **77** (0,19 mmol ; 1,00 éq.), 7,09 mg PdCl_2 (0,04 mmol ; 0,20 éq.), 1,19 mg d'acétate de cuivre monohydrate (0,006 mmol ; 0,03 éq.), 41,76 mg de triphénylphosphine (0,16 mmol ; 0,80 éq.), 15,00 mL de THF et 45,00 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On chauffe le mélange réactionnel à 80 °C pendant 12 heures puis on évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/dichlorométhane (60/40 en volumes) comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'un solide jaune (m = 90,00 mg ; Rdt. = 42 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,51-7,37 (m, 16H), 7,30-7,20 (m, 12H), 7,14-6,94 (m, 20H), 6,37-5,88 (AX, 4H, J = 15,78 Hz), 3,40-1,21 (m, 10H).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 147,60 ; 147,41 ; 137,70 ; 134,95 ; 132,37 ; 131,85 ; 131,72 ; 131,01 ; 129,26 ; 129,23 ; 129,14 ; 127,47 ; 127,43 ; 126,44 ; 126,15 ; 126,10 ; 124,57 ; 123,29 ; 123,25 ; 123,12 ; 121,56 ; 90,89 ; 89,96.

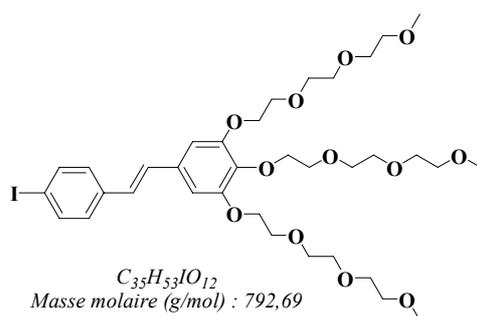


Dans un ballon bicol de 100 mL, on introduit 220,00 mg de **73** (0,29 mmol, 2,00 éq.), 87,20 mg de C,C-Di(4-iodophenylvinyl)-p-carborane **77** (0,14 mmol ; 1,00 éq.), 5,07 mg PdCl_2 (0,028 mmol ; 0,20 éq.), 0,85 mg d'acétate de cuivre monohydrate (0,004 mmol ; 0,03 éq.), 30,00 mg de triphénylphosphine (0,11 mmol ; 0,80 éq.), 15,00 mL de THF et 45,00 mL de triéthylamine. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On chauffe le mélange réactionnel à 80 °C pendant 12 heures. On évapore le solvant sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/dichlorométhane (50/50 en volumes) comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc-jaunâtre ($m = 100,00$ mg ; Rdt. = 37 %).

$\sqrt{^1\text{H-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 7,48-7,42 (m, 12H), 7,26-7,20 (m, 4H), 7,06-6,91 (AB, 4H, $J = 16,23$ Hz), 6,71 (s, 4H), 6,36-5,88 (AX, 4H, $J = 15,78$ Hz), 4,02-3,97 (m, 12H), 3,40-2,10 (m, 10H), 1,82-1,75 (m, 12H), 1,54-1,41 (m, 12H), 1,26 (m, 96H), 0,88 (t, 18H, $J = 6,35$ Hz).

$\sqrt{^{13}\text{C-RMN}}$, CDCl_3 ; (δ ppm) : 153,28 ; 138,56 ; 137,45 ; 135,00 ; 132,36 ; 132,18 ; 131,86 ; 131,72 ; 129,88 ; 127,77 ; 127,50 ; 126,86 ; 126,55 ; 126,23 ; 123,21 ; 121,77 ; 105,29 ; 90,80 ; 90,03 ; 73,50 ; 69,16 ; 31,88 ; 30,30 ; 29,66 ; 29,62 ; 19,39 ; 29,33 ; 26,08 ; 22,65 ; 14,07.

(Z)-4-Iodo-3',4',5'-Tris-(monométhyléther triéthylène glycol)stilbène (80)



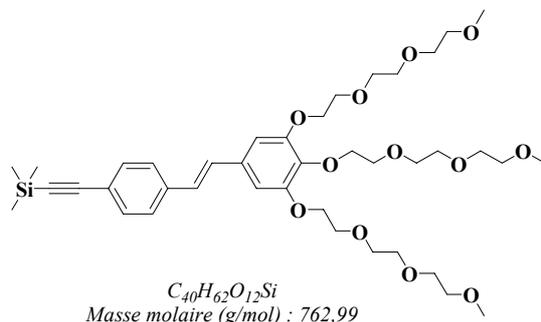
Le mode opératoire est identique à celui décrit pour **54** en utilisant 660,00 mg de **16** (1,86 mmol ; 1,00 éq.) et 1,10 g d'aldéhyde **4a** (1,86 mmol, 1,00 éq.). Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec un mélange dichlorométhane/méthanol (97/3 jusqu'au 50 /50 en volumes) comme éluant. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 1,10 g ; Rdt. = 76 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 7,66 (d, 2H, J = 8,33 Hz), 7,22 (d, 2H, J = 8,55 Hz), 7,00-6,83 (2H, AB, J = 16,22 Hz), 6,74 (s, 2H), 4,22-4,08 (m, 6H), 3,86 (t, 4H, J = 5,48 Hz), 3,79 (t, 2H, J = 5,48 Hz), 3,75-3,62 (m, 18H), 3,55-3,52 (m, 6H), 3,36 (s, 9H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃; (δ ppm) : 152,75 ; 138,68 ; 137,65 ; 136,71 ; 132,39 ; 129,22 ; 128,61 ; 128,04 ; 126,84 ; 126,34 ; 106,41 ; 92,57 ; 72,33 ; 71,88 ; 71,87 ; 70,76 ; 70,64 ; 70,62 ; 70,50 ; 70,48 ; 70,46 ; 69,71 ; 68,87 ; 67,88 ; 58,95.

✓MALDI : m/z 792,702 (calculée pour C₃₅H₅₃IO₁₂ m/z 792,693).

(Z)-3',4',5'-Tris-(monométhyléther triéthylène glycol)-4-triméthylsilyléthynylstilbène
(81)



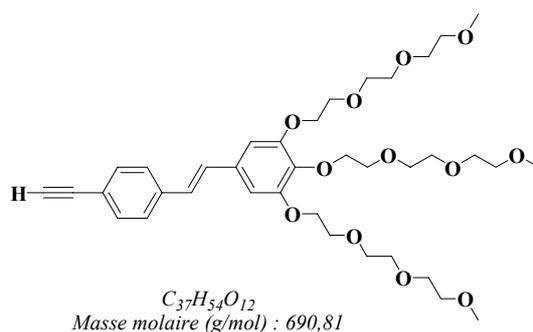
Dans un ballon tricol de 100 mL, on introduit 0,09 mL de Triméthylsilylacétylène (61,95 mg ; 0,63 mmol, 1,00 éq.), 500,00 mg de **80** (0,63 mmol ; 1,00 éq.), 26,56 mg Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,037 mmol ; 0,06 éq.), 12,38 mg de CuI (0,063 mmol ; 0,10 éq.), 30,00 mL de THF anhydre et 5,00 mL d'i-Pr₂NH. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On soumet le mélange réactionnel à des ultrasons pendant 30 minutes à température ambiante, ensuite on agite une nuit à température ambiante. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On purifie le produit par chromatographie sur colonne d'alumine en éluant avec un mélange cyclohexane/méthanol (m = 408,00 mg ; Rdt. = 85 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,46-7,39 (AB, 4H, J = 8,55 Hz), 7,02-6,89 (AB, 2H, J = 16,22 Hz), 6,75 (s, 2H), 4,22-4,15 (m, 6H), 3,87 (t, 4H, J = 5,26Hz), 3,79 (t, 2H, J = 5,26 Hz), 3,76-3,61 (m, 18H), 3,56-3,53 (m, 6H), 3,378 (s, 3H), 3,373 (s, 6H), 0,25 (s, 9H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 152,74 ; 138,65 ; 137,32 ; 132,57 ; 132,25 ; 129,38 ; 128,63 ; 127,34 ; 126,36 ; 126,11 ; 121,94 ; 106,44 ; 105,12 ; 95,02 ; 72,35 ; 71,89 ; 70,77 ; 70,66 ; 70,63 ; 70,52 ; 70,49 ; 70,46 ; 69,71 ; 68,86 ; 58,97 ; 53,37 ; -0,05.

✓MALDI : m/z 762,816 (calculée pour C₄₀H₆₂O₁₂Si m/z 762,999).

(Z)-3',4',5'-Tris-(monométhyléther triéthylène glycol)-4-éthynylstilbène (82)



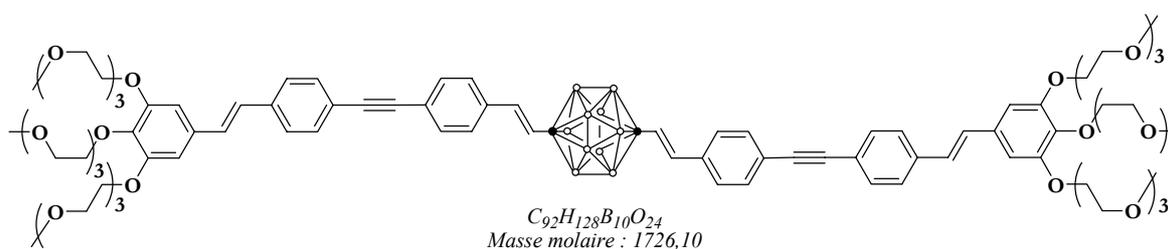
Dans un ballon de 100 mL, on dissout 420,00 mg (0,55 mmol ; 1,00 éq.) de **81** dans 20,00 mL de THF. On ajoute goutte à goutte 0,19 mL de TBAF (0,66 mmol ; 1,50 éq.). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 1 heure. On évapore le solvant sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice avec du cyclohexane (filtration rapide), on obtient le produit **82** sous forme d'une huile jaune (m = 372,00 mg ; Rdt. = 98 %).

✓¹H-RMN, CDCl₃ ; δ (ppm) : 7,49-7,42 (AB, 4H, J = 8,77 Hz), 7,03-6,90 (AB, 2H, J = 16,44 Hz), 6,76 (s, 2H), 4,23-4,15 (m, 6H), 3,85 (t, 4H, J = 4,82Hz), 3,79 (t, 2H, J = 4,82 Hz), 3,76-3,61 (m, 18H), 3,56-3,53 (m, 6H), 3,377 (s, 3H), 3,373 (s, 6H), 3,13 (s, 1H).

✓¹³C-RMN, CDCl₃ ; δ (ppm) : 152,77 ; 138,74 ; 137,68 ; 132,49 ; 132,41 ; 129,61 ; 127,20 ; 126,36 ; 126,19 ; 120,89 ; 106,52 ; 83,68 ; 72,36 ; 71,89 ; 70,78 ; 70,66 ; 70,64 ; 70,52 ; 70,49 ; 70,47 ; 69,73 ; 68,89 ; 58,98.

✓MALDI : m/z 690,713 (calculée pour C₃₇H₅₄O₁₂ m/z 690,817).

CR-3 (83)



Dans un ballon tricol de 100 mL, on introduit 300,00 mg de **82** (0,43 mmol, 2,00 éq.), 130,50 mg de Iodo(phenyleneVinylene)-*p*-Carborane **77** (0,21 mmol ; 1,00 éq.), 18,28 mg Pd(PPh₃)₂Cl₂

(0,026 mmol ; 0,06 éq.), 8,25 mg de CuI (0,043 mmol ; 0,10 éq.), 30,00 mL de THF anhydre et 5,00 mL d'*i*-Pr₂NH. Le milieu réactionnel est dégazé à l'argon. On soumet le mélange réactionnel à des ultrasons pendant 2 heures à température ambiante, ensuite on laisse le mélange réactionnel réagir pendant 2 jours à température ambiante. On évapore le solvant sous pression réduite puis le produit est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine avec un mélange cyclohexane/méthanol (90/10 en volumes) comme éluant. Le produit **83** est obtenu sous forme d'une huile jaune (m = 167,00 mg ; Rdt. = 45 %).

¹H-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 7,48 (s, 8H), 7,44-7,19 (AX, 8H, J = 8,34 Hz), 7,05-6,92 (AB, 4H, J = 16,22 Hz), 6,77 (s, 4H), 6,35-5,87 (AX, 4H, J = 15,78 Hz), 4,24-4,17 (m, 12H), 3,86 (t, 8H, J = 5,27 Hz), 3,78-3,70 (m, 16H), 3,67-3,61 (m, 24H), 3,56-3,52 (m, 12H), 3,37 (s, 6H), 3,36 (s, 12H), 2,70-1,21 (m, 10H, B-H).

¹³C-RMN, CDCl₃ ; (δ ppm) : 152,50 ; 137,17 ; 135,01 ; 132,35 ; 131,88 ; 131,83 ; 131,74 ; 129,22 ; 128,65 ; 128,52 ; 128,36 ; 127,59 ; 127,51 ; 126,55 ; 126,41 ; 126,34 ; 125,71 ; 123,18 ; 121,99 ; 106,37 ; 90,76 ; 90,12 ; 72,20 ; 71,80 ; 71,67 ; 70,54 ; 70,51 ; 70,40 ; 70,32 ; 70,25 ; 70,18 ; 69,50 ; 68,67 ; 59,02.

PUBLICATIONS

[Signalement bibliographique ajouté par : ULP – SCD – Service des thèses électroniques]

Synthesis and characterization of water-soluble two-photon excited blue fluorescent chromophores for bioimaging

Ali Hayek, Frédéric Bolze, Jean-François Nicoud, Patrice L. Baldeck et Yves Mély

Photochemical & Photobiological Sciences, 2006, Vol. 5, Pages 102–106

Pages 102 à 106 :

La publication présentée ici dans la thèse est soumise à des droits détenus par un éditeur commercial.

Pour les utilisateurs ULP, il est possible de consulter cette publication sur le site de l'éditeur : <http://www.rsc.org/Publishing/Journals/PP/article.asp?doi=b509843b>

Il est également possible de consulter la thèse sous sa forme papier ou d'en faire une demande via le service de prêt entre bibliothèques (PEB), auprès du Service Commun de Documentation de l'ULP: peb.sciences@scd-ulp.u-strasbg.fr

[Signalement bibliographique ajouté par : ULP – SCD – Service des thèses électroniques]

Boron-Containing Two-Photon-Absorbing Chromophores: Electronic Interaction through the Cyclodiborazane Core

Ali Hayek, Jean-François Nicoud, Frédéric Bolze, Cyril Bourgogne, et Patrice L. Baldeck

Angewandte Chemie International Edition, 2006, Vol. 45, Pages 6466 –6469

Pages 6466 à 6469 :

La publication présentée ici dans la thèse est soumise à des droits détenus par un éditeur commercial.

Pour les utilisateurs ULP, il est possible de consulter cette publication sur le site de l'éditeur :
<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/112776632/HTMLSTART>

Il est également possible de consulter la thèse sous sa forme papier ou d'en faire une demande via le service de prêt entre bibliothèques (PEB), auprès du Service Commun de Documentation de l'ULP: peb.sciences@scd-ulp.u-strasbg.fr

[Signalement bibliographique ajouté par : ULP – SCD – Service des thèses électroniques]

Two-Photon Water-Soluble Dyes and Their Amine-Reactive Derivatives for Two-Photon Bio-Imaging Applications

Ali Hayek, Frédéric Bolze, Jean-François Nicoud, Alain Duperray, Alexei Grichine, Patrice L. Baldeck et Jean-Claude Vial

Nonlinear Optics and Quantum Optics, 2006, Vol. X, Pages 1-10

Pages 1 à 10 :

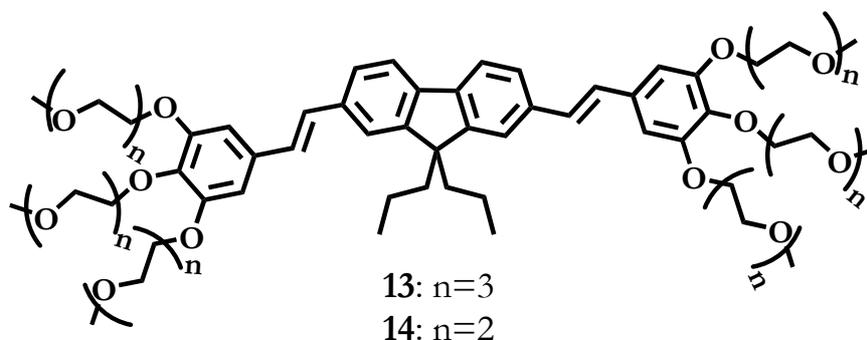
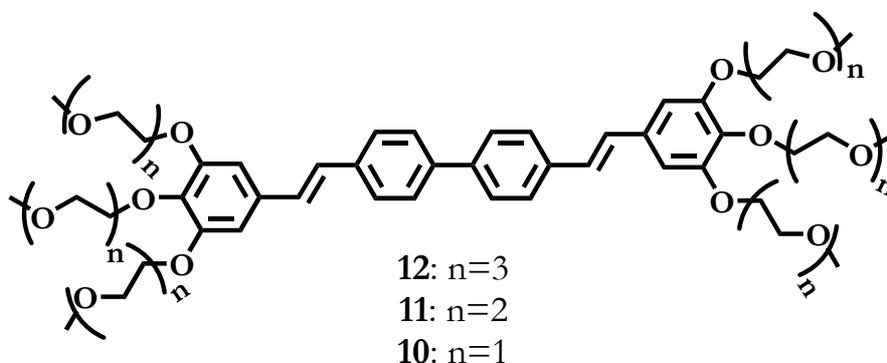
La publication présentée ici dans la thèse est soumise à des droits détenus par un éditeur commercial.

Il est possible de consulter la thèse sous sa forme papier ou d'en faire une demande via le service de prêt entre bibliothèques (PEB), auprès du Service Commun de Documentation de l'ULP: peb.sciences@scd-ulp.u-strasbg.fr

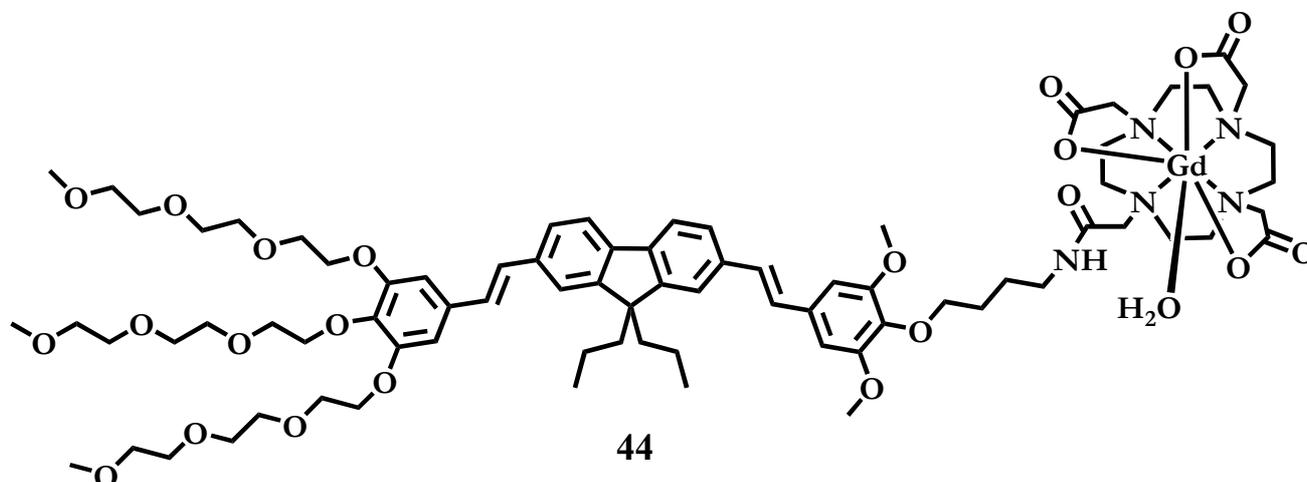
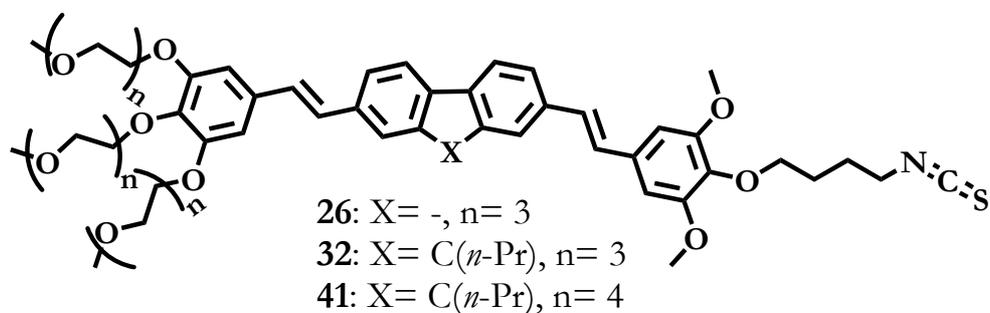
LISTE DES CHROMOPHORES FINAUX

CHAPITRE II.

I- Chromophores d'architecture symétrique :

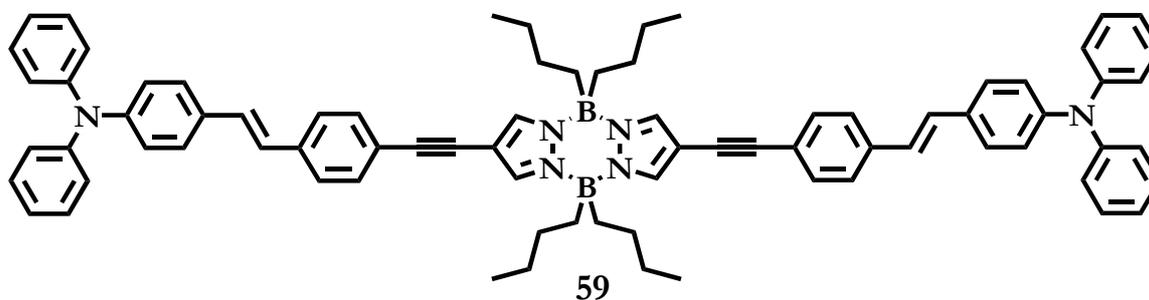
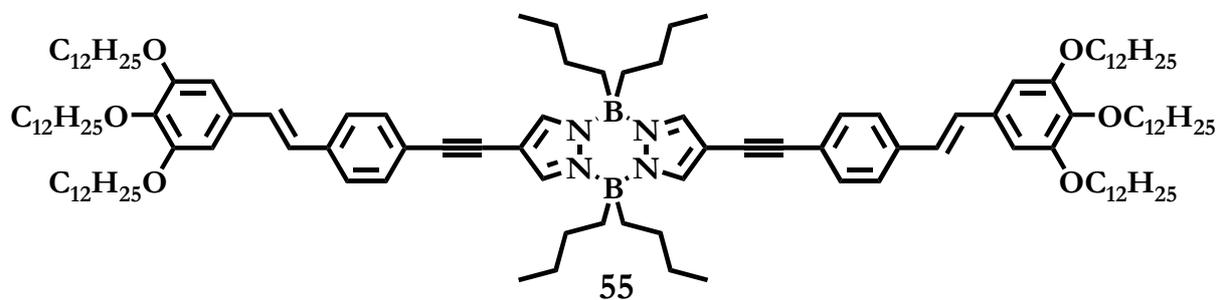
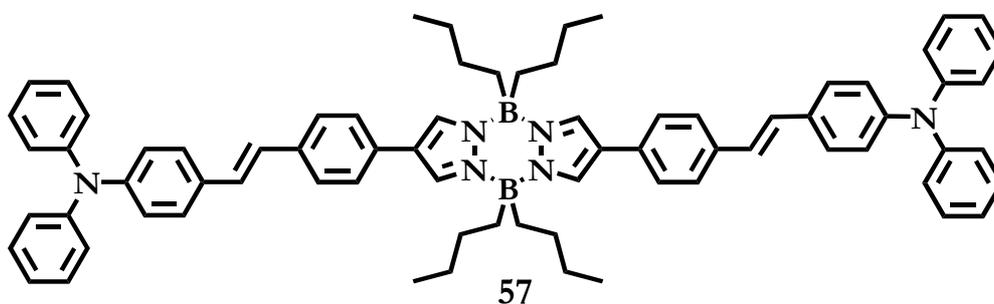
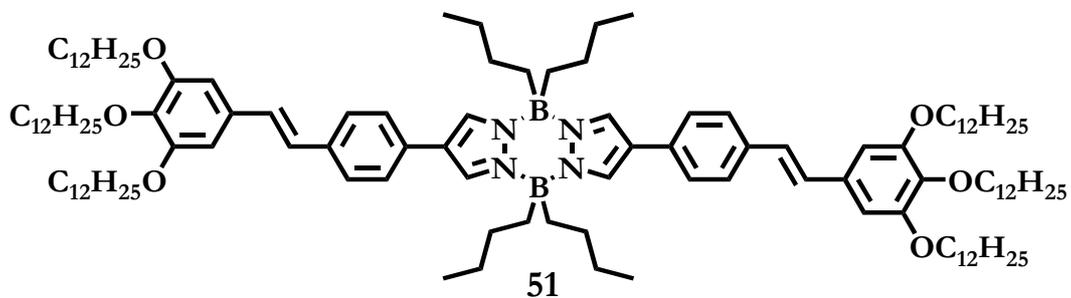


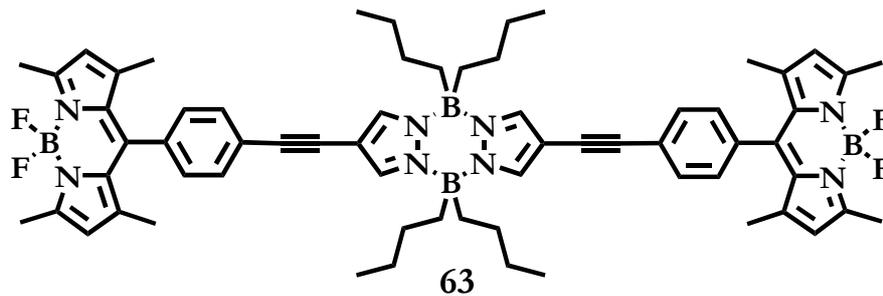
II- Chromophores d'architecture dissymétrique :



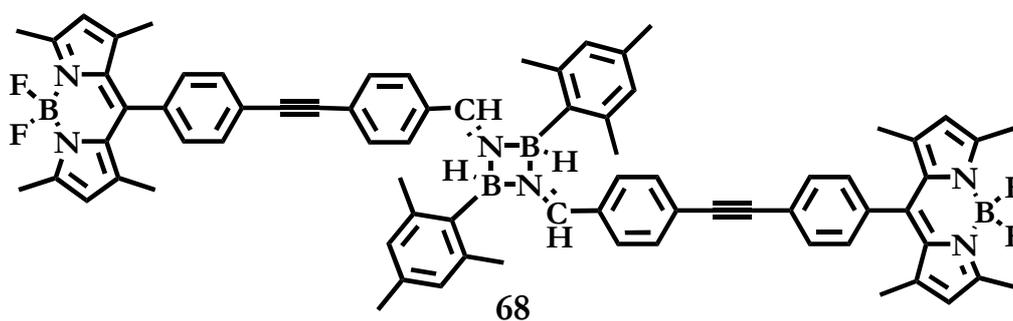
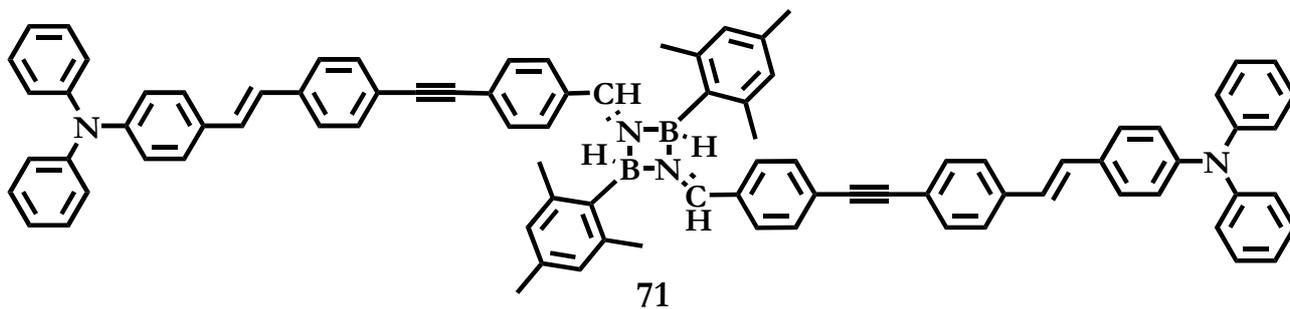
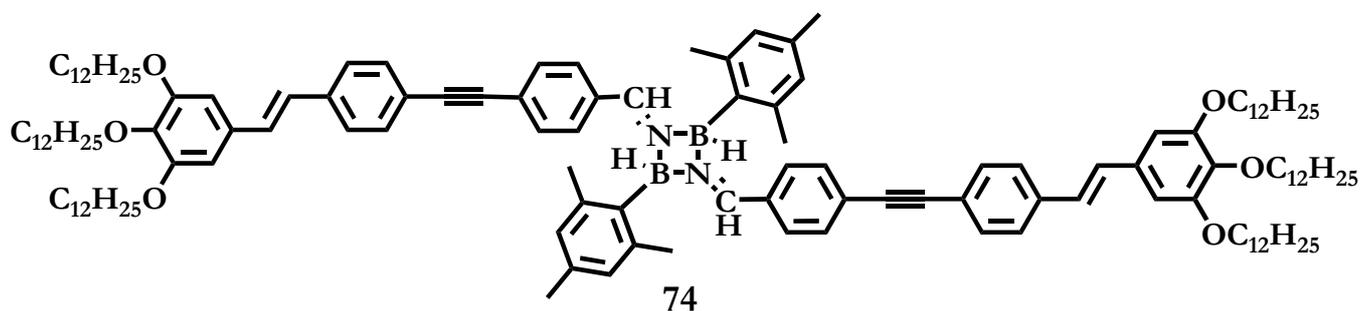
CHAPITRE III.

I- Chromophores à cœur pyrazabole :

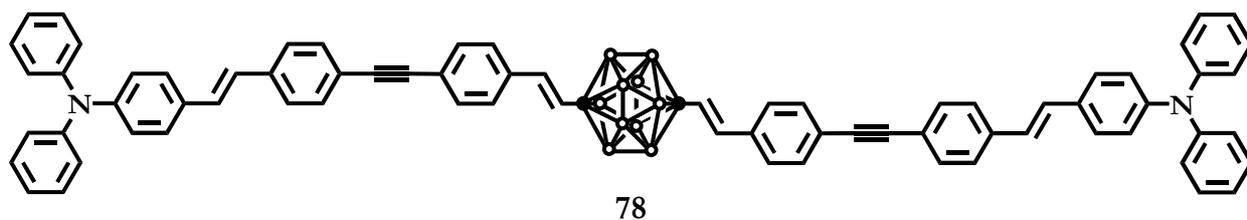
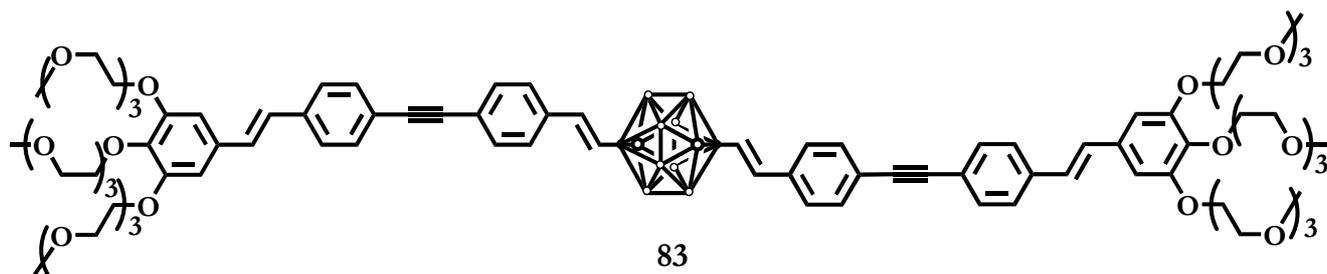
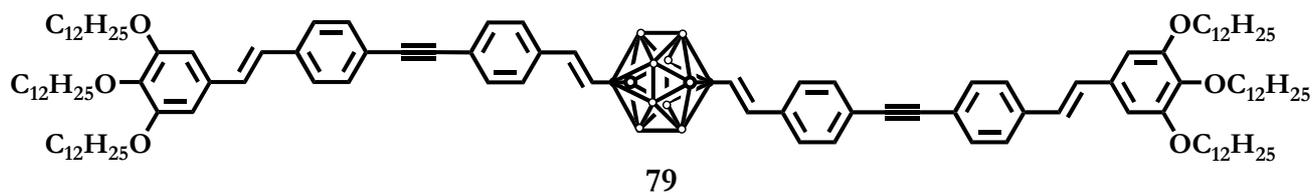




II- Chromophores à cœur cyclodiborazane :



III- Chromophores à cœur *p*-carborane :



IV- Chromophores à cœur diyne :

