

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES**

**Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien**

**THÈSE** présentée par :

**Mohamadou SY**

soutenue le : **30 mai 2016**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : **Chimie**

**Développement de nouveaux  
complexes luminescents de lanthanides**

**THÈSE dirigée par :**

**Dr CHARBONNIERE Loïc**

Directeur de thèse, CNRS Strasbourg

**RAPPORTEURS :**

**Dr MAURY Olivier**

Rapporteur externe, CNRS - ENS Lyon

**Pr TRIPIER Raphaël**

Rapporteur externe, Université de Brest

---

**AUTRES MEMBRES DU JURY :**

**Pr HEITZ Valérie**

Examineur, Université de Strasbourg



## *Remerciements*

*Je tiens à remercier mon directeur de thèse, le Dr. Loïc Charbonnière pour m'avoir fait confiance tout d'abord en tant que stagiaire et de m'avoir laissé ma chance pour ce sujet de thèse sur lequel j'ai adoré travaillé. Je remercie l'excellent chercheur que vous êtes mais je remercie aussi l'homme car vous m'avez tout simplement réconcilié avec ce monde très exigeant de la recherche par votre sérieux, votre rigueur et votre sympathie. Je vous remercie aussi de m'avoir permis de participer à de nombreux congrès nationaux et internationaux qui m'ont clairement donné goût à la recherche.*

*Je tiens à également à remercier le Pr Raphaël Tripier, le Pr Valérie Heitz et le Dr Olivier Maury d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.*

*Je remercie notre collaborateur, le Dr Carlos Platas-Iglesias pour les calculs DFT et pour m'avoir accueilli chaleureusement durant un mois dans son laboratoire. Je tiens à remercier le Pr Marcel Hibert de nous avoir prêté ses locaux durant les travaux dans notre laboratoire.*

*J'ai passé quatre années magnifiques dans un laboratoire où j'ai croisé différentes personnes de différents pays, de différentes cultures mais qui ont toujours su cohabiter ensemble dans la joie et la bonne humeur autour d'un bon café, de thé et de gâteaux. Mr Asfari, merci pour votre joie de vivre et votre tape occasionnelle sur l'épaule. Pascale, merci d'avoir toujours la pêche car tu es une vitamine C à toi toute seule. Alexandre, merci pour tout ce que tu fais au laboratoire, ta présence et ton aide. Merci, Marion pour ton sourire et pour tes gâteaux digne d'une pâtissière professionnelle. Aline et Câline, merci pour votre gentillesse et merci d'avoir toujours été là quand j'avais des questions. Anne, merci pour ta sympathie et pour les discussions sur la politique que j'ai adoré. Katia, merci pour ton accueil lors de ma première année de thèse. Amandine (ou Amandou ^), merci d'avoir supporté mes blagues. Akram, merci juste d'être Akram car tu es unique, un ami. Joan et Raphaël, que de rigolades avec vous deux, notre trio aurait du s'appeler le beau, la brute et le truand (je vous laisse deviner qui est qui !!!). Nabila et Soumaya, merci pour votre sourire quotidien. Mehdi, merci pour ton travail sérieux et ta motivation pour la recherche.*

*Je remercie toutes les différentes personnes qui sont passées au laboratoire notamment : Ping Ping, Gao Yang, Sophie, Nicolas, Claudia, Parastoo, Tao, Sylvie, Thanh Tao, Abdoulaye, Victor, Guillaume et Sera.*

*Je remercie mes coéquipiers du club de Handball de Plobsheim de me laisser me défouler sur eux, après de longues journées de synthèse organique et de titrages spectroscopiques.*

*Je remercie mes amis mulhousiens que je n'ai pas souvent vu durant 3 ans notamment Lotfi, Amine, Bertin et Maéva, Hervé, Kamel, Othmane, Souf et tant d'autres....*

*Je tiens particulièrement à remercier mes parents à qui je dois tout car vous m'avez toujours poussé vers la réussite. Je remercie mes sœurs Aissata, Hawa, Sinna, Maryame et Maymoune et mon petit frère Seykou. Je remercie mes cousins et cousines #famille Watte.*

*à ma famille,*



# SOMMAIRE

<b>CHAPITRE I : INTRODUCTION</b>	<b>13</b>
<b>I. Projet ANR « NanoFret »</b>	<b>13</b>
<b>II. Choc septique</b>	<b>15</b>
1. Généralités	15
2. Procalcitonine	17
3. Proadrénomédulline	18
<b>III. La fluoroimmunologie</b>	<b>19</b>
1. Généralités	19
2. Dosage hétérogène	20
3. Dosage homogène	21
<b>IV. Fluorescence et FRET</b>	<b>21</b>
1. Fluorescence	21
2. FRET	22
2.1. Définition	22
2.2. Rayon de Förster et efficacité de transfert	23
2.3. Mécanisme	24
2.4. Analyses fluoroimmunologiques résolues en temps	24
<b>V. Les Lanthanides</b>	<b>25</b>
1. Généralités	25
2. Configuration électronique	26
3. Chimie de coordination des lanthanides	27
4. Propriétés magnétiques	28
<b>VI. La luminescence des lanthanides</b>	<b>28</b>
1. Origine des propriétés spectroscopiques des lanthanides	28
2. Effet d'antenne	30
2.1. Principe de l'effet d'antenne	30
2.2. Mécanisme du transfert d'énergie ligand-métal	31
2.2. Rendement quantique et temps de vie de luminescence	32
3. Quenching de la luminescence	33
<b>VII. Utilisation des complexes de lanthanides en bioanalyse</b>	<b>34</b>
1. Dosage fluoroimmunologique	34
1.1 Exemple de dosage hétérogène	34
1.2 Exemple de dosage homogène	35
2. Méthode d'analyse utilisant le FRET	36
3. Etude d'une activité biologique	36
4. Imagerie cellulaire	37
5. Sonde anionique et cationique	39
<b>VIII. Objectif du travail</b>	<b>41</b>
<b>IX. Bibliographie</b>	<b>43</b>

<b>CHAPITRE II : LIGANDS DERIVES DU CYANOPHENOL</b>	<b>49</b>
<b>I. Synthèse des ligands</b>	<b>51</b>
1. Synthèse de l'éthyle 3-(bromométhyl)-5-cyano-2-hydroxybenzoate	52
1.1. Voie de Synthèse A	52
1.1.1. Carboalkoxylation	53
1.1.2. Réduction du diethyl 5-cyano-2-methoxyisophthalate	54
1.2. Voie de Synthèse B	55
1.2.1. Hydroxyméthylation	55
1.2.2. Oxydation	56
1.3. Discussion	57
2. Synthèse du Ligand L <sub>2</sub>	58
2.1. Activation du précurseur cyanophénolique	58
2.1.1. Activation par bromation	58
2.1.2. Activation par tosylation	59
2.2. Synthèse de L <sub>2</sub> : un ligand tétrachromophorique	59
3. Etude spectroscopique du ligand L <sub>2</sub>	60
3.1. Titrage en absorption électronique du ligand L <sub>2</sub> par une solution de Tb <sup>3+</sup>	60
3.2. Titrage par émission de luminescence du ligand L <sub>2</sub> par une solution de Tb <sup>3+</sup>	60
3.3. Discussion	61
<b>II. Synthèse de nanoparticules ultrabrillantes</b>	<b>62</b>
1. Synthèse des nanoparticules de lanthanides et du ligand L <sub>3</sub>	62
1.1. Synthèse des nanoparticules de lanthanides	62
1.1.1. Synthèse et caractérisation des nanoparticules	62
1.1.2. Détermination de la concentration des nanoparticules	63
1.2. Synthèse du ligand L <sub>3</sub>	63
2. Etudes spectroscopiques des NPs en présence de L <sub>3</sub>	64
2.1. Titrage pH métrique du ligand L <sub>3</sub>	64
2.2. Titrage des NPs par une solution du ligand L <sub>3</sub>	66
2.3. Etudes spectroscopiques des nanoparticules purifiés	68
2.3.1. Propriétés photophysiques et physico-chimiques des NPs-(L <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	68
2.3.2. Etude de la stabilité des NPs-(L <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	69
3. Marquage cellulaire	70
<b>III. Conclusion</b>	<b>71</b>
<b>IV. Bibliographie</b>	<b>72</b>



<b>CHAPITRE III : LIGANDS POLY-PICOLINATES</b>	<b>75</b>
<b>I. Synthèse du ligand tétrapicolinate</b>	<b>77</b>
1. Voie de Synthèse A	77
1.1. Synthèse des précurseurs bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthane	78
1.2. Amination réductrice	79
2. Voie de Synthèse B	79
2.1. Synthèse du diméthyl 6,6'-(((méthylsulfonyl)oxy)méthylène)dipicolinate	80
2.2. Alkylation	81
2.3. Réduction de la bis (6-méthylpyridin-2-yl)méthanone avec le méthyllithium	81
3. Voie de Synthèse C	82
3.1. Substitution nucléophile sur la 1,1-bis (6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-ol	83
3.2. N-fonctionnalisation sur la 6,6'-(1-chloroéthane-1,1-diyl)bis(2-méthylpyridine)	83
4. Synthèse du ligand L <sub>5</sub> un analogue de L <sub>4</sub>	84
4.1. Substitution du chlore par un azoture	84
4.2. Réduction du groupement azoture	85
4.3. Oxydation et Estérification de la 1,1-bis(6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-amine	86
4.4 Alkylation du diéthyl 6,6'-(1-aminoéthane-1,1-diyl) dipicolinate	87
5. Discussion	87
<b>II. Ligand pyridine-tétrapicolinique</b>	<b>88</b>
1. Etude du ligand L <sub>6</sub>	89
1.1. Synthèse du ligand L <sub>6</sub>	89
1.1.1 Synthèse de la pyridine-2,6-diylbis(bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanol)	89
1.1.1.1. Oxydation de la pyridine-2,6-diylbis(bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanol)	90
1.2. Etudes spectroscopiques du ligand L <sub>6</sub>	91
1.2.1 Titrages par addition d'Eu(III) suivit par absorption électronique	91
1.2.2 Titrages par addition d'euporium Eu(III) suivit par émission de fluorescence	92
2. Etude du ligand L <sub>7</sub>	94
2.1 Synthèse du ligand L <sub>7</sub>	94
2.2 Etudes spectroscopiques du ligand L <sub>7</sub>	95
3. Etude des complexes isolés de L <sub>7</sub>	95
3.1. Synthèse des complexes isolés	95
3.2. Etude spectroscopique des complexes isolés	96
<b>III. Ligand bipyridine-tétrapicolinique</b>	<b>97</b>
1. Etude du Ligand L <sub>8</sub>	97
1.1. Synthèse du ligand L <sub>8</sub>	97
1.2. Etudes spectroscopiques du ligand L <sub>8</sub>	98
1.1.1. Titrages par addition d'Eu(III) et Tb(III) suivit par absorption électronique	98
1.1.2. Titrages par addition d'euporium Eu(III) et Tb(III) suivit par émission de fluorescence	100
2. Synthèse et caractérisation du complexe mononucléaire de L <sub>8</sub>	101
2.1 Synthèse du complexe [Eu(L <sub>8</sub> )] <sup>-</sup>	101
2.2 Caractérisation par spectrométrie de masse de [Eu(L <sub>8</sub> )] <sup>-</sup>	102
2.3 Caractérisation par RMN de [Eu(L <sub>8</sub> )] <sup>-</sup>	103

<b>IV.</b>	<b>CONCLUSION</b>	<b>104</b>
<b>V.</b>	<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>105</b>
	<b>CHAPITRE IV : LIGANDS BENZYL-CYCLENE</b>	<b>109</b>
<b>I.</b>	<b>Etudes des complexes mono,di et trinocléaires</b>	<b>111</b>
1.	Synthèses des ligands et des complexes	112
1.1.	Synthèse des complexes mononucléaires	112
1.1.1	Synthèse du ligand L <sub>9</sub>	112
1.1.2	Synthèse des complexes [EuL <sub>9</sub> ] <sup>+</sup> et [TbL <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>	113
1.2.	Synthèse des complexes dinucléaires	114
1.2.1	Synthèse du ligand ditopique L <sub>10</sub>	114
a.	Voie de synthèse A	114
b.	Voie de synthèse B	115
1.2.2	Synthèse des complexes [Eu <sub>2</sub> (L <sub>10</sub> )] <sup>2+</sup> et [Tb <sub>2</sub> (L <sub>10</sub> )] <sup>2+</sup>	117
1.3.	Synthèse des complexes trinocléaires	119
1.3.1	Synthèse du ligand tritopique L <sub>11</sub>	119
1.3.2	Synthèse des complexes [Eu <sub>3</sub> (L <sub>11</sub> )] <sup>3+</sup> et [Tb <sub>3</sub> (L <sub>11</sub> )] <sup>3+</sup>	120
2.	Etudes Spectroscopiques	122
2.1.	Etudes des complexes de terbium	122
2.2.	Etudes des complexes d'euporium	124
2.3.	Discussions	125
3.	Conclusion	126
<b>II.</b>	<b>Modulation des chromophores du ligand ditopique</b>	<b>126</b>
1.	Voie de Synthèse A	127
1.1	Synthèse des précurseurs	128
1.1.1	Synthèse du méthyl 4-iodo-6-(((méthylsulfonyl)oxy)méthyl)picolinate	128
1.1.2	Synthèse des dérivés éthyne-benzénique	128
1.1.3	Synthèse de la plateforme iodo-picolinate	129
1.2	Tétra- couplage de Sonogashira	130
2.	Voie de Synthèse B	131
2.1	Synthèse des chromophores	131
2.2	Synthèse des ligands L <sub>12</sub> et L <sub>13</sub>	131
2.2.1.	Synthèse du ligand L <sub>12</sub>	131
2.2.2.	Synthèse du ligand L <sub>13</sub>	132
3.	Tentative de synthèse du complexe dinucléaire d'euporium de L <sub>12</sub>	133
<b>III.</b>	<b>Conclusion</b>	<b>134</b>
<b>IV.</b>	<b>Bibliographie</b>	<b>136</b>

<b>CHAPITRE V : LIGANDS PYRIDINE BIS-PYRAZOLE</b>	<b>139</b>
<b>I. Synthèses des ligands et des complexes dinucléaires</b>	<b>141</b>
1. Voie de Synthèse A – La voie du cyclène glyoxal	141
1.1. Synthèse des précurseurs pyridine-bispyrazolyliques	142
1.2. Synthèse de la plate-forme bis-cyclène-bispyrazolylpyridine	143
1.3. N-fonctionnalisation par des éthyle 6-(chlorométhyl)picolinate	144
1.4. Synthèse du ligand L <sub>14</sub>	144
2. Voie de Synthèse B – La voie du cyclène-Boc-O-Succinimide	146
2.1. N-fonctionnalisation sur la plateforme 4-bromo-2,6-bis (3-(bromométhyl) 1H-pyrazol-1-yl)pyridine	147
2.2. Synthèse du ligand L <sub>15</sub>	150
3. Synthèse des complexes dinucléaires	151
<b>II. Etudes Spectroscopiques</b>	<b>153</b>
1. Complexe de terbium	153
1.1. Spectroscopie d'absorption électronique	153
1.2. Spectroscopie d'émission de luminescence	154
2. Complexe d'euprium	156
2.1. Spectroscopie d'absorption électronique	156
2.2. Spectroscopie d'émission de luminescence	157
<b>III. Conclusion</b>	<b>159</b>
<b>IV. Bibliographie</b>	<b>160</b>
<b>CHAPITRE VI : CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>163</b>
<b>CHAPITRE VII : PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>169</b>
<b>ABBREVIATIONS</b>	<b>205</b>
<b>CONFERENCES ET PUBLICATIONS</b>	<b>206</b>



# **CHAPITRE I :**

# **INTRODUCTION**



## **I. Projet ANR « NanoFret »**

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du projet « NanoFret », financé par l'Agence Nationale de Recherche (ANR). Il porte sur le développement de nouvelles techniques d'analyses fluoroimmunologiques afin d'être utilisées dans la détection de deux biomarqueurs du choc septique: la procalcitonine (PCT) et la proadrénomédulline (PAM).

Le projet NanoFRET vise à exploiter les propriétés photophysiques exceptionnelles des nanocristaux luminescents semi-conducteurs, les quantum dots (QD) pour parvenir à des analyses fluoroimmunologiques multiplexées ultrasensibles. La combinaison des QDs et des complexes d'ions lanthanides permet d'augmenter de façon significative la sensibilité de détection des processus de reconnaissance biomoléculaire, avec l'avantage de détecter simultanément pour un même échantillon, plusieurs processus biologiques différents.

Le projet s'appuie sur les compétences de différentes équipes de recherche :

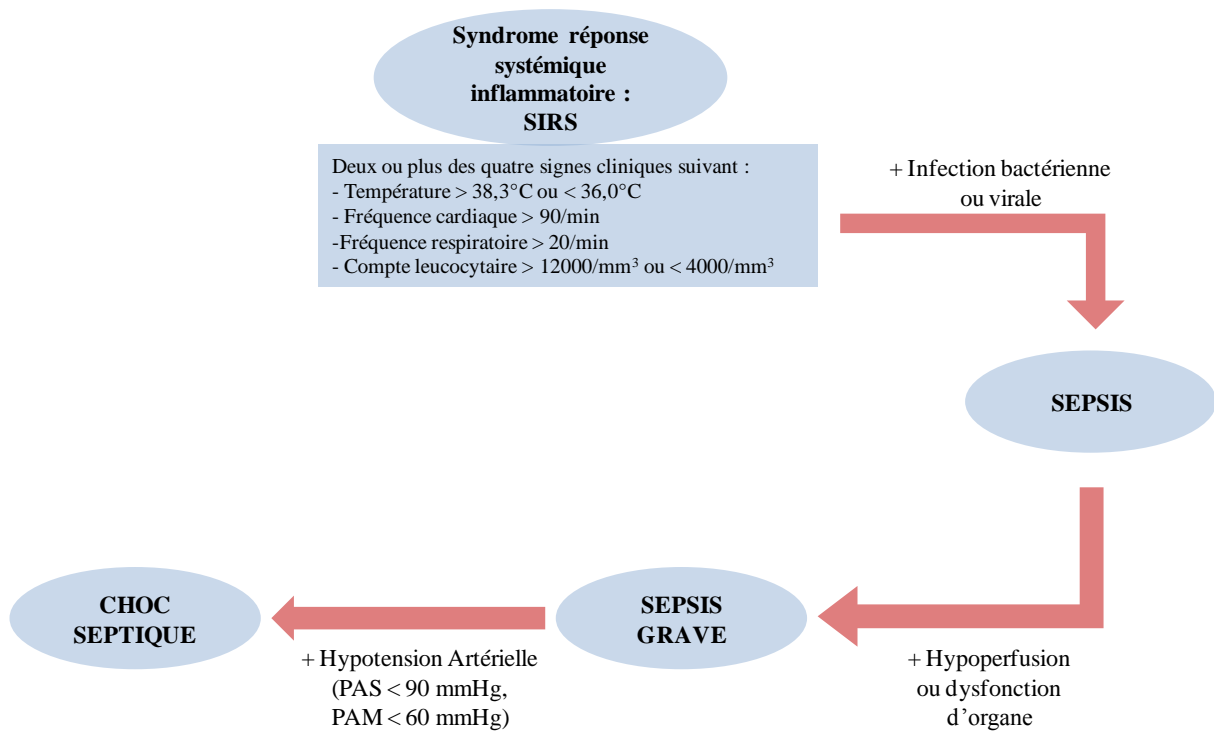
- le Dr Peter Reiss travaillant dans les domaines des nanoparticules luminescentes à Institut Nanoscience et Cryogénie INAC, CEA Grenoble.
- le Dr Niko Hildebrandt travaillant dans le domaine du transfert d'énergie par résonance de type Förster (FRET, acronyme de l'anglais Förster resonance energy transfer) à l'Institut d'Electronique Fondamentale IEF d'Orsay
- un partenaire industriel, Cezanne-Thermo Fisher-Thermo Fisher travaillant dans le développement de kits fluoroimmunologiques.
- le Dr Loïc Charbonnière travaillant dans la synthèse de nouveau complexes luminescents de lanthanides au Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire Appliquée à l'Analyse, Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien IPHC, CNRS de Strasbourg.

## **II. Choc septique**

### **1. Généralités**

En 1992, un groupe de consensus international composé de « l'American College of Chest Physicians » (ACCP) et la « Society of Critical Care Medicine » (SCCM) a défini le sepsis comme une réponse inflammatoire systémique à une infection. Les états septiques ont été classés afin de mieux diagnostiquer cette pathologie. Ils sont classés en fonction de l'intensité de la réponse de l'organisme à l'infection. On distingue le sepsis induit par une infection bactérienne ou virale. Le sepsis en présence d'hypoperfusion et de dysfonction d'organe est

qualifié de grave. Le choc septique est diagnostiqué quand un sepsis grave est accompagné d'hypotension artérielle (**Figure 1**).<sup>3</sup>



**Figure 1.** Critères diagnostiques du SIRS, de la sepsis et du choc septique<sup>2,3</sup>

La réponse du patient lors d'un sepsis est caractérisée par une réponse proinflammatoire et une réponse antiinflammatoire immunosuppressive (**Figure 2**). La direction, l'étendue et la durée de ces réactions sont déterminées par les facteurs du patient (les caractéristiques génétiques, l'âge, les maladies coexistantes et les médicaments) et les facteurs pathogènes (la charge microbienne et la virulence). La réponse inflammatoire est initiée par l'interaction entre les molécules exprimées par l'agent pathogène et les récepteurs de reconnaissance exprimés à la surface des cellules du patient (TLR, les récepteurs lectine de type C (CLR)), dans l'endosome ou dans le cytoplasme. Les conséquences de l'inflammation exagérée sont des lésions tissulaires collatérales. La mort cellulaire nécrotique est causée par la libération de molécules qui perpétuent l'inflammation en agissant sur les récepteurs de reconnaissance des agents pathogènes.<sup>4</sup>



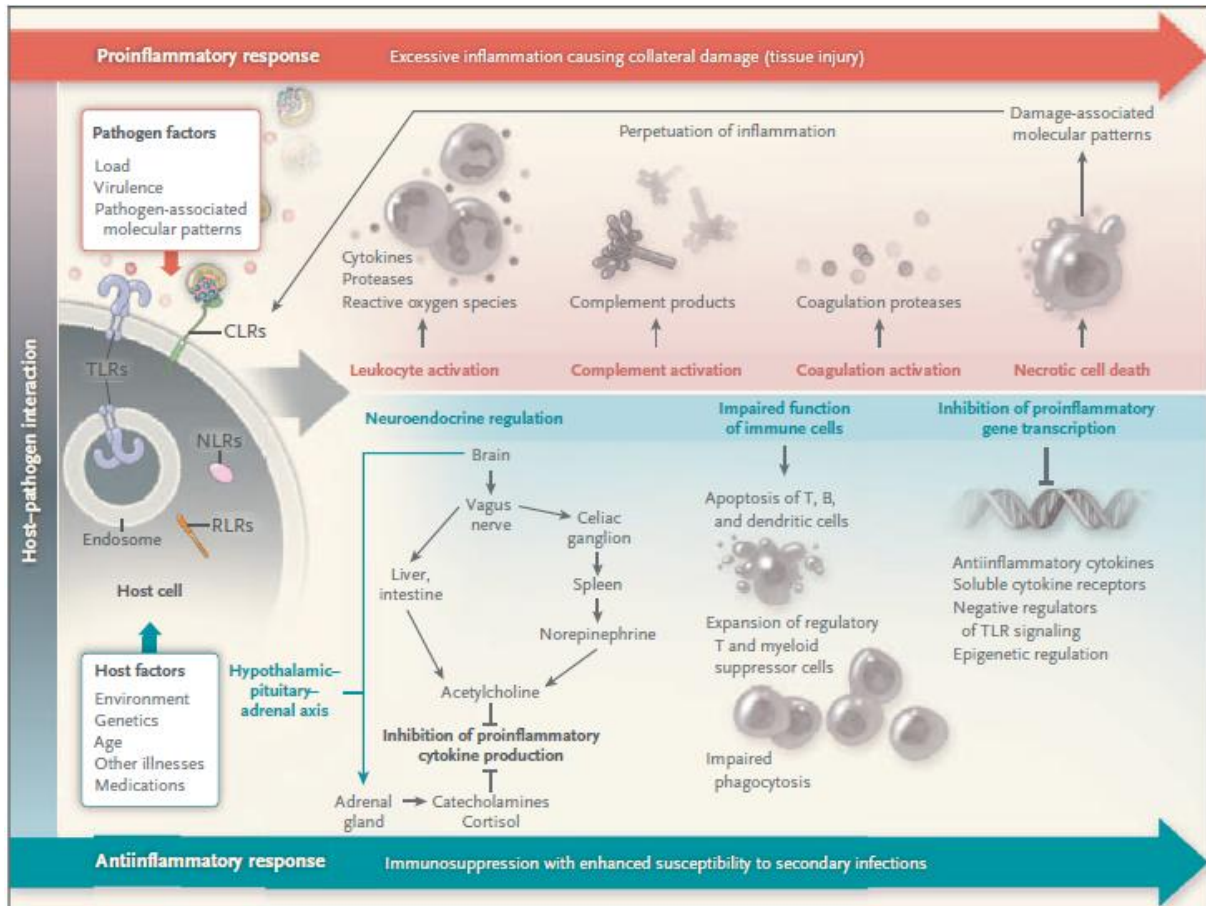


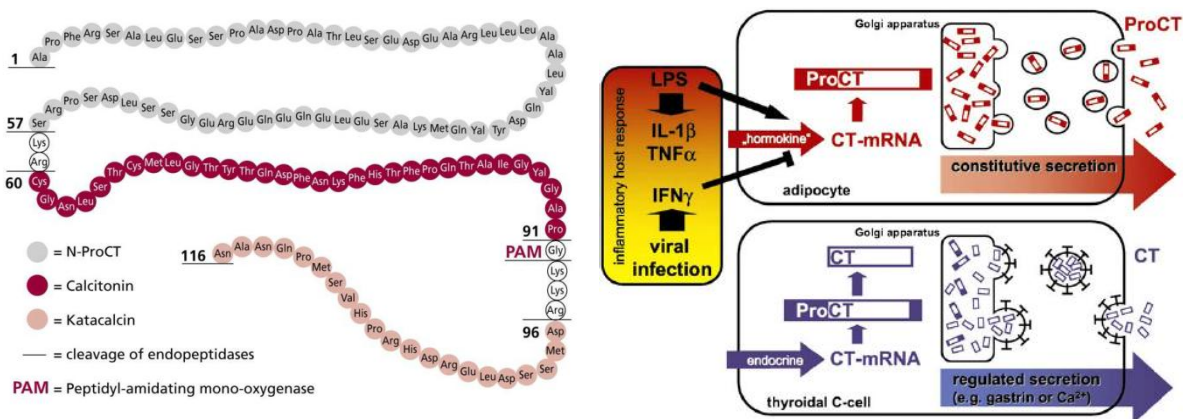
Figure 2. Réponse cellulaire lors d'un sepsis grave <sup>4</sup>

Le sepsis sévère et le choc septique représentent un des problèmes les plus urgents de la médecine. Avec les progrès dans les unités de soins intensifs, les cliniciens ont permis de réduire le risque de mort imminente associé à une septicémie. Un diagnostic précis et précoce de la maladie permet de diriger le traitement antiseptique dans les premières heures qui sont souvent cruciales. Un diagnostic précoce nécessite la quantification d'un biomarqueur du choc septique. Un biomarqueur est défini comme « une caractéristique qui est objectivement mesurée et évaluée comme indicateur des procédés biologiques normaux, des procédés pathogènes ou des réactions pharmacologiques à une intervention thérapeutique».<sup>5</sup> Parmi les différents biomarqueurs du choc septique, le projet « NanoFret » s'est axé sur la procalcitonine et la proadrénomedulline.

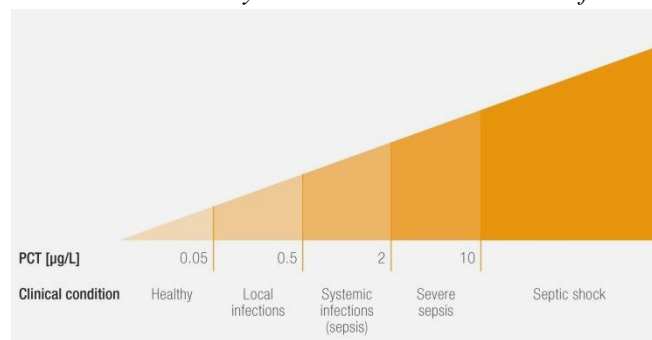
## 2. Procalcitonine

La procalcitonine (PCT) est une pro-hormone de la calcitonine sécrétée par les cellules thyroïdiennes afin de réguler la concentration de calcium dans le sang. PCT est une protéine de 116 acides aminés (**Figure 3**). Elle est impliquée dans la réponse immunitaire dans une

variété d'états inflammatoires, y compris le choc cardiogénique, le traumatisme, la pancréatite nécrosante, les brûlures, la chirurgie et l'infection.<sup>6</sup> La PCT est sécrétée par différentes cellules lors d'une infection bactérienne ou parasitaire. Une augmentation de sa concentration dans le sang indique la présence d'une infection. La concentration de PCT produite est souvent corrélée à la concentration d'agents pathogènes (**Figure 4**). La PCT est intéressante car sa concentration n'augmente pas pour des pathologies inflammatoires non infectieuses. Le dosage de la PCT est donc utile pour évaluer l'évolution d'un état infectieux ou l'efficacité d'un traitement antimicrobien.



**Figure 3.** Schéma structurel de la PCT et synthèse de la PCT lors d'une infection virale et bactérienne<sup>6</sup>



**Figure 4.** PCT, un biomarqueur du choc septique<sup>7</sup>

### 3. Proadrénomédulline

L'adrénomédulline (ADM) est un peptide de 52 acides aminés (**Figure 5**) avec une activité bactéricide et vasodilatatrice. Sa production aide à maintenir un approvisionnement en sang dans tous les organes. Son activité bactéricide permet d'aider le diagnostic du choc septique mais sa mesure est techniquement impossible en raison de son élimination rapide. Sa quantification est basée sur l'un de ses fragments: la proadrénomédulline (pro-ADM).<sup>8</sup> Sa concentration peut être mesurée dans des milieux biologiques par des procédés automatisés utilisant la technologie TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission).<sup>9</sup> Le fragment le plus stable est le MR-pro-ADM (midregional fragment of proadrenomedullin) compris

entre les acides aminés 45-92. Il a été détecté dans le plasma de patients présentant un choc septique comme une conséquence de l'activité de l'ADM. Une étude italienne comparant la PCT et la MR-pro-ADM chez 200 patients septiques, 90 patients atteints de SIRS, et 30 personnes saines montre que la pro-ADM permet de distinguer les patients septiques, des patients sains. L'utilisation combinée du PCT et de MR-pro-ADM a donné une probabilité de 0,998 lors du diagnostic des patients septiques.<sup>9</sup> La combinaison des deux biomarqueurs peut améliorer considérablement le diagnostic du choc septique.

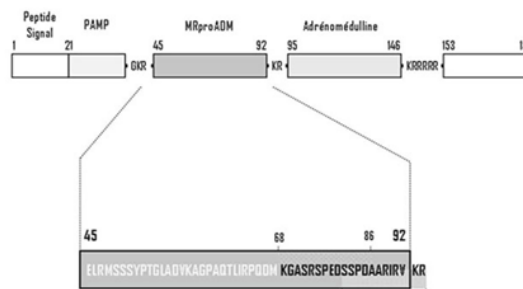


Figure 5. Schéma structurel de l'adrénomédulline<sup>10</sup>

### III. La fluoroimmunologie

#### 1. Généralité

La technique d'analyse que nous souhaitons utiliser pour quantifier la concentration en biomarqueurs est une méthode fluoroimmunologique. La fluoroimmunologie est basée sur la réaction de liaison antigène (Ag) – anticorps (Ac).<sup>11</sup> Les anticorps ou immunoglobulines sont des glycoprotéines synthétisées par les lymphocytes B (**Figure 6**). Ils sont capables de reconnaître et de se lier à tout corps moléculaire qu'ils considèrent comme étranger : les antigènes. Un anticorps est composé de deux chaînes protéiniques identiques, deux chaînes lourdes et deux chaînes légères reliées par un pont disulfure. Les deux chaînes possèdent deux régions variables notées VH et VL. Ces régions sont responsables de la liaison antigène-anticorps, il s'agit du paratope de l'anticorps. La région constante de l'anticorps permet de se fixer à des récepteurs cellulaires. Il existe 5 classes d'immunoglobulines différentes qui présentent 5 types de chaînes lourdes (M, D, G, A et E). L'affinité et la spécificité naturelle d'un anticorps pour un antigène permet de les utiliser comme des outils biologiques afin de quantifier des biomarqueurs. Dans un dosage fluoro-immunologique, l'élément dosé est

considéré comme un antigène. Il existe deux types de dosages immunologiques : les dosages hétérogènes et homogènes.

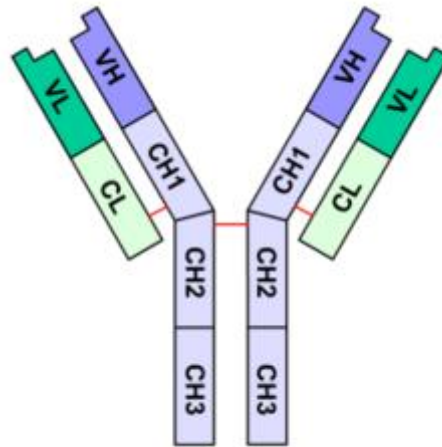


Figure 6. Représentation schématique d'un anticorps

## 2. Dosage hétérogène

Dans un dosage hétérogène, l'élément dosé est pris en sandwich entre deux réactifs : Un anticorps de capture et un anticorps traqueur (Figure 7).<sup>12</sup> L'anticorps de capture est absorbé ou fixé de manière covalente sur un support solide. L'analyte est fixé sur l'anticorps de capture ce qui induit un complexe Ac-Ag insoluble. L'anticorps traqueur va se fixer à l'antigène et former un complexe sandwich Ac-Ag-Ac. La séparation des complexes et des anticorps libres se fait par un simple lavage. L'activité du traqueur qui contient un fluorophore est proportionnelle à la concentration de l'analyte.

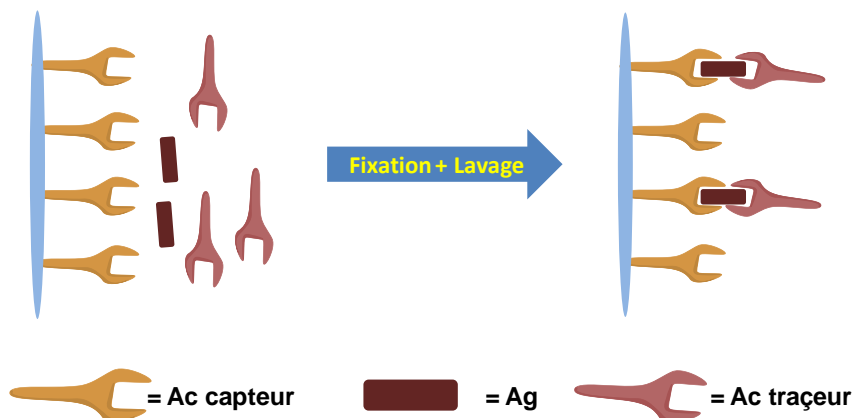
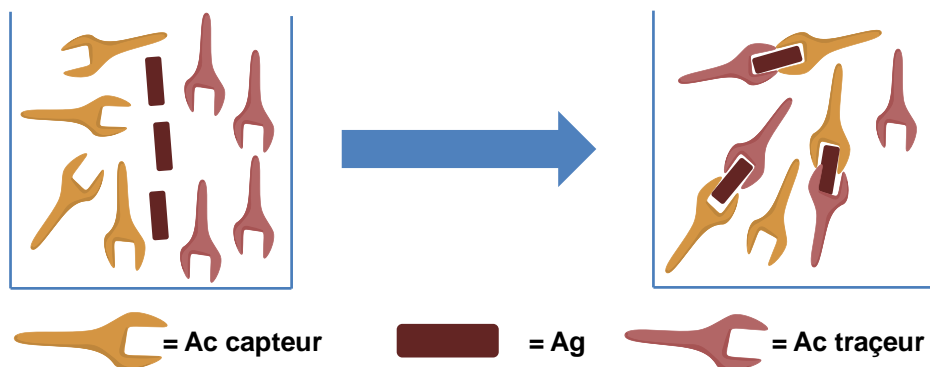


Figure 7. Schéma représentant un dosage fluoroimmunoologique hétérogène

### 3. Dosage homogène

Le dosage homogène<sup>12</sup> est réalisé dans un seul et même milieu. L'émission du traçeur est modulée par son éventuelle interaction avec l'anticorps capteur (**Figure 8**). La formation du complexe Ac-Ag-Ac est suivie en mesurant le signal total du milieu. Il n'est plus nécessaire de séparer les anticorps libres et les anticorps complexés. Ce dosage a l'avantage d'être réalisé en une étape et est facilement automatisable. Cependant il nécessite de pouvoir quantifier la formation des complexes Ac-Ag-Ac, notamment par des technique de fluorescence et de FRET.



*Figure 8. Schéma représentant un dosage fluorimmunoologique homogène*

## IV. Fluorescence et FRET

Les dosages fluorimmunoologiques emploient des anticorps marqués par un fluorophore. Les méthodes de fluorescence ont été développées car elle présente une haute sensibilité.

### 1. Fluorescence

La fluorescence est la conséquence d'un retour à l'état fondamentale ( $S_0$ ) d'une molécule excitée ( $S_1$ ) par émission d'un photon à une certaine longueur d'onde. Perrin et Jablonski ont proposé un mécanisme afin d'expliquer ce phénomène (**Figure 9**).<sup>13</sup> L'absorption d'un photon induit le passage d'un électron vers une orbitale moléculaire de plus haute énergie. La molécule excitée retourne à l'état fondamentale via différentes transitions qui peuvent être radiatives (émission d'un photon) et non radiatives. Ce phénomène a une durée de vie de l'ordre de la nanoseconde. L'énergie du photon émis est toujours plus basse que celui du

photon absorbé. Un fluorophore est toujours caractérisé par son spectre d'absorption, d'excitation, d'émission, son temps de vie de fluorescence et son rendement quantique qui est le rapport entre le nombre de photons émis et absorbés.

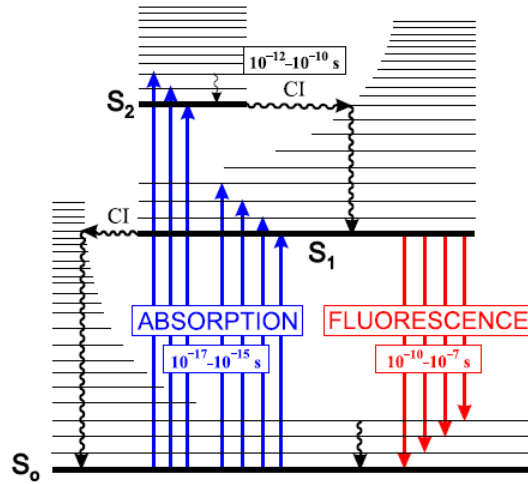


Figure 9. Mécanisme de la fluorescence selon Perrin et Jablonski<sup>13</sup>

## 2. FRET

### 2.1. Définition

L'un des phénomènes physiques utilisés lors d'une analyse fluoroimmunologique homogène est le FRET acronyme anglais de « *Fluorescence resonance energy transfer* ». <sup>14</sup> Il s'agit d'un transfert d'énergie non radiatif de fluorescence entre deux molécules, un fluorophore donneur (D) et un fluorophore accepteur (A) ayant des propriétés spectroscopiques différentes. Lors ce qu'on excite le fluorophore A et que son spectre d'émission se superpose avec le spectre d'absorption du fluorophore D, il peut y avoir un transfert d'énergie qui induit l'émission du fluorophore B (**Figure 10**). La distance entre les deux fluorophores doit être de l'ordre de 10 nm, leurs dipôles de transition électronique doivent avoir une orientation respective appropriée.

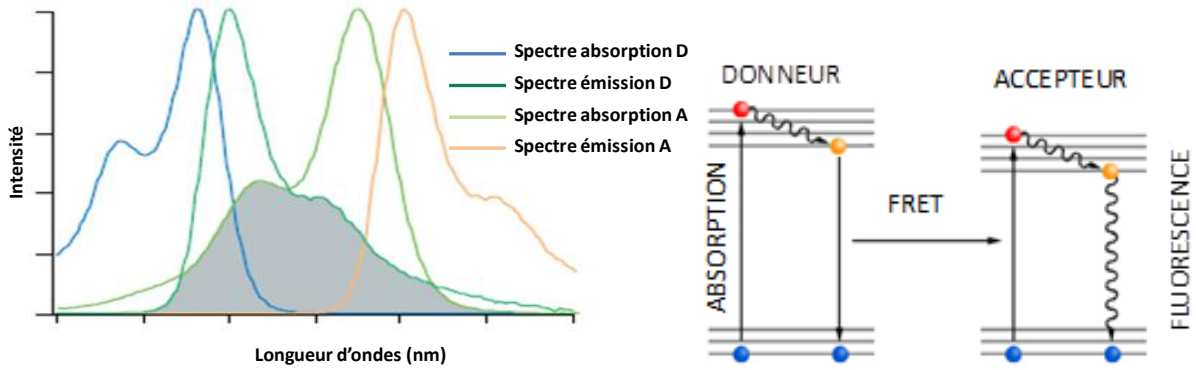


Figure 10. Schéma représentant le FRET d'un point vue spectroscopique (à gauche) et selon le diagramme de Jablonski (droite)

### 2.2. Rayon de Förster et efficacité de transfert

Le transfert d'énergie est caractérisé par le rayon de Förster  $R_0$  qui est la distance à laquelle se produit 50 % du FRET et par l'efficacité du transfert  $E$ . L'efficacité de transfert  $E$  peut être calculée grâce à la distance entre les deux fluorophores.

$$R_0 = 0.211 \times [\kappa^2 n^{-4} \Phi_D J]^{1/6} \quad E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6}$$

-  $\kappa^2$  est le facteur d'orientation du dipôle dépend de l'orientation relative des moments électriques associés à l'excitation du donneur et de l'accepteur.

$$\kappa^2 = (\cos\theta_{DA} - 3 \cos\theta_D \cos\theta_A)^2$$

$\theta_{DA}$  est l'angle entre les moments de transition électriques du donneur et de l'accepteur d'énergie.  $\theta_D$  et  $\theta_A$  sont respectivement les angles entre le vecteur reliant le donneur à l'accepteur et les dipôles électroniques du donneur et de l'accepteur. Dans le cas des complexes d'ions lanthanides dont le temps de vie de l'état excité est long (ms) l'orientation des dipôles sera très rapide et on peut moyenniser la valeur de  $\kappa^2$  à  $2/3$ .<sup>15</sup>

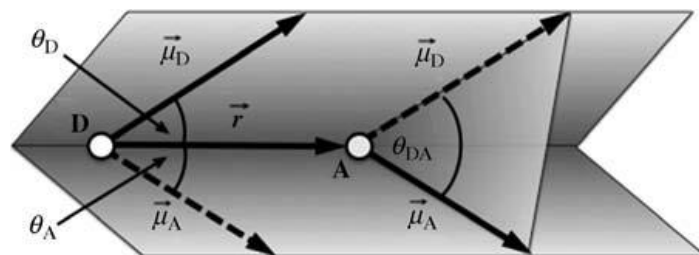


Figure 11. Représentation des angles  $\theta_A$ ,  $\theta_D$  et  $\theta_{DA}$ <sup>15</sup>



- $\Phi_D$  : Rendement quantique de fluorescence du donneur
- $n$  : Indice de réfraction
- $J$  : Intégrale de recouvrement spectral qui représente le degré de recouvrement entre les spectres de fluorescence du donneur et d'absorption de l'accepteur.

$$J = \frac{\int F_D(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^{-4} d\lambda}{\int F_D(\lambda) d\lambda}$$

$F_D(\lambda)$  représente l'intensité de luminescence normalisée du donneur d'énergie à la longueur d'onde  $\lambda$  et  $\epsilon_A$  le coefficient d'absorption molaire de l'accepteur.

### 2.3. Mécanisme

Le mécanisme proposé (**Figure 12**) pour ce transfert d'énergie est une interaction dipôle-dipôle qui est un mécanisme de résonance entre l'état excité du donneur et l'état fondamental de l'accepteur. Les molécules ne sont pas forcément en contact mais la distance est un paramètre important pour l'efficacité du transfert d'énergie.<sup>13</sup>

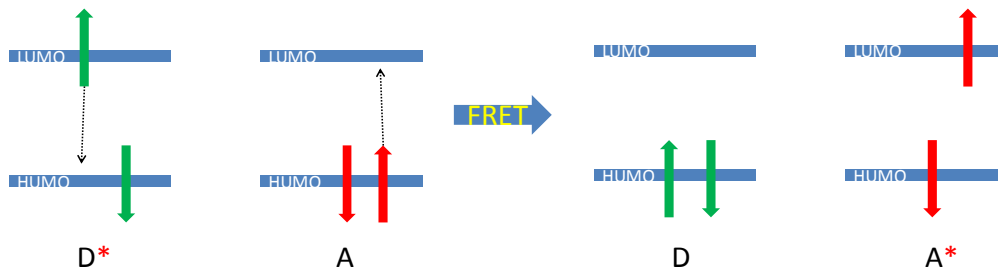


Figure 12. Mécanisme du FRET

### 2.4. Analyses fluoroimmunologiques résolues en temps

Les analyses fluoroimmunologiques sont basées sur la reconnaissance de biomarqueurs par un anticorps marqué avec un complexe luminescent de lanthanides généralement d'euprium (Eu(III)) ou terbium (Tb(III)).<sup>12</sup> Il agit comme donneur d'énergie dans le transfert d'énergie de type Förster (FRET). Un second anticorps est couplé avec un accepteur d'énergie (**Figure 13**). L'avantage des complexes luminescents de lanthanides réside dans leur capacité à posséder un temps de vie de luminescence de l'ordre de la microseconde ( $\mu$ s) à la milliseconde (ms) permettant leur utilisation en microscopie en temps résolue. Cette technique permet d'éliminer les signaux parasites de l'auto fluorescence des milieux biologiques et de l'appareillage de mesure car ces signaux présentent des temps de vie de luminescence très



cours de l'ordre de la nanoseconde (ns). L'analyse permet d'observer uniquement le signal du complexe luminescent de lanthanide et celui de l'anticorps excité par le mécanisme de FRET en respectant un délai de mesure.

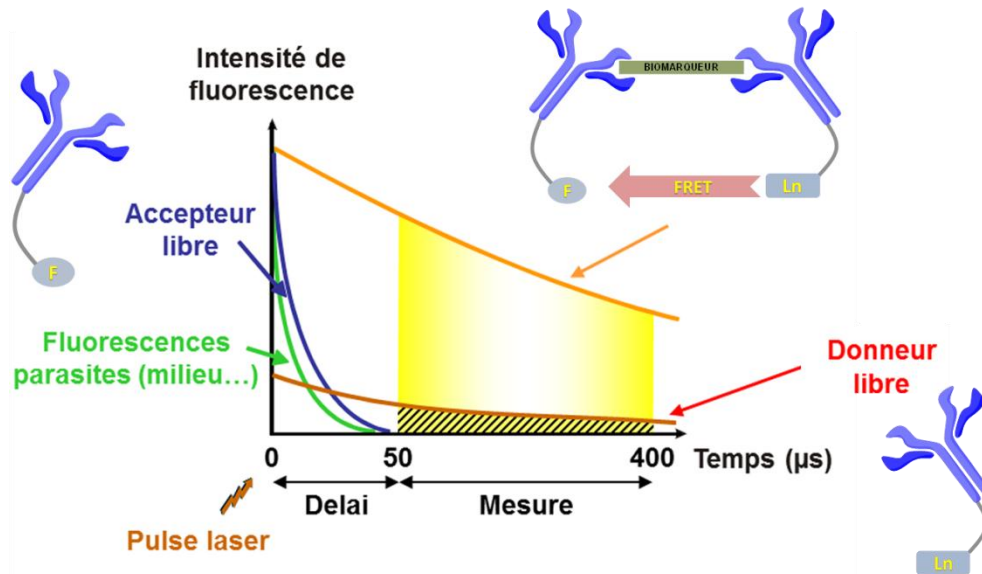


Figure 13. Schéma représentant l'intensité d'émission dans le temps pour les différents marqueurs fluoroimmunologique lors d'un dosage homogène

## V. Les Lanthanides

### 1. Généralités

Les lanthanides sont des éléments chimiques qui composent le bloc f du tableau périodique (**Figure 14**) compris entre le lanthane et le lutécium. Leur découverte a débuté en 1787 dans une ville suédoise nommée Ytterby sous la forme d'un minéral noir, la gadolinite. Le premier lanthanide obtenu est l'yttrium isolé sous sa forme oxyde par le Pr Gadolin à partir de ce minéral.<sup>16</sup> En 1803, Berzelius et Klaproth ont isolé le cérium à partir d'un autre minéral la cécrite. Par la suite, Henry Moseley a prouvé qu'il y avait quatorze éléments entre le lanthane et l'hafnium grâce à l'utilisation des rayons X. Ils ont été classés comme des « terres rares » car ils sont obtenus à partir des minéraux rares, même s'ils sont en fait très abondants dans la croûte terrestre (**Tableau 1**).

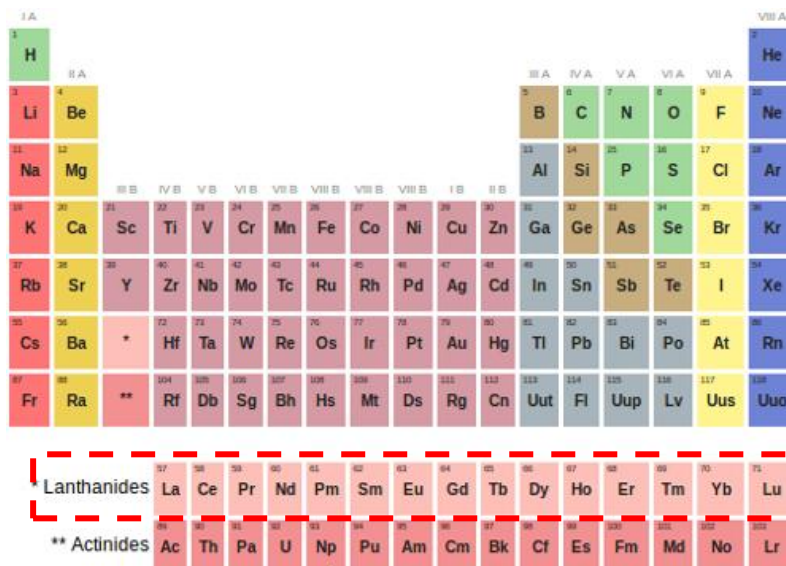


Figure 14. Tableau périodique des éléments<sup>17</sup>

	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Y
Abondance (ppm)	35	66	9.1	40	0	7	2.1	6.1	1.2	4.5	1.3	3.5	0.5	3.1	0.8	31

Tableau 1. Abondance des lanthanides dans la croûte terrestre<sup>16</sup>

## 2. Configuration électronique

Les lanthanides (Ln) sont aussi définis par le remplissage progressif de la sous-couche 4f leur conférant des configurations électroniques similaires variant de  $[Xe]5d^1 6s^2$  à  $[Xe]4f^{14} 5d^1 6s^2$  (Tableau 2). Après le lanthane, l'addition de protons dans le noyau induit la contraction des orbitales 4f devenant plus stables que les orbitales 5d et les sous-couches 4f sont donc remplies avant les sous couches 5d.<sup>16</sup> L'augmentation de la charge nucléaire va agir davantage sur les électrons périphériques causant la diminution du rayon atomique lorsque le numéro atomique augmente. On appelle ce phénomène, la contraction lanthanidique. Les lanthanides ont la capacité de perdre trois électrons afin de former un ion  $Ln^{3+}$  qui domine largement la chimie de complexation des lanthanides.<sup>13</sup> Les ions  $Ln^{3+}$  présentent une configuration électronique  $[Xe]f^{n+1}$ .

Nom	Symbole	Numéro atomique (Z)	Configuration électronique (Ln)	Configuration électronique (Ln <sup>3+</sup> )
Lanthane	La	57	[Xe]5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>0</sup>
Cérium	Ce	58	[Xe]4f <sup>1</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>1</sup>
Praséodyme	Pr	59	[Xe]4f <sup>3</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>2</sup>
Néodyme	Nd	60	[Xe]4f <sup>4</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>3</sup>
Prométhéum	Pm	61	[Xe]4f <sup>5</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>4</sup>
Samarium	Sm	62	[Xe]4f <sup>6</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>5</sup>
Europium	Eu	63	[Xe]4f <sup>7</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>6</sup>
Gadolinium	Gd	64	[Xe]4f <sup>7</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>7</sup>
Terbium	Tb	65	[Xe]4f <sup>9</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>8</sup>
Dysprosium	Dy	66	[Xe]4f <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>9</sup>
Holmium	Ho	67	[Xe]4f <sup>11</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>10</sup>
Erbium	Er	68	[Xe]4f <sup>12</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>11</sup>
Thulium	Tm	69	[Xe]4f <sup>13</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>12</sup>
Ytterbium	Yb	70	[Xe]4f <sup>14</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>13</sup>
Lutécium	Lu	71	[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	[Xe]4f <sup>14</sup>

Tableau 2. Configuration électronique des lanthanides et de leurs ions Ln (III)

### 3. Chimie de coordination des lanthanides

Les ions lanthanides sont des acides « durs » selon la classification de Pearson<sup>18</sup> donc ils présentent une excellente affinité pour les ligands composés d'atomes donneurs d'électrons comme l'oxygène et les halogènes et une affinité moyenne pour les atomes « mous » comme le soufre, le phosphore et les atomes d'azote aromatiques. Leurs orbitales 4f étant des orbitales profondes, les ions Ln(III) interagissent faiblement avec leur environnement. Ils possèdent une couche externe complète donc ne peuvent pas former des liaisons covalentes. La liaison entre le métal et le ligand est purement électrostatique induisant des complexes de lanthanides sans préférence stéréochimique. Donc leur nombre de coordination varie et est difficile à prévoir. La géométrie des complexes est essentiellement induite par des facteurs stériques, électrostatiques et la dureté des bases de Lewis du ligand. Le nombre de coordination peut varier entre 3 et 12 nombres de coordinations selon l'ion lanthanide.<sup>19</sup>

#### 4. Propriétés magnétiques

A l'exception du  $\text{La}^{3+}$  et du  $\text{Lu}^{3+}$ , les ions  $\text{Ln}^{3+}$  possèdent des électrons non appariés car leurs orbitales de valence 4f ne sont pas entièrement remplies. Ils sont donc paramagnétiques sauf  $\text{La}^{3+}$  et du  $\text{Lu}^{3+}$  qui sont diamagnétique. Le gadolinium  $\text{Gd}^{3+}$  possède sept électrons non appariés qui lui confère un moment magnétique élevé et possède un temps de relaxation électronique long par rapport aux autres éléments f.<sup>20</sup> Le magnétisme du Gd(III) est principalement utilisé lors de la synthèse d'agents de contrastes à base de complexes de gadolinium pour l'imagerie par résonance magnétique.<sup>21,22</sup>

### VI. La luminescence de lanthanides

#### 1. Origine des propriétés spectroscopiques des lanthanides

La compréhension de la luminescence des lanthanides nécessite la compréhension des niveaux énergétiques relatifs aux orbitales 4f des ions Ln(III). La configuration électronique (**Figure 15**) est d'abord divisée en termes en raison de la répulsion entre les électrons dans les orbitales dû aux interactions coulombiennes. Les termes sont ensuite divisés en différents niveaux J à cause de couplage spin-orbite. Ces différents niveaux représentent les niveaux de l'ion libre et sont décrits par les symboles termes S, L et J avec la formule  $^{2S+1}L_J$ , où  $2S + 1$  est la multiplicité de spin, L est le moment angulaire orbitalaire total, et J le moment cinétique total des électrons f.<sup>16</sup> La protection des orbitales 4f par les orbitales remplies 5s et 5p induit par des niveaux d'énergies J bien définis, et les transitions entre ces niveaux sont nettes, ce qui entraîne, des bandes d'émission spécifiques pour chaque lanthanide (**Figure 19**). Si l'ion lanthanide est dans un environnement de coordination, les niveaux J peuvent être encore divisés en sous-niveaux, en raison du champ électrique de la matrice.<sup>23</sup>

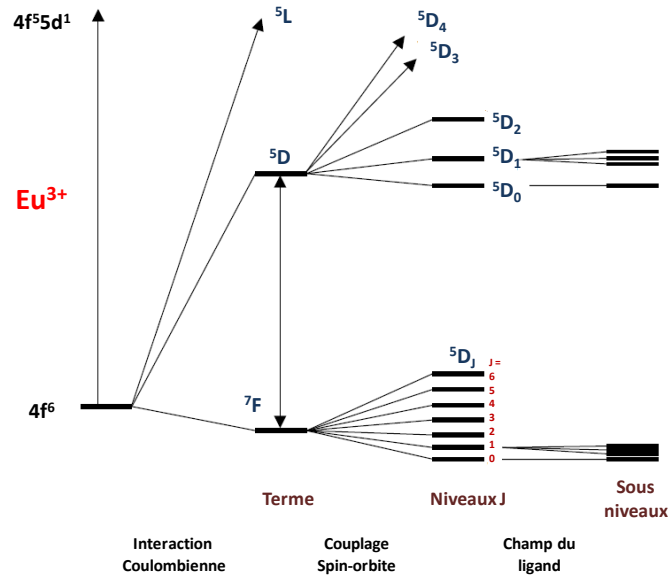


Figure 15. Diagramme d'énergie partiel de l'ion  $\text{Eu}^{3+}$  <sup>24</sup>

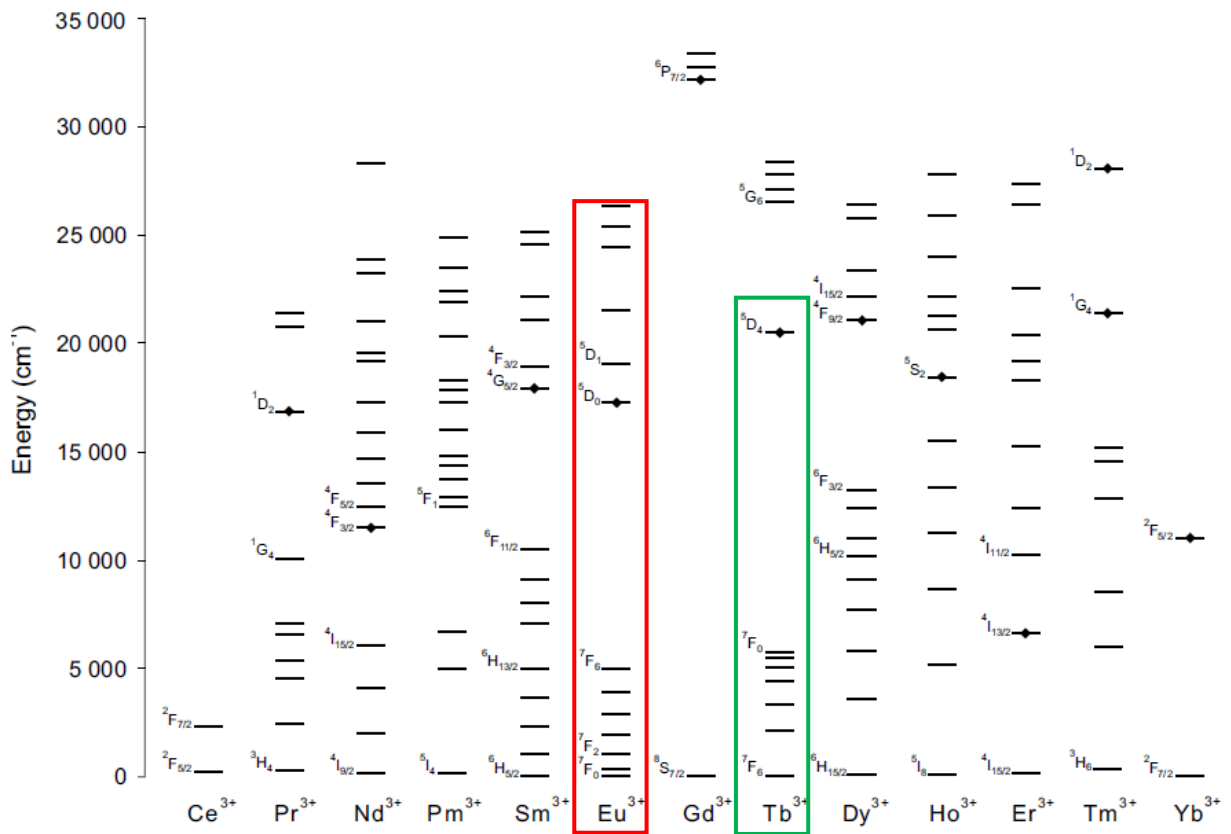


Figure 16. Diagramme d'énergie des ions lanthanides en solution aqueuse<sup>16</sup>

L'absorption d'un photon puis l'émission de lumière sont le résultat de deux types de transitions radiatives: les transitions dipolaires magnétiques de parité autorisée et les transitions dipolaires électriques de parité-interdite.<sup>25</sup> Toutes les transitions ne sont pas

permises car elles doivent obéir à des règles de sélection. La plupart des transitions des ions  $\text{Ln}^{3+}$  impliquent la redistribution des électrons au sein de la sous-couche 4f (transitions f-f). Ces transitions impliquent donc des orbitales de même symétrie, et sont interdites selon la règle de parité de Laporte.<sup>16</sup> Ce qui induit que le retour à l'état fondamental des ions excités est un processus désavantagé et par conséquent les ions Ln(III) présentent aux états excités des temps de vie de luminescence longs. Les ions Ln(III) possèdent un coefficient d'absorption molaire faible d'environ  $10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Pour ces raisons, les lanthanides sont excités de manière indirecte à l'aide de ligand chromophorique. Il s'agit de l'effet d'antenne découvert pour la première fois par Weissman en 1942.<sup>26,27</sup> La luminescence des lanthanides recouvre une large gamme spectrale allant de l'ultraviolet à l'infrarouge (**Figure 17**). Elle présente un large déplacement de Stokes et leurs raies d'émission sont fines. Le lanthane, le lutécium et le prométhéum ne possèdent pas de propriétés de luminescence car il ne peut pas avoir de transitions électroniques pour les deux premiers (pas d'électrons dans l'orbitale 4f pour La(III) et orbitale saturée pour le Lu(III)) et le Pm(III) est radioactif et instable.

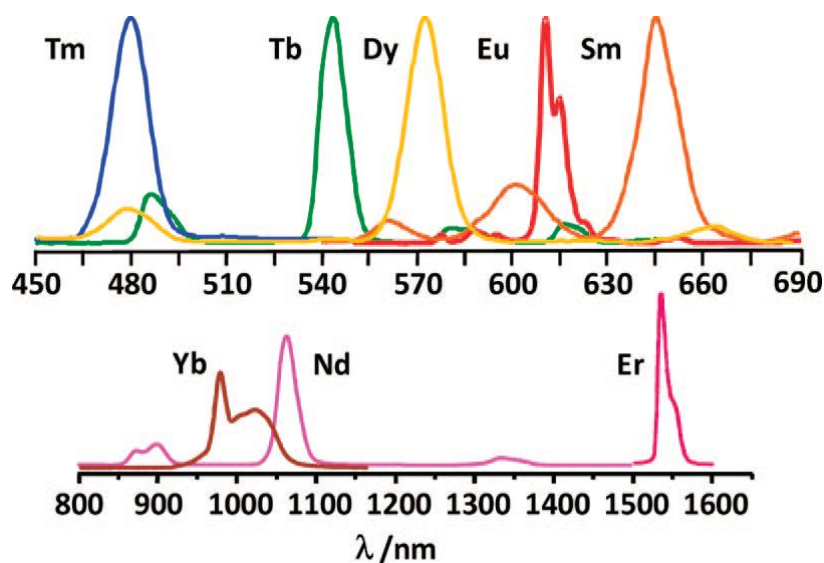


Figure 17. Spectre d'émission de quelques lanthanides<sup>23</sup>

## 2. Effet d'antenne

### 2.1. Principe de l'effet d'antenne

La coordination d'un ion Ln(III) à un ligand composé de groupements chromophoriques permet aux transitions dipolaires électriques interdites d'être partiellement autorisées. On dit qu'elles sont forcées ou induites.<sup>28,25</sup> Ces transitions dipolaires électriques induites sont les principales responsables de l'absorption et de l'émission des complexes de lanthanides.

L'absorption d'un photon (**Figure 18**) par le ligand chromophorique permet de peupler son état singulet  $S_1$ . Il peut retourner à l'état fondamental  $S_0$  par fluorescence ou par une émission non radiative. Un croisement intersystème permet le peuplement de l'état de triplet  $T_1$  via  $S_1$ . Le croisement intersystème est un processus normalement défavorisé pour les fluorophores organiques mais la présence d'un atome lourd comme l'ion Ln(III) le rend favorable.<sup>29</sup> A partir de  $T_1$ , il y a soit un retour à l'état fondamental  $S_0$  par phosphorescence ou croisement intersystème non radiatif vers l'état excité de l'ion Ln(III) qui retrouve son état fondamentale par luminescence impliquant les transitions f-f ou par un processus non radiatif.<sup>16</sup> Le ligand permet d'accéder à un coefficient d'absorption de l'ordre de  $10^4 \cdot M^{-1} \cdot cm^{-1}$ . L'absorption dépend principalement du ligand mais l'intensité d'émission dépend lui de l'efficacité de transfert entre le ligand et l'ion Ln(III).

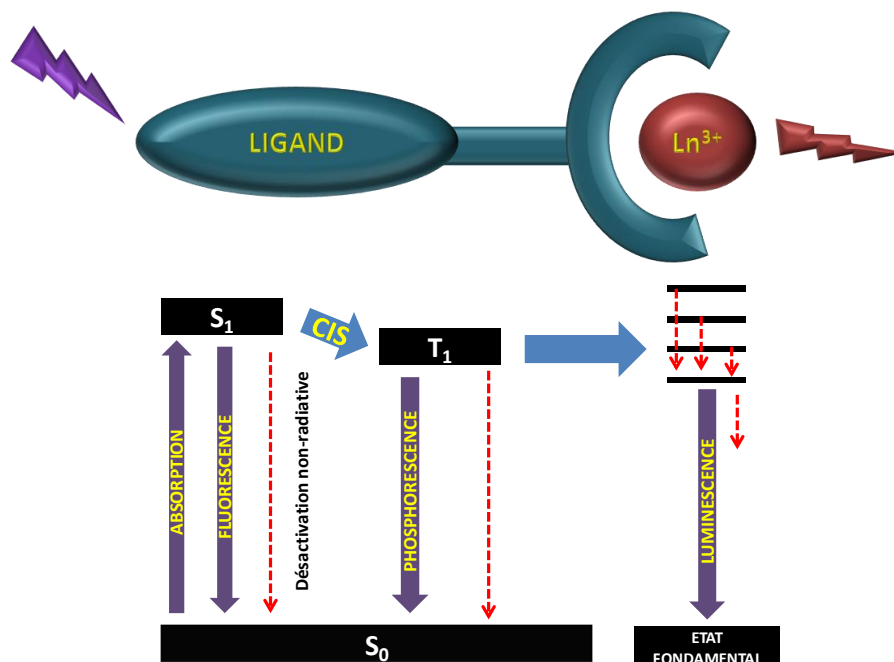


Figure 18. Diagramme de Perrin-Jablonski simplifié schématisant l'effet d'antenne

## 2.2. Mécanisme du transfert d'énergie ligand-métal

Il y a deux mécanismes proposés pour expliquer le transfert d'énergie entre le ligand et le métal, le transfert de type Förster résumé précédemment (**Figure 12**) et le transfert selon Dexter.<sup>30</sup> Le transfert d'énergie de type Dexter (**Figure 19**) nécessite un recouvrement orbitalaire car il fait intervenir un transfert d'électron entre le donneur et l'accepteur. Un électron est déplacé de l'état excité du ligand vers l'état excité du Ln(III), avec un autre électron simultanément déplacé vers le niveau fondamental du ligand.

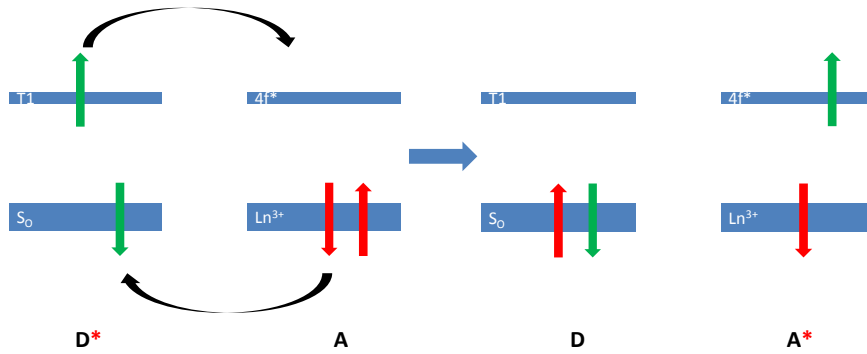


Figure 19. Transfert d'énergie selon Dexter

## 2.2. Rendement quantique et temps de vie de luminescence

Le rendement quantique correspond au rapport entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbés. Le temps de vie de luminescence correspond au temps de vie de l'état excité mesuré par spectrofluorimétrie grâce à l'équation décroissance exponentielle :

$$I_{em}(t) = I_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$$

Le temps de vie de luminescence est égal à  $\tau_{obs} = 1/k_{obs}$  où  $k_{obs}$  est la constante de vitesse du dépeuplement de l'état excité. Si le métal est excité directement, ces deux relations sont directement liées par l'équation suivante :

$$Q_{Ln}^{Ln} = \frac{k_{rad}}{k_{obs}} = \frac{\tau_{obs}}{\tau_{rad}}$$

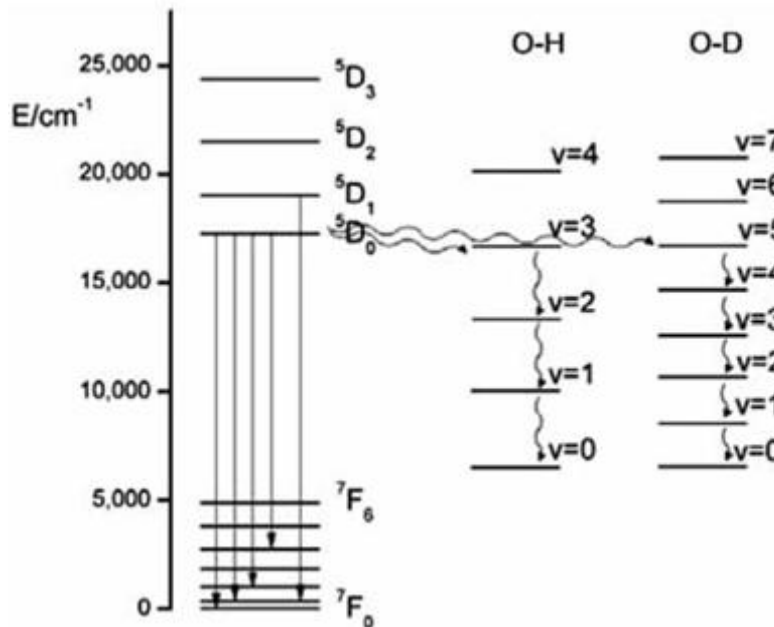
$k^{rad}$  est la constante de vitesse des transitions radiatives. La valeur de  $Q_{Ln}^{Ln}$  est le rendement quantique intrinsèque de l'ion Ln (III) qui met en évidence l'importance des transitions non radiative dans le complexe. La constante de vitesse  $k_{obs}$  est la somme de toutes les constantes de vitesse des transitions radiative et non radiative. En absence de transitions non radiatives le rendement quantique serait égal à 1. C'est pour cela que la désactivation non radiative est l'une des préoccupations majeures lors de la conception d'un complexe luminescent de lanthanides. Le rendement quantique global (Q) du complexe dépend de l'efficacité du transfert d'énergie vers le métal ( $\eta_{TE}$ ) et du rendement quantique intrinsèque du métal  $Q_{Ln}^{Ln}$ .

$$Q = \eta_{TE} \times Q_{Ln}^{Ln}$$



### 3. Quenching de la luminescence

Les molécules d'eau coordonnées en première sphère peuvent être responsables de désactivations non radiatives. La luminescence des lanthanides est très sensible au « quenching » ou piégeage induit par le couplage des niveaux d'énergie luminescents avec les harmoniques des niveaux d'énergie vibrationnels des oscillateurs O-H de la molécule d'eau (**Figure 20**). Les oscillateurs C-H et N-H peuvent être aussi impliqués mais à moindre mesure. On peut calculer le nombre de molécules d'eau coordonnées en première sphère «  $q$  » en mesurant le temps de vie luminescence dans le D<sub>2</sub>O car les oscillateurs O-D présentent des quantas plus petits que ceux des O-H et sont donc beaucoup moins efficaces dans le processus de désexcitation vibrationnel.<sup>31</sup>



**Figure 20.** Désactivation de la luminescence via les oscillateurs O-H et O-D coordonnées à l'Eu(III)<sup>32</sup>

Horrocks et Sundricks ont développé une équation afin de calculer le nombre de molécules d'eau en première sphère de coordination à partir des temps de vie de luminescence dans l'H<sub>2</sub>O et dans le D<sub>2</sub>O :<sup>31</sup>

$$q_{\text{H}_2\text{O}} = A \times \left( \frac{1}{\tau_{\text{H}_2\text{O}}} - \frac{1}{\tau_{\text{D}_2\text{O}}} \right)$$

La constante A représente la capacité des lanthanides à être désactivés par les oscillateurs O-H. Cette équation englobe les molécules d'eau en première et de seconde sphère de

coordination. Une étude menée par le groupe de Parker permet d'améliorer cette équation en y insérant la valeur correctrice B correspondant à la contribution des oscillateurs O-H des molécules d'eau en deuxième sphère de coordination.<sup>33</sup> Les valeurs de A et B varient en fonction de l'ion Ln(III) utilisé :

$$q_{H_2O} = A \times \left( \frac{1}{\tau_{H_2O}} - \frac{1}{\tau_{D_2O}} - B \right) \quad Tb^{3+} \left( \begin{array}{l} A=5 \\ B=0,06 \end{array} \right) \text{ et } Eu^{3+} \left( \begin{array}{l} A=1,2 \\ B=0,25 \end{array} \right)$$

## VII. Utilisation des complexes de lanthanides en bioanalyse

### 1. Dosage fluoroimmunologique

#### 1.1 Exemple de Dosage hétérogène

L'un des premiers systèmes de fluoroimmunologie à base de lanthanide commercialisé par PerkinElmer est le système DELFIA (« *dissociation-enhanced ligand fluorescence* ») utilisé lors de dosages hétérogènes (**Figure 21**). Ce système utilise un anticorps couplé avec un complexe d'euprium présentant une luminescence faible. Après fixation de l'anticorps à l'antigène puis un lavage par une solution contenant des ligands  $\beta$ -dicétone, l'ion Eu(III) est décomplexé du premier complexe et forme une micelle luminescente qui va permettre la quantification du biomarqueur.<sup>34</sup>

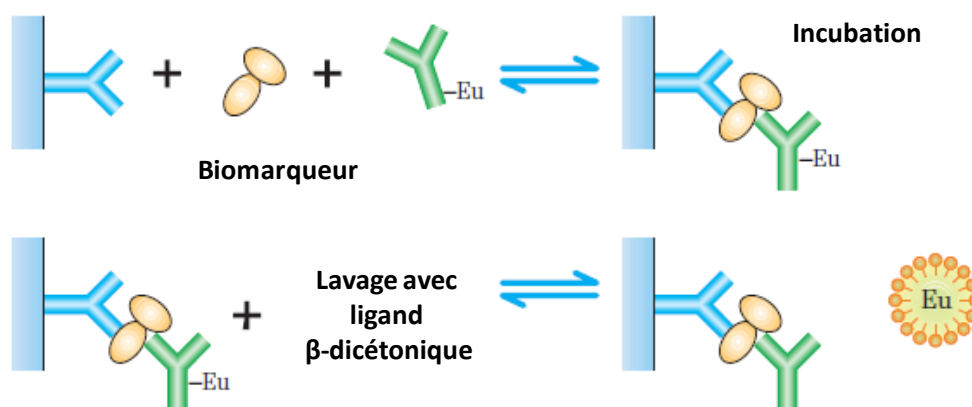


Figure 21. Principe du dosage DELFIA

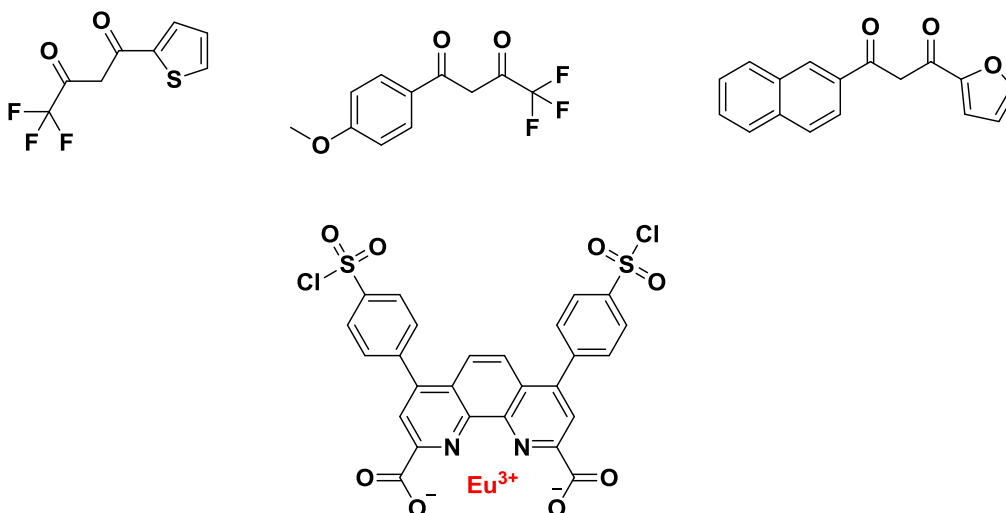


Figure 22.  $\beta$ -dicétone impliquée dans la technologie DELFIA et complexe Eu-BCPDA

Un dosage hétérogène équivalent a été commercialisé par la société CyberFluor mais le second anticorps est directement couplé à un complexe d'euporium luminescent Eu-BCPDA (**Figure 22**) (acide 4,7-bis(chlorosulfonylphényl)-1,10-phénanthroline-2,9-dicarboxylique) développé par le groupe du Dr Evangelista.<sup>35</sup> Ce complexe présente un groupement chlorosulfonyl qui se lie aux amines primaires de l'anticorps.

## 1.2 Exemple de dosage homogène

Le groupe du Dr Mathis a développé la technologie TRACE permettant de quantifier un biomarqueur en phase homogène, fournissant des résultats précis dans un temps de réaction court. Il s'agit d'un système utilisant le FRET avec un anticorps couplé avec un cryptate d'euporium donneur développé suite aux travaux du Pr Jean-Marie Lehn (**Figure 23**).<sup>36,37</sup> L'anticorps accepteur est couplé à une allophycocyanine XL665. La fluorescence qui est proportionnelle à la concentration en antigène est obtenue grâce à une double sélection, spectrale (séparation en fonction de la longueur d'onde) et temporelle (mesure en temps résolu).<sup>38</sup>

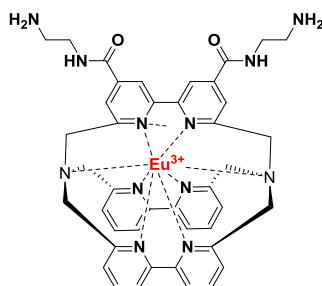
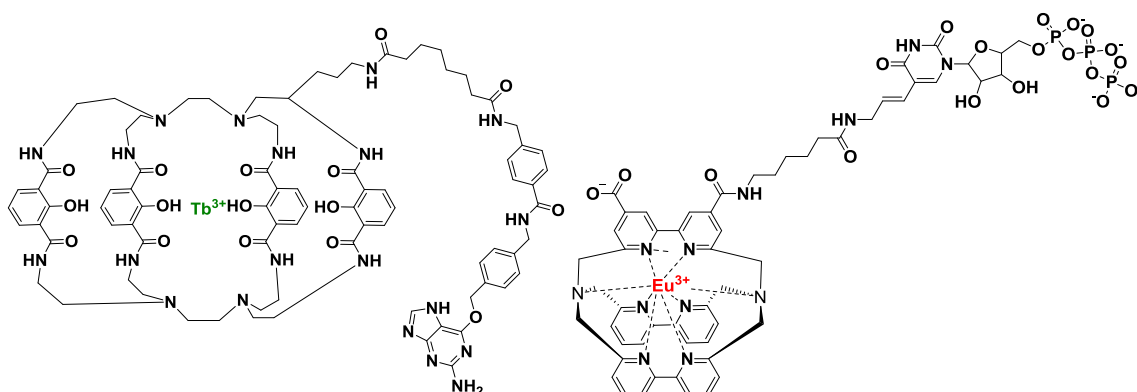


Figure 23. Structure d'un cryptate d'euporium utilisé par la technologie TRACE

## 2. Méthode d'analyse utilisant le FRET

D'autres systèmes à base de complexes de lanthanides utilisent le phénomène du FRET. Saha et *al* ont montré que le complexe d'euporium de bis-terpyridine(méthylamine) tétraacétique (TMT-Eu) est une bonne sonde pour l'étude des interactions biologiques.<sup>39</sup> Amersham Biosciences a développé différents kits avec ce complexe comme fluorophore donneur et la cyanine Cy5 comme accepteur. Ils ont ainsi mis en évidence l'activité tyrosine kinase par le mécanisme de FRET. Pour cela, ils ont couplé TMT-Eu (**Figure 25**) avec un anticorps anti-phosphotyrosine grâce à un groupement isothiocyanate. Cy5 est lié à une streptavidine et le substrat étudié avec de la biotine. Cisbio a également développé une technologie nommée HTRF utilisant le cryptate de terbium luminescent Lumi-4-Tb synthétisé par le groupe du Dr Kenneth Raymond ou le cryptate d'euporium du Pr Jean-Marie Lehn (**Figure 24**).<sup>40,36</sup> HTRF (Homogeneous Time Resolved Fluorescence) est une technologie puissante et très sensible pour la détection d'interactions moléculaires *in vitro*. HTRF combiné à la technologie Tag-lite® permet d'étudier la relation entre un ligand et les récepteurs membranaires GPCR (récepteurs couplés aux protéines G).<sup>41</sup> La technologie HTRF est aussi utilisée afin d'étudier l'hybridation de l'ARN.<sup>42</sup>



**Figure 24.** Structure du Lumi-4 et du cryptate d'euporium utilisé par la technologie HTRF

## 3. Etude d'une activité biologique

Marguerre et *al* ont montré que TMT-Eu lié à un « quencher » (désactivateur de la luminescence) par l'intermédiaire d'un peptide (**Figure 25**) permet d'étudier l'activité de la thermolysine qui est une métalloprotéinase qui coupe les peptides contenant des acides aminés hydrophobes.<sup>43</sup> En présence de thermolysine, la lyse du peptide supprime l'effet d'extinction du « quencher » et induit la luminescence du complexe d'euporium.

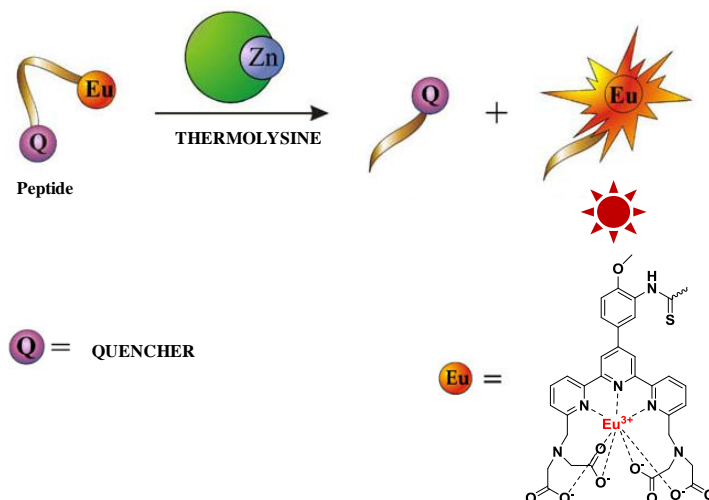


Figure 25. Etude de la thermolysine à l'aide d'un complexe TMT-Eu

Le groupe du Dr Wong a conçu un complexe de platine-europium (PtEuL), qui permet de contrôler l'activité anticancéreuse du *cis*-platine.<sup>44</sup> Le *cis*-platine est libéré par photodissociation induite par une excitation du complexe (Figure 26). Cette photodissociation permet au complexe d'être luminescent et de surveiller en temps réel la libération du *cis*-platine *in vitro*.

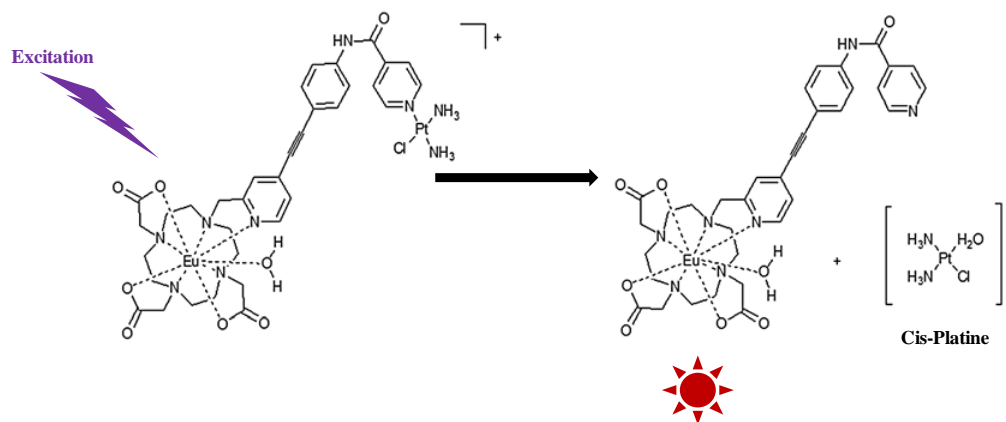
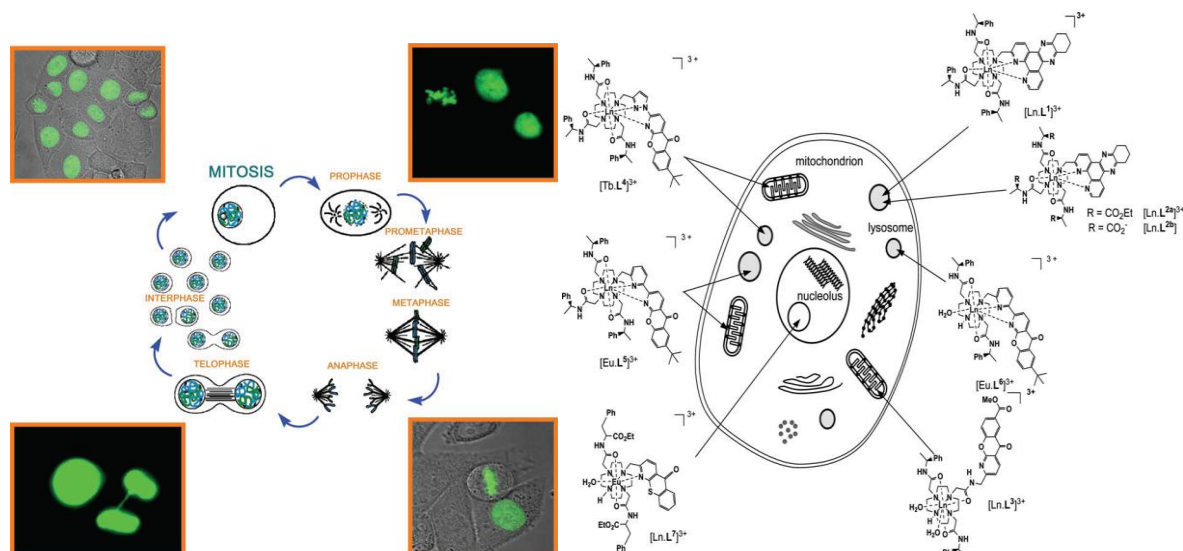


Figure 26. Suivi de l'activité du *cis*-platine.

#### 4. Imagerie cellulaire

La luminescence des lanthanides est souvent utilisée dans le développement d'agent de marquage en imagerie cellulaire afin de mieux observer certaines coupes cellulaires. McMahon et *al* ont développé un complexe d'euporium permettant une observation des microfractures osseuses sur des coupes longitudinal d'os de tibia par complexation sur des motifs hydroxyapatites cristallines.<sup>45</sup> Le phénomène de mitose cellulaire a pu être observé à l'aide du complexe de terbium dérivé d'un cyclène disubstitué par un groupement

azaxanthone (**Figure 27**).<sup>46</sup> Parker et *al* ont étudié des sondes pour l'imagerie cellulaire d'une large gamme de complexes monométalliques (Eu(III) et Tb(III)) à base de dérivés cyclène.<sup>47</sup> Chaque complexe possède un chromophore sensibilisateur (triazatriphénylène, azaxanthine, la xanthone), qui est lié de façon covalente à la structure du cyclène. Le ligand peut être conçu pour imposer la charge globale, influençant la lipophilie et le contrôle de la localisation cellulaire.



**Figure 27.** Suivi de la mitose cellulaire<sup>46</sup> (à gauche) et Localisation cellulaire des différents complexes en fonction du chromophore et de leur charge<sup>47</sup> (à droite)

Le groupe du Dr Parker a aussi développé d'autres sondes cellulaires qui présentent cette fois-ci une brillance très élevée ( $> 50\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). Ces sondes sont des complexes d'euprium dont le ligand basé sur un macrocycle 1,3,5-triazacyclononane (TACN) relié par des chromophore pyridylalkynyle possédant une longueur d'onde maximum d'absorption comprise entre 355 and 365 nm.<sup>48,49,50</sup> La modification des chromophores permet d'apporter une certaine sélectivité sur la localisation des complexes (**Figure 28**). Ces différentes études ont abouti à l'élaboration de sondes fluorescentes de la famille des « EuroTracker », permettant une illumination sélective des mitochondries, lysosomes ou de réticulum endoplasmiques.

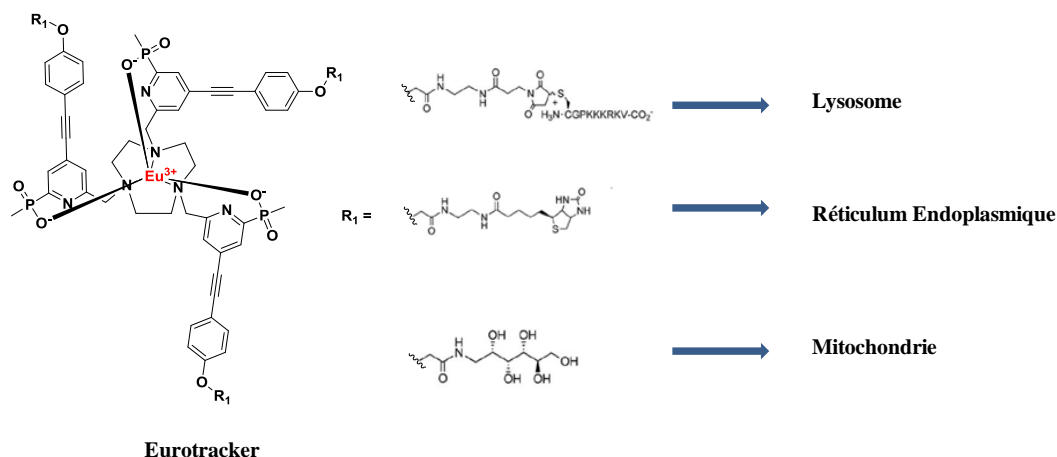


Figure 28. Sonde fluorescente « Eurotracker® »

### 5. Sonde anionique et cationique

La luminescence des lanthanides est très utilisée dans la détection d'ions en milieu biologique car ces ions interviennent dans différents processus biologiques ce qui rend leur quantification importante. Récemment, notre laboratoire a développé une sonde de luminescence d'euprimum qui présente une sélectivité pour les ions fluorures (**Figure 29**).<sup>51</sup> Nous avons démontré que l'addition de fluorure conduit à la formation d'un assemblage supramoléculaire où le fluorure est pris en « sandwich » entre deux complexes d'euprimum. Cette assemblage est stabilisé par des liaisons hydrogène et des interactions «  $\pi$ -stacking ». Il permet de quantifier le fluorure avec une limite de détection de 24 nM. Un test en présence de différents anions a mis en évidence sa sélectivité pour le fluorure.

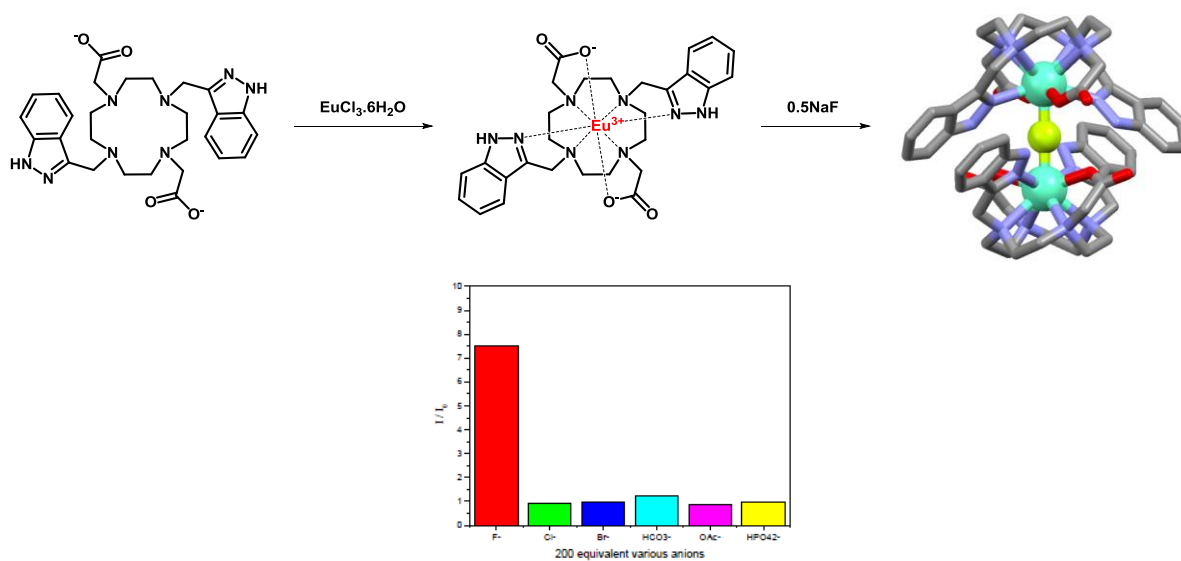
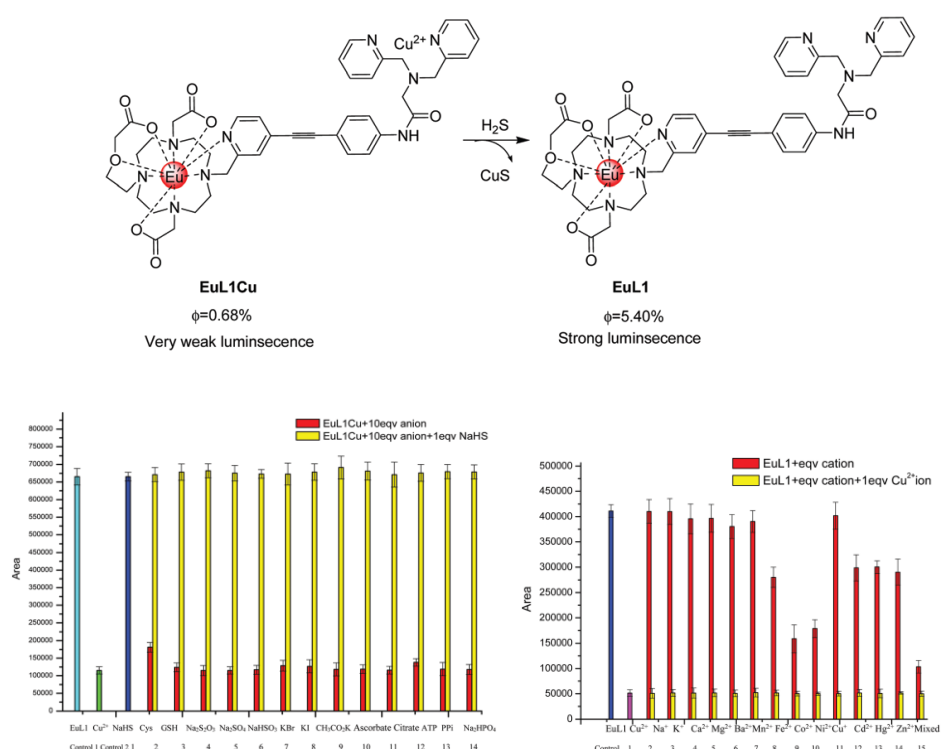


Figure 29. Détection des fluorures par un complexe d'euprimum

Le groupe de Wong ont développé un complexe capable d'être simultanément une sonde pour le cuivre et le sulfure d'hydrogène grâce à un mécanisme on-off de variation de la luminescence du complexe d'euporium (**Figure 30**).<sup>52</sup> En présence de cuivre, le complexe d'euporium présente une luminescence faible du au « quenching » induit par la présence du cuivre avec un rendement quantique de 0,68 %. La présence du sulfure d'hydrogène conduit à la décomplexation du cuivre conduisant à l'augmentation de la luminescence avec rendement quantique de 5,40 %. Le complexe présente une sélectivité très élevée pour le cuivre (II) et le sulfure d'hydrogène en comparant l'intensité de luminescence en présence de différents métaux cationiques et d'autres anions.



**Figure 30.** Détection du  $\text{Cu}^{2+}$  et du  $\text{H}_2\text{S}$  à l'aide d'un complexe d'euporium<sup>52</sup>

Liu et al ont conçu une sonde à base de polymère de Tb, de ciproflaxine et d'adénosine monophosphate pour la détection de mercure (**Figure 31**).<sup>53</sup> La forte luminescence du polymère Tb-CIP / AMP est désactivé en présence de Hg car il présente une interaction élevée pour l'adénosine monophosphate. Cette sonde présente une excellente sélectivité pour le mercure avec une limite de détection de 0.16 nM. La sonde a permis la détection de mercure dans l'eau potable et l'urine humaine.



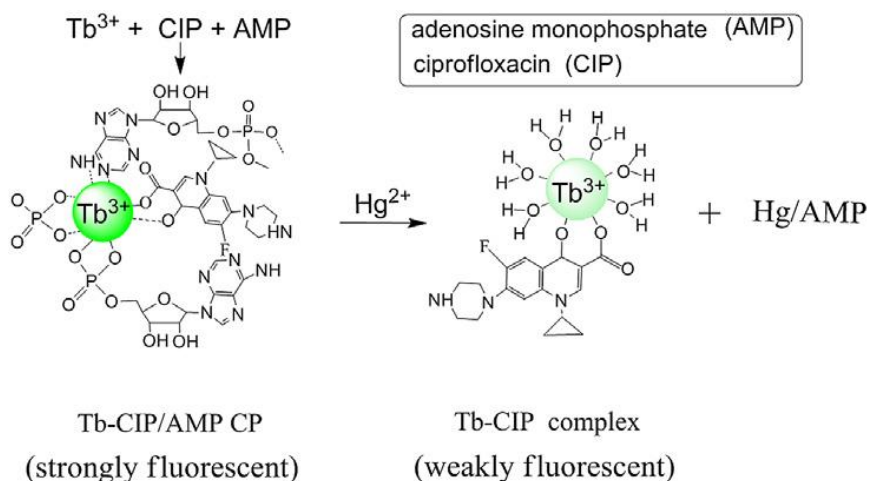


Figure 31. Détection du mercure par un polymère  $Tb-CIP / AMP$ <sup>53</sup>

### VIII. Objectif du travail

L'objectif de cette thèse est de synthétiser de nouveaux complexes luminescents de lanthanides présentant des propriétés photophysiques très attrayantes afin de les utiliser comme sonde biologique fluorescente. Le ligand devra posséder des groupements chromophoriques capables de sensibiliser l'Eu(III) ou Tb(III) avec une efficacité de transfert vers le métal élevée. La longueur d'onde d'absorption doit être la plus élevée possible de même que la brillance du complexe. La brillance est le produit du rendement quantique et du coefficient d'absorption molaire. Nous avons axé notre recherche sur cette propriété car elle détermine le seuil de sensibilité de la sonde fluorescente. Le ligand doit posséder un nombre suffisamment élevé d'atomes coordinants afin d'éviter d'avoir des molécules d'eau dans la première sphère de coordination. Les complexes devront être stables et solubles en milieu aqueux à pH physiologique. La présence d'une fonction chimique activable est nécessaire afin de permettre le marquage de matériel biologique.

Nous avons développé quatre familles de ligands afin d'atteindre cet objectif :

- des ligands dérivés du cyanophénol afin de sensibiliser l'ion Tb(III) par formation d'un complexe mononucléaire. L'étude de cette famille va aussi nous permettre de synthétiser un ligand capable de sensibiliser des nanoparticules de lanthanides.
- des ligands poly-picolinates composé de cinq groupements chromophoriques.
- des ligands benzyle-cyclène qui ont permis l'étude de complexe polynucléaire.
- des ligands dérivés de la pyridine-bispyrazole.

## *CHAPITRE I : INTRODUCTION*

Ce manuscrit est organisé de façon à ce que chaque famille de ligand corresponde à un chapitre. Le dernier chapitre est un résumé de la partie expérimentale des travaux effectués durant cette thèse.

## IX. Bibliographie

- (1) Geißler, D.; Linden, S.; Liermann, K.; Wegner, K. D.; Charbonnière, L. J.; Hildebrandt, N. *Inorg. Chem.* **2014**, *53* (4), 1824–1838.
- (2) Bone, R. C.; Balk, R. A.; Cerra, F. B.; Dellinger, R. P.; Fein, A. M.; Knaus, W. A.; Schein, R. M. H.; Sibbald, W. J. *Chest* **1992**, *101* (6), 1644–1655.
- (3) Martin, C.; Brun-Buisson, C. *Ann. Fr. Anesth. Réanimation* **2007**, *26* (1), 53–73.
- (4) Angus, D. C.; van der Poll, T. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *369* (9), 840–851.
- (5) Wagner, J.; Williams, S.; Webster, C. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2007**, *81* (1), 104–107.
- (6) Ventetuolo, C. E.; Levy, M. M. *Clin. Chest Med.* **2008**, *29* (4), 591–603.
- (7) Sepsis marker PCT <http://www.procalcitonin.com/default.aspx?tree=22> (accessed Apr 8, 2016).
- (8) Christ-Crain, M.; Morgenthaler, N. G.; Struck, J.; Harbarth, S.; Bergmann, A.; Muller, B.; others. *Crit Care* **2005**, *9* (6), R816–R824.
- (9) Struck, J.; Tao, C.; Morgenthaler, N. G.; Bergmann, A. *Peptides* **2004**, *25* (8), 1369–1372.
- (10) Claessens, Y.-É.; Trabattoni, É. In *Les biomarqueurs en médecine d'urgence*; Claessens, Y.-É., Ray, P., Eds.; Références en médecine d'urgence. Collection de la SFMU; Springer Paris, 2012; pp 153–161.
- (11) Smith, D. S.; Hassan, M.; Nargessi, R. D. In *Modern fluorescence spectroscopy*; Springer, 1981; pp 143–191.
- (12) Durand, G.; Beaudeau, J.-L. *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives*; Lavoisier, 2011.
- (13) *Principles of Fluorescence Spectroscopy* / Joseph R. Lakowicz / Springer; 2006.
- (14) Förster, T. *Ann. Phys.* **1948**, *437* (1-2), 55–75.
- (15) Hildebrandt, N. In *FRET – Förster Resonance Energy Transfer*; Medintz, I., Hildebrandt, N., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013; pp 105–163.
- (16) Cotton, S. A. *Lanthanide and actinide chemistry*; Inorganic chemistry; Wiley: Chichester, England ; Hoboken, NJ, 2006.
- (17) Base de données des atomes du tableau périodique (CSV, SQL et XML) <http://sql.sh/2299-atomes-tableau-periodique> (accessed Apr 8, 2016).
- (18) Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85* (22), 3533–3539.
- (19) Bünzli, J.-C. G.; Piguet, C. *Chem. Rev.* **2002**, *102* (6), 1897–1928.

- (20) Viswanathan, S.; Kovacs, Z.; Green, K. N.; Ratnakar, S. J.; Sherry, A. D. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (5), 2960–3018.
- (21) Faulkner, S.; Blackburn, O. A. In *The Chemistry of Molecular Imaging*; Long, N., Wong, W.-T., Eds.; John Wiley & Sons, Inc, 2014; pp 179–197.
- (22) Bottrill, M.; Kwok, L.; Long, N. J. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35* (6), 557–571.
- (23) Bünzli, J.-C. G. *Chem. Rev.* **2010**, *110* (5), 2729–2755.
- (24) Werts, M. H. *Sci. Prog.* **1933-2005**, 101–131.
- (25) Eliseeva, S. V.; Bünzli, J.-C. G. *Chem Soc Rev* **2010**, *39* (1), 189–227.
- (26) Weissman, S. I. *J. Chem. Phys.* **1942**, *10* (4), 214–217.
- (27) J Charbonniere, L. *Curr. Inorg. Chem.* **2011**, *1* (1), 2–16.
- (28) Hänninen, P.; Härmä, H. *Lanthanide Luminescence: Photophysical, Analytical and Biological Aspects*; Springer Science & Business Media, 2011.
- (29) Tobita, S.; Arakawa, M.; Tanaka, I. *J. Phys. Chem.* **1985**, *89* (26), 5649–5654.
- (30) Dexter, D. L. *J. Chem. Phys.* **1953**, *21* (5), 836–850.
- (31) Horrocks, W. D.; Sudnick, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (2), 334–340.
- (32) Bettencourt-Dias, A. d. *Curr. Org. Chem.* **2007**, *11* (16), 1460–1480.
- (33) Beeby, A.; Clarkson, I. M.; Dickins, R. S.; Faulkner, S.; Parker, D.; Royle, L.; Sousa, A. S. de; Williams, J. A. G.; Woods, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, No. 3, 493–504.
- (34) Hemmilä, I.; Dakubu, S.; Mukkala, V.-M.; Siitari, H.; Lövgren, T. *Anal. Biochem.* **1984**, *137* (2), 335–343.
- (35) Evangelista, R.; Pollak, A.; Allore, B.; Templeton, E. F.; C. Morton, R.; Eleftherios P. Diamandis. *Clin Biochem* **1988**, *21*, 173–178.
- (36) Lehn, J.-M.; Mathis, G.; Alpha, B.; Deschenaux, R.; Jolu, E. Rare earth cryptates, processes for their preparation, synthesis intermediates and application as fluorescent tracers. US5457185 A, October 10, 1995.
- (37) Rare earth metal cryptates showing reduced fluorescence quenching.
- (38) Bazin, H.; Preaudat, M.; Trinquet, E.; Mathis, G. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2001**, *57* (11), 2197–2211.
- (39) Saha, A. K.; Kross, K.; Kloszewski, E. D.; Upson, D. A.; Toner, J. L.; Snow, R. A.; Black, C. D. V.; Desai, V. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115* (23), 11032–11033.
- (40) Xu, J.; Corneillie, T. M.; Moore, E. G.; Law, G.-L.; Butlin, N. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (49), 19900–19910.

- (41) Zwier, J. M.; Roux, T.; Cottet, M.; Durroux, T.; Douzon, S.; Bdioui, S.; Gregor, N.; Bourrier, E.; Oueslati, N.; Nicolas, L.; Tinel, N.; Boisseau, C.; Yverneau, P.; Charrier-Savournin, F.; Fink, M.; Trinquet, E. *J. Biomol. Screen.* **2010**, *15* (10), 1248–1259.
- (42) Alpha-Bazin, B.; Bazin, H.; Boissy, L.; Mathis, G. *Anal. Biochem.* **2000**, *286* (1), 17–25.
- (43) Marguerre, A.-K.; Krämer, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (19), 5757–5759.
- (44) Li, H.; Lan, R.; Chan, C.-F.; Jiang, L.; Dai, L.; Kwong, D. W. J.; Lam, M. H.-W.; Wong, K.-L. *Chem Commun* **2015**, *51* (74), 14022–14025.
- (45) McMahan, B.; Mauer, P.; McCoy, C. P.; Lee, T. C.; Gunnlaugsson, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (48), 17542–17543.
- (46) Law, G.-L.; Man, C.; Parker, D.; Walton, J. W. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (14), 2391–2393.
- (47) New, E. J.; Congreve, A.; Parker, D. *Chem. Sci.* **2010**, *1* (1), 111.
- (48) Butler, S. J.; Lamarque, L.; Pal, R.; Parker, D. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (5), 1750–1756.
- (49) Butler, S. J.; Delbianco, M.; Lamarque, L.; McMahan, B. K.; Neil, E. R.; Pal, R.; Parker, D.; Walton, J. W.; Zwier, J. M. *Dalton Trans* **2015**, *44* (11), 4791–4803.
- (50) Walton, J. W.; Bourdolle, A.; Butler, S. J.; Soulie, M.; Delbianco, M.; McMahan, B. K.; Pal, R.; Puschmann, H.; Zwier, J. M.; Lamarque, L.; Maury, O.; Andraud, C.; Parker, D. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (16), 1600–1602.
- (51) Liu, T.; Nonat, A.; Beyler, M.; Regueiro-Figueroa, M.; Nchimi Nono, K.; Jeannin, O.; Camerel, F.; Debaene, F.; Cianféroni-Sanglier, S.; Tripier, R.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. *J. Angew. Chem.* **2014**, *126* (28), 7387–7391.
- (52) Yip, Y.-W.; Law, G.-L.; Wong, W.-T. *Dalton Trans* **2016**, *45* (3), 928–935.
- (53) Liu, B.; Huang, Y.; Zhu, X.; Hao, Y.; Ding, Y.; Wei, W.; Wang, Q.; Qu, P.; Xu, M. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *912*, 139–145.









**CHAPITRE II :**  
**LIGANDS DERIVES DU**  
**CYANOPHENOL**



## I. Synthèse des ligands

Nous nous sommes intéressés à la synthèse d'un premier ligand composé de quatre chromophores identiques, relié à un cyclène et dérivés de l'acide 5-cyano-2-hydroxybenzoïque (**L<sub>1</sub>**). Les dérivés anionique du cyclène (1,4,7,10-tétraazacyclododécane) présentent une excellente affinité pour les ions cationiques notamment les ions lanthanidiques<sup>1</sup>. Les quatre amines secondaires permettent de moduler cette plate-forme complexante par N-fonctionnalisation. L'alkylation de quatre chromophores comme l'acide 5-cyano-2-hydroxybenzoïque permettrait d'obtenir un complexe stable et soluble en milieu aqueux, grâce à la polarité et au pouvoir complexant des fonctions carboxylates et phénolates. Les fonctions chromophoriques permettraient d'avoir un coefficient d'absorption molaire élevé donc une brillance élevée si le rendement quantique est suffisant. L'acide 5-cyano-2-hydroxybenzoïque est un dérivé de l'acide salicylique et un chélateur de métal *in vivo* (sidérophores).<sup>2</sup> Les fonctions carbonyles et le pKa phénolique de 6,22 permettent d'utiliser ce composé pour la synthèse de ligand macrocyclique. Le groupe de Kenneth Raymond a considérablement travaillé sur ce type de composé.<sup>3,4</sup> Ces travaux ont permis la synthèse d'un cryptate de Terbium commercialisé par Lumiphore: Le Lumi4-Tb<sup>®</sup> (**Chapitre 1 : Figure 25**). Il s'agit d'un bismacrocycle octadentate complexant l'ion Tb (III). Ce complexe présente d'excellentes caractéristiques photophysiques comme la longueur d'onde d'excitation (340 nm), son temps de vie de luminescence (2,60ms) et son rendement quantique (>50%).<sup>5</sup>

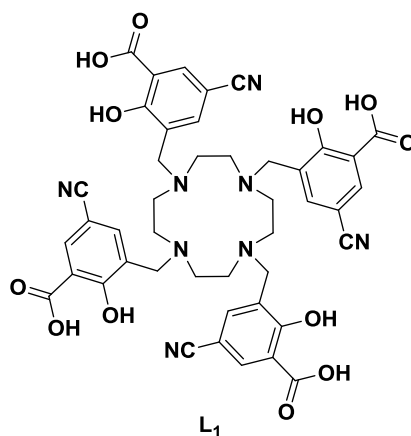
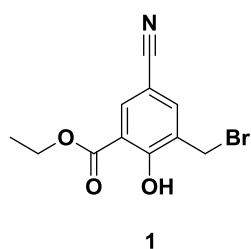


Figure 1. Structure du ligand L<sub>1</sub>

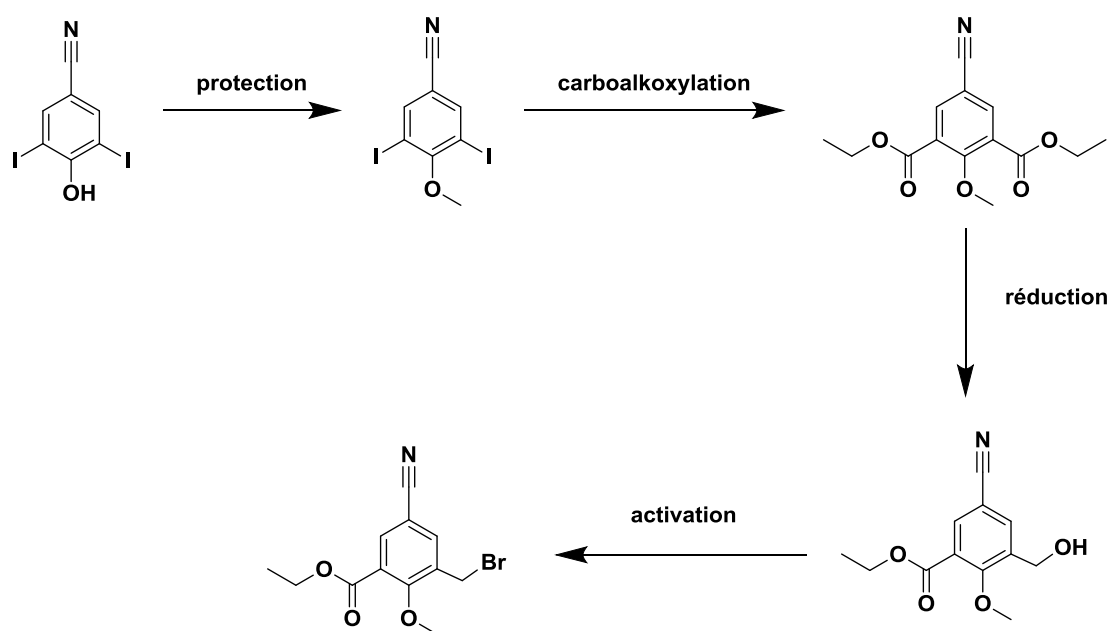
### 1. Synthèse de l'éthyle 3-(bromométhyl)-5-cyano-2-hydroxybenzoate

L'objectif premier était la synthèse du chromophore éthyle 3-(bromométhyl)-5-cyano-2-hydroxybenzoate (**1**), composé d'un groupement nucléofuge pour le relier au cyclène par N-fonctionnalisation et de deux groupements électroattracteurs (**Figure 2**), lesquels ont pour fonction de baisser le pKa phénolique et de déplacer le maximum d'absorption vers des longueurs d'ondes supérieur à 300 nm dans le but de photosensibiliser de façon optimale le cation Tb (III).



*Figure 2. Structure de l'acide 3-(bromométhyl)-5-cyano-2-hydroxybenzoïque*

#### 1.1. Voie de Synthèse A



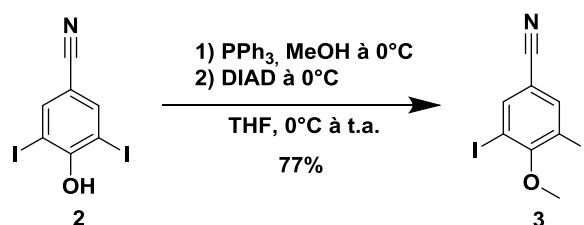
*Figure 3. Voie de synthèse A*

La synthèse du précurseur **1** nécessite plusieurs étapes. Dans cette première voie, nous voulons réaliser une carboalkoxylation afin d'insérer des esters carboxyliques. L'hydrolyse d'une de ces fonctions donnera un carboxylate qui sera impliqué dans la coordination avec

l'ion terbium. La réduction du second ester en alcool permettra d'insérer le groupement nucléofuge par substitution nucléophile.

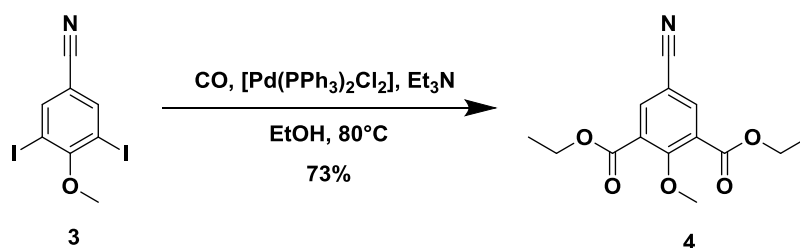
### 1.1.1. Carboalkoxylation

La synthèse des fonctions carbonyles nécessite une protection de la fonction phénol (**Figure 4**) du composé commercial **2** afin qu'elle n'interfère pas lors de cette réaction. Cette synthèse a été réalisée par Nguyen et *al* en utilisant la méthode de Mitsunobu.<sup>6</sup> Il s'agit d'une réaction de substitution nucléophile sur un alcool à l'aide du diisopropyl azodicarboxylate (DIAD) et de la triphénylphosphine (PPh<sub>3</sub>). La synthèse de Mitsunobu sur le composé **2** donne le synthon **3**.



**Figure 4.** Schéma de synthèse du composé **3** par une réaction de Mitsunobu

La réaction de carboalkoxylation (**Figure 5**) est appliquée sur le composé **3**. Cette réaction est catalysée par le palladium(II) dichloro-bis(triphénylphosphine) [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]. Elle requiert un flux de monoxyde de carbone dans un mélange éthanol-triéthylamine distillé. Nous obtenons avec un bon rendement le diéthyl 5-cyano-2-méthoxyisophtalate (**4**).



**Figure 5.** Schéma de synthèse du composé **4**

1.1.2. Réduction du diethyl 5-cyano-2-méthoxyisophthalate

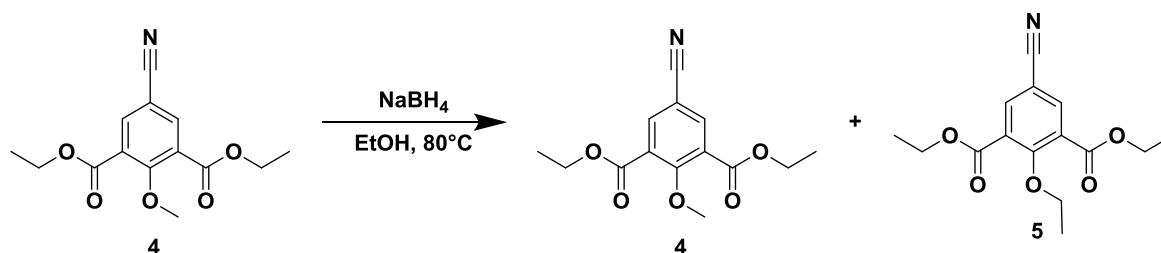


Figure 6. Tentative de réduction du composé 4

Cette étape consiste à réduire l'un des esters éthyliques afin d'obtenir une fonction alcool dans le but d'insérer un groupement nucléofuge. La réduction (**Figure 6**) a été tentée en présence de borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) dans l'éthanol mais cette étape n'a pas fonctionné. Durant cette synthèse, on remarque l'instabilité du méthoxyle par l'apparition de produit secondaire. Le spectre RMN (**Figure 7**) d'une fraction isolée lors de cette réaction montre l'apparition d'un produit secondaire similaire au produit de départ mais dont le groupement méthoxyle a été substitué par un groupement éthoxyle durant la réaction. On peut expliquer cette instabilité par la présence de trois groupements électroattracteurs (2 esters carboxyliques et un nitrile) sur le composé **4** qui fragilise la liaison oxygène-carbone.

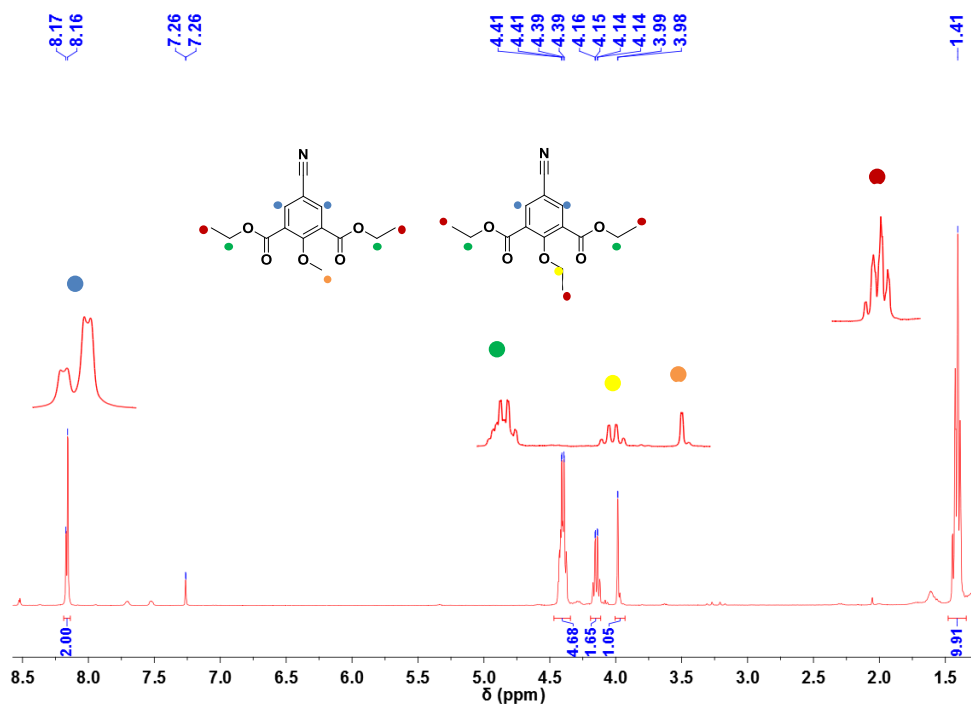


Figure 7. Spectre RMN du mélange des composés 4 et 5 (25°C, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

Afin de contourner ce problème, la carboalkoxylation direct (**Figure 8**) sur le synthon **2** a généré le diéthyl 5-cyano-2-hydroxyisophthalate (**5**) avec un rendement quasi quantitatif. Les tentatives de réduction n'ont pas donné de résultats positifs. Nous observons des problèmes de solubilité lors de l'addition du borohydrure de sodium.

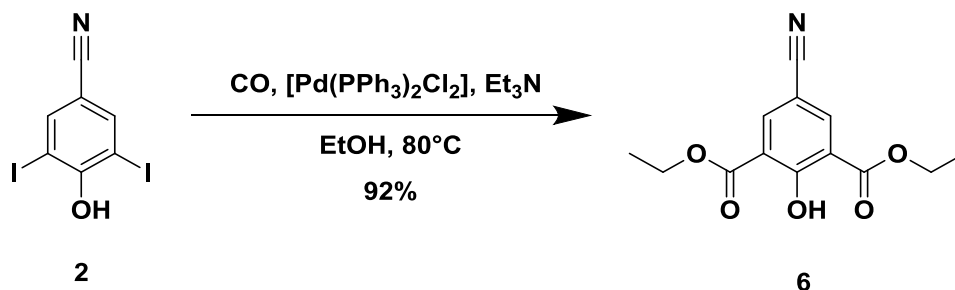


Figure 8. Schéma de synthèse du composé **6**

## 1.2. Voie de Synthèse B

Une seconde voie de synthèse (**Figure 9**) a été envisagée à partir du 4-cyanophénol. Dans cette voie, nous avons voulu insérer deux fonctions méthyl-alcool par hydroxyméthylation. L'une des deux fonctions serait oxydée en acide carboxylique et la seconde activée par un groupement labile.

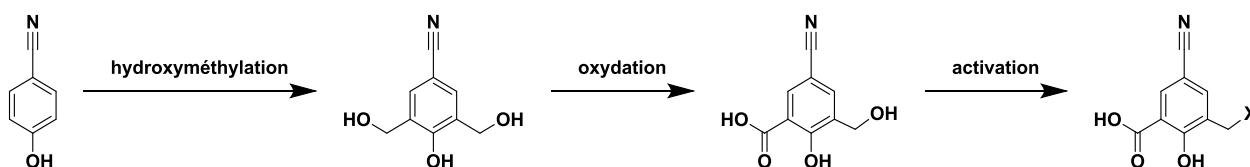


Figure 9. Voie de synthèse B

### 1.2.1. Hydroxyméthylation

En s'inspirant des travaux de Daumann<sup>7</sup> sur la réaction d'hydroxyméthylation (**Figure 10**) sur un éthyl 4-hydroxybenzoate, le 4-cyanophénol (**7**) en présence de formaldéhyde et de solution aqueuse de soude (NaOH) conduit à la synthèse des composés **8** et **9** par substitution électrophile aromatique en milieu basique. L'équilibre tautomérique durant cette réaction favorise la forme phénolate qui est la plus stable en raison de son caractère aromatique. Ce qui explique le faible rendement synthétique.<sup>8</sup>

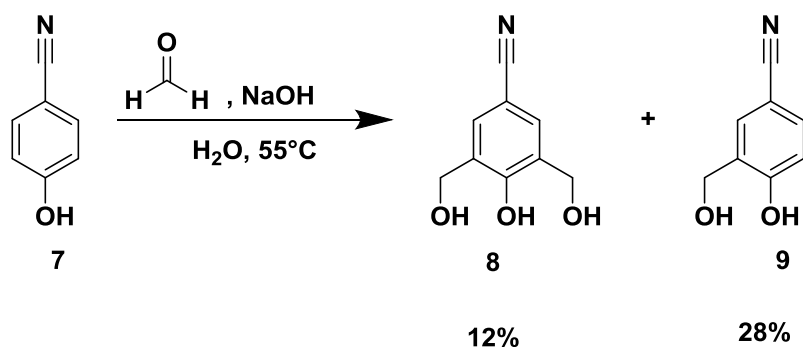


Figure 10. Schéma de synthèse des précurseurs 8 et 9

### 1.2.2. Oxydation

An et al ont développé une méthode d'oxydation douce à l'air ambiant en présence de Pd/C, NaBH<sub>4</sub> et de base (KOH ou de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) dans du méthanol ou de l'éthanol.<sup>9</sup> Elle permet d'oxyder une fonction alcool en son homologue carbonyle ou carboxyle (Figure 11). La recyclabilité du catalyseur rend le processus sûr et peu cher.

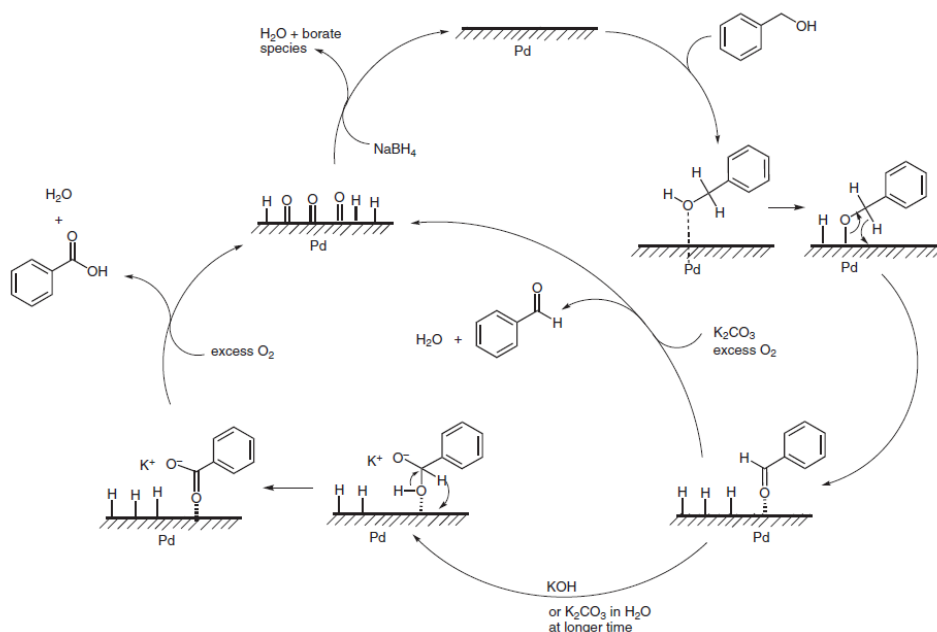


Figure 11. Mécanisme de l'oxydation développé par An<sup>9</sup>

Nous avons réalisé cette oxydation sur le composé 8. Le produit majoritaire isolé lors de cette réaction est le composé 10 qui est un produit d'oxydation partiel. Le spectre RMN (Figure 13) de ce composé nous indique la présence de légère impureté mais nous pouvons apercevoir distinctement le proton de l'aldéhyde à 9,98 ppm.



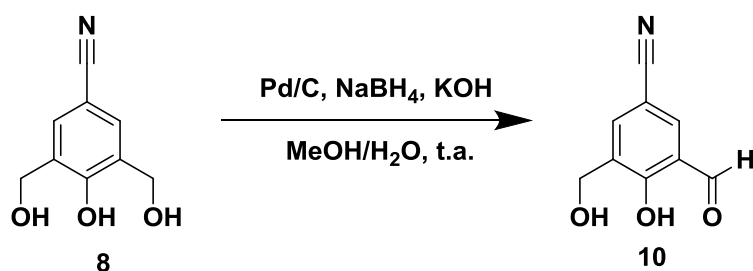


Figure 12. Schéma de synthèse du composé 10

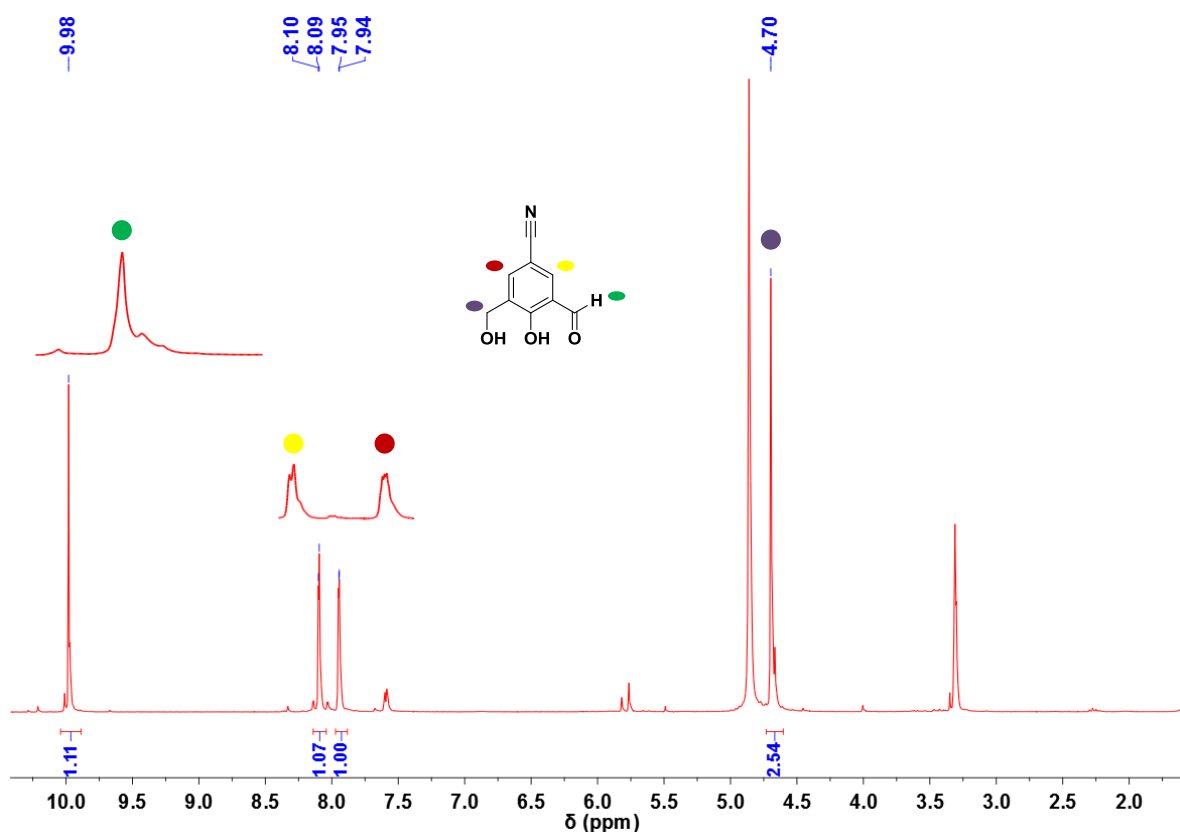


Figure 13. Spectre RMN du composé 10 (25°C, 300 MHz, MeOD)

### 1.3. Discussion

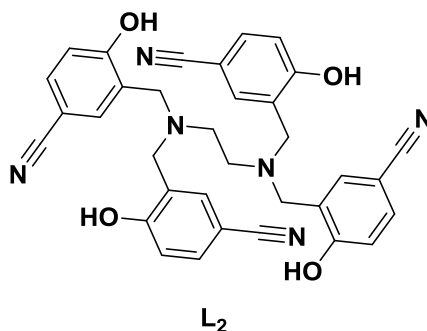
La synthèse du chromophore éthyle 3-(bromométhyl)-5-cyano-2-hydroxybenzoate n'a pas été une réussite. Les tentatives de réduction sur les synthons **4** et **6** n'ont pas fonctionnées. Le groupement méthoxyle du composé **4** manque de stabilité. Le composé **6** est insoluble dans les conditions synthétiques de réduction. La voie de l'oxydation est difficile à contrôler.

Nous avons décidé de nous concentrer sur la synthèse du ligand **L<sub>2</sub>** dérivés du cyanophénol avec une voie synthétique plus abordable. Le ligand **L<sub>2</sub>** est composé de quatre groupements cyanophénoliques, synthétisé pour développer un complexe de terbium. Le ligand **L<sub>3</sub>**, l'acide

cyano-hydroxyisophthalique a pour objectif de photosensibiliser des nanoparticules de lanthanides.

## 2. Synthèse du Ligand L<sub>2</sub>

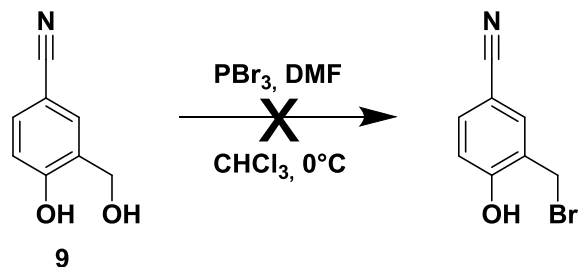
Nous nous sommes intéressés à la synthèse d'un second ligand L<sub>2</sub> composé de quatre groupements cyanophénoliques reliés par l'intermédiaire de l'éthylène diamine. Sa synthèse nécessite au préalable l'activation du composé **9**.



### 2.1. Activation du précurseur cyanophénolique

#### 2.1.1. Activation par bromation

Le ligand L<sub>2</sub> est synthétisé à partir du composé **9**. Nous avons voulu l'activer à l'aide d'un groupement bromure (**Figure 9**) qui est un excellent nucléofuge. L'essai a été réalisé en présence de tribromure de phosphore et catalysé par la DMF. Nous n'avons pas réussi à isoler le composé souhaité.



*Figure 14. Schéma de l'activation par bromation*

## 2.1.2. Activation par tosylation

Nous nous sommes inspirés des travaux de Lee et *al* pour protéger et activer simultanément, les fonctions phénol et alcool.<sup>10</sup> La réaction de tosylation (**Figure 15**) sur le composé **9** en présence de chlorure de tosyly et de soude dans le THF donne le composé **11**.

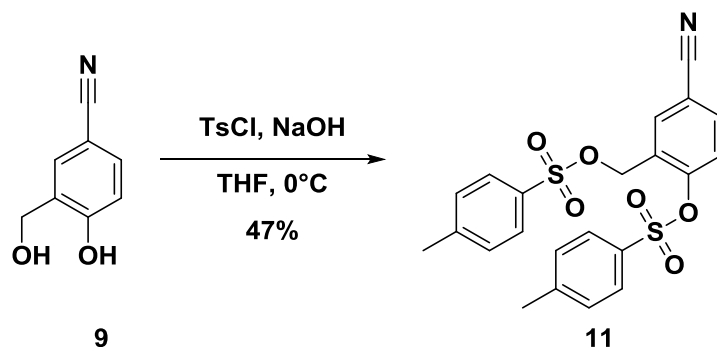


Figure 15. Schéma de l'activation par tosylation

2.2. Synthèse de L<sub>2</sub> : un ligand tétrachromophorique

Le précurseur **11** est alkylé sur l'éthylène diamine en présence de carbonate de potassium et du catalyseur KI dans l'acétonitrile (**Figure 16**). Le ligand L<sub>2</sub> est obtenu par hydrolyse basique du synthon **12**. Le faible rendement synthétique de 24 % s'explique par la difficulté de purifier ce composé notamment à cause de son manque de solubilité dans le méthanol.

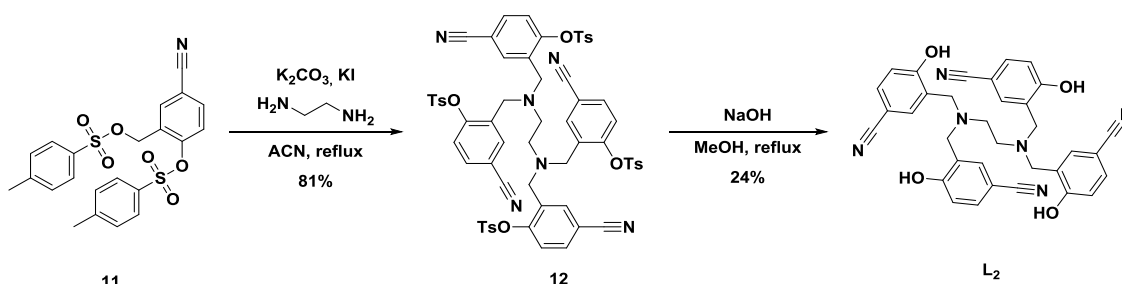


Figure 16. Schéma de synthèse du du ligand L<sub>2</sub>

### 3. Etude spectroscopique du ligand L<sub>2</sub>

#### 3.1. Titrage en absorption électronique du ligand L<sub>2</sub> par une solution de Tb<sup>3+</sup>

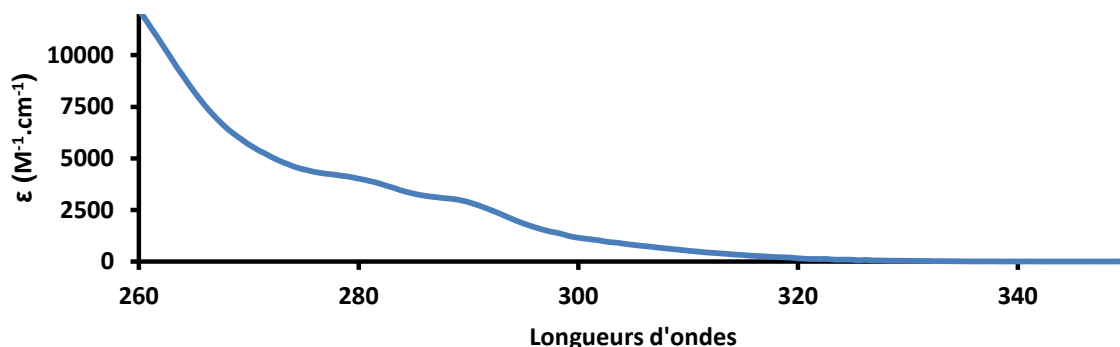


Figure 17. Spectre d'absorption du ligand L<sub>2</sub> (DMSO-H<sub>2</sub>O (7/3) / Tris-HCl, pH=7,4)

Le spectre d'absorption du ligand (**Figure 17**) présente deux bandes d'absorption d'intensités faibles, à 280 et 290 nm correspondant à la combinaison des transitions électroniques  $n \rightarrow \pi^*$  et  $\pi \rightarrow \pi^*$  du 4-cyanophénol. Les propriétés spectroscopiques de L<sub>2</sub> en présence de terbium ont été étudiées. Le titrage par Tb(III) en absorption UV-visible montre un effet hyperchrome à 280 nm induit par la complexation du terbium pour atteindre une valeur maximale à 0,5 équivalent de métal (**Figure 18,19**).

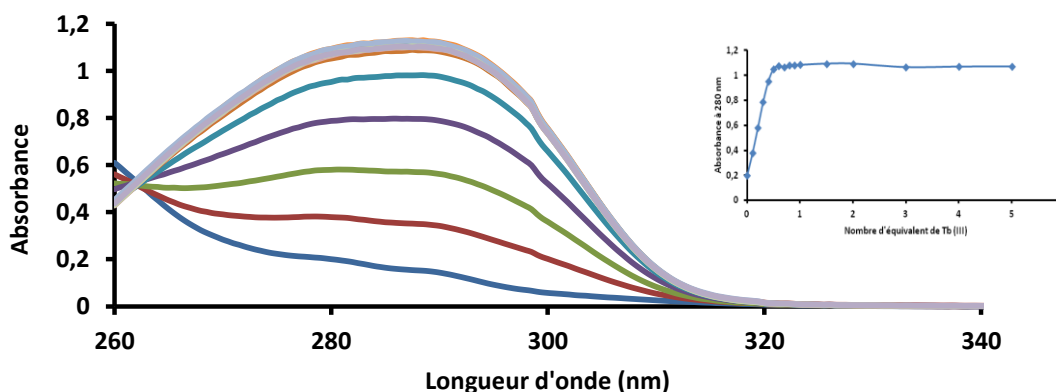


Figure 18. Spectre d'absorption du titrage de L<sub>2</sub> par Tb(III) (DMSO-H<sub>2</sub>O / Tris-HCl, pH=7,4)/  
Absorbance à 280nm en fonction du nombre d'équivalent de Tb(III)

#### 3.2. Titrage par émission de luminescence du ligand L<sub>2</sub> par une solution de Tb<sup>3+</sup>

L'émission de fluorescence (**Figure 19**) fait apparaître les bandes d'émission du cation Tb(III) pour une excitation à 280 nm. Ces bandes ont été attribuées aux transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$  du Tb(III) à 488 nm (J=6), 545 nm (J=5), 576-598 (J=4) et 610-630 nm (J =3) avec un

maximum d'émission à 549 nm. Le titrage en émission par Tb(III) indique qu'il y a une augmentation de celle-ci pour aussi atteindre une valeur maximale à 0,5 équivalent. On observe une chute de l'intensité à 0,6 équivalent attribuée à l'effet de cinétique de complexation.

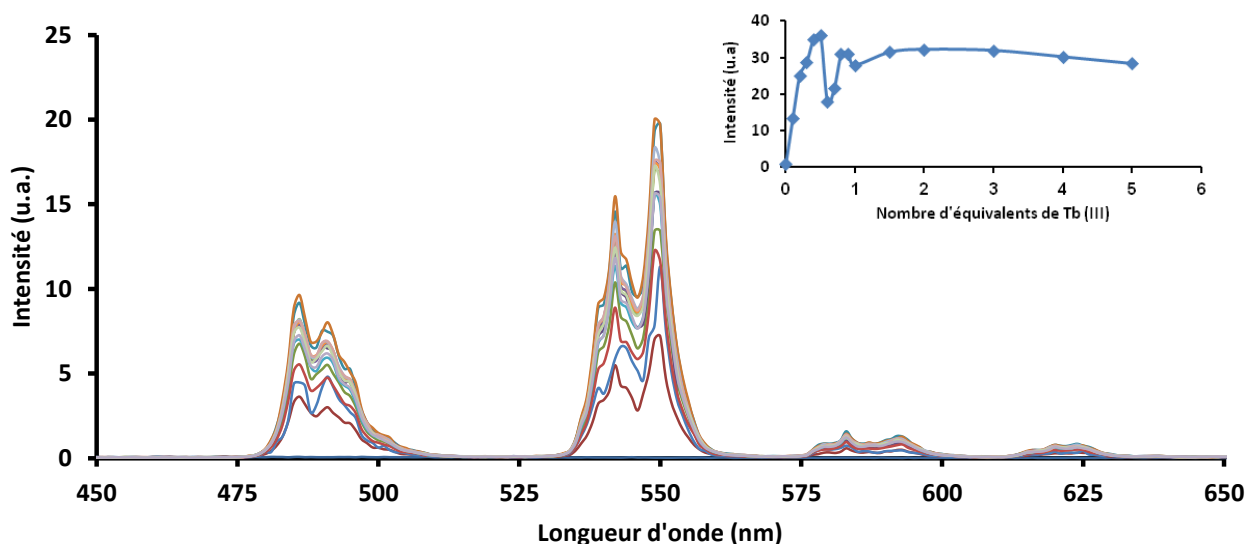


Figure 19. Spectre d'émission du titrage de  $L_2$  par Tb(III) ( $\lambda_{exc}=280nm$ , DMSO- $H_2O$ /Tris-HCl,  $pH=7.35$ )/  
Intégrale d'émission en fonction du nombre d'équivalent de Tb(III)

### 3.3. Discussion

Le titrage par spectroscopie d'émission et d'absorption permet de déduire la formation préférentielle d'un complexe  $[Tb(L_2)_2]$ . Celui-ci présente en solution un rendement quantique de 6% obtenu par la méthode Haas et Stein<sup>11</sup> et un temps de vie de luminescence de 0,76 ms (Tableau 1). Les données spectroscopiques nous montrent que  $L_2$  n'est pas un ligand adéquat pour la complexation du terbium. Il présente des problèmes de solubilité dans l'eau et les atomes coordinants ne suffisent pas à la complexation d'un seul ion terbium.

	$\tau_{H_2O}$ (ms)	$\Phi_{DMSO}$	Epsilon $\lambda_{max} = 280 \text{ nm}$
$[Tb(L_2)_2]$	<b>0,760</b>	<b>0,06</b>	<b>32700</b>

Tableau 1. Propriétés photophysiques de  $[Tb(L_2)_2]$

## II. Synthèse de nanoparticules ultrabrillantes

Les nanoparticules sont des objets moléculaires ayant des tailles comprises entre 1 et 100 nm dans au moins une des trois dimensions. Ils ont un grand rapport surface-volume et une grande proportion d'atomes à la surface. Les progrès récents en matière de nanotechnologie ont permis de les intégrer en chimie analytique afin de concevoir des sondes biologiques fluorescentes. Les nanoparticules à base de lanthanides présentent des avantages tels que leur photostabilité élevée, leur résistance au photoblanchiment et leur large déplacement de Stokes. Elles permettent une nouvelle alternative aux fluorophores organiques. Elles ont la capacité d'être recouvertes par des fluorophores organiques. En comparaison avec le fluorophore seul, les nanoparticules recouvertes peuvent amplifier le signal de luminescence donc améliorer la sensibilité de l'analyse<sup>12</sup>.

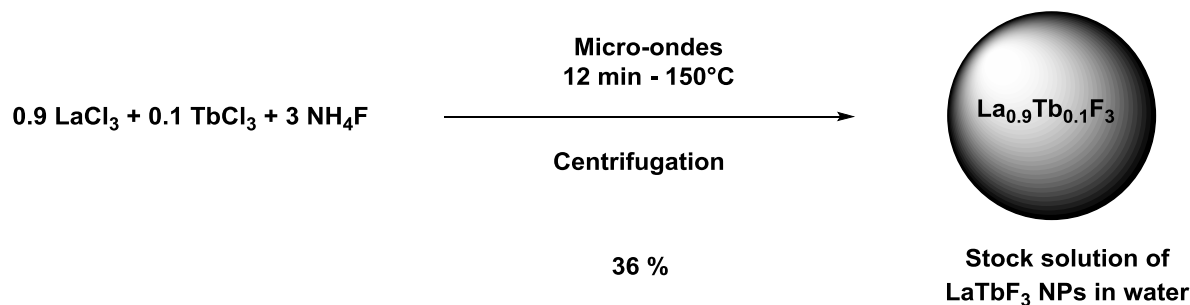
Nous avons développé un ligand capable de se coordiner à la surface des nanoparticules à base de lanthane, terbium et fluor ( $\text{La}_{0,9}\text{Tb}_{0,1}\text{F}_3$ ). La photosensibilisation, par transfert d'énergie, du terbium qui compose ces nanoparticules (NPs) permet d'augmenter leur brillance de manière considérable. Ces travaux ont été réalisés avec la collaboration de Joan Goetz, chercheur-doctorant au sein de notre laboratoire et du Dr Ka-Leung Wong de l'Université de Hong Kong.

### 1. Synthèse des nanoparticules de lanthanides et du ligand $\text{L}_3$

#### 1.1. Synthèse des nanoparticules de lanthanides

##### 1.1.1. Synthèse et caractérisation des nanoparticules

Les nanoparticules sont synthétisées par Joan Goetz (**Figure 20**) en suivant une méthodologie adaptée de travaux de la littérature.<sup>13</sup> Une solution aqueuse de chlorure de lanthane, de chlorure de terbium et de fluorure d'ammonium a été chauffée aux micro-ondes pendant 12 minutes à 150°C. Après centrifugation, les nanoparticules  $\text{La}_{0,9}\text{Tb}_{0,1}\text{F}_3$  (NPs) ont été caractérisées par microscopie électronique en transmission, par diffraction des rayons X et par analyse élémentaire. Ces études nous informent que leur taille moyenne est de 21 nm et qu'elles sont constituées de 11,7% de Tb que nous voulons sensibiliser avec notre ligand.



**Figure 20.** Schéma de synthèse des nanoparticules de lanthanides

### 1.1.2. Détermination de la concentration des nanoparticules

La concentration des nanoparticules en solution aqueuse est déterminée en se basant sur deux hypothèses. La première est de considérer les nanoparticules comme sphériques ce qui nous permet de déterminer leur volume. La deuxième hypothèse est de considérer que la densité moyenne des nanoparticules de  $\text{La}_x\text{Tb}_y\text{F}_3$  est égale à la moyenne des densités de  $\text{LaF}_3$  et  $\text{TbF}_3$  en fonction de leurs ratios molaires X et Y. Ces ratios sont déterminés par spectrométrie d'émission atomique par plasma (ICP-AES) ce qui permet de déterminer le poids moléculaire des nanoparticules (**Équation 1**).

$$M = V \times d \times N_a \quad \text{Equation 1}$$

M= poids moléculaire d'une nanoparticule

d= densité moyenne d'une nanoparticule

$N_a$ = nombre d'Avogadro

A partir du poids moléculaire d'une nanoparticule et la masse molaire d'un motif  $\text{La}_{0,9}\text{Tb}_{0,1}\text{F}_3$ , qui est de 193,8, on peut déduire le nombre de motif ( $N_{\text{motifs}}$ ) pour une nanoparticule qui permet de calculer la concentration en nanoparticules.

$$[\text{NP}] = \frac{[\text{La}]}{0.9 \times N_{\text{motifs}}} \quad \text{Equation 2}$$

## 1.2. Synthèse du ligand L<sub>3</sub>

Nous avons synthétisé le ligand L<sub>3</sub> par une simple hydrolyse basique (**Figure 21**) du composé **6** en présence de KOH dans un mélange méthanol-eau.

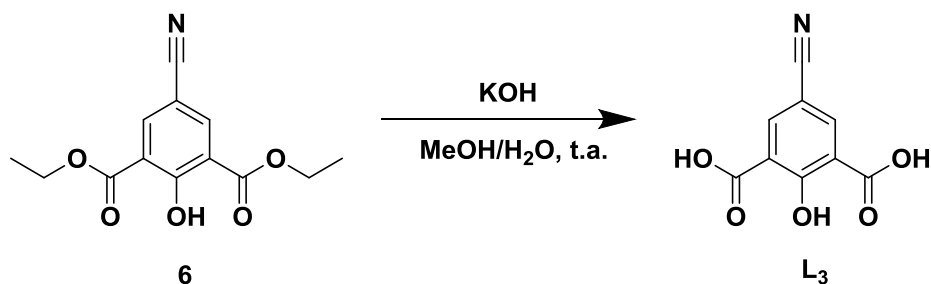


Figure 21. Schéma de synthèse du composé du ligand  $L_3$

Les travaux du laboratoire (**Figure 22**) sur les nanoparticules en présence d'acide picolique indiquent qu'un pouvoir de chélation trop élevé peut conduire à une extraction des ions  $Ln^{3+}$  composant la NP. Les deux acides carboxyliques et en particulier la fonction phénol de cette acide hydroxyphtalique permettront, à pH neutre, une interaction électrostatique plus efficace donc un meilleur ancrage sur la surface en évitant la dégradation des NPs.

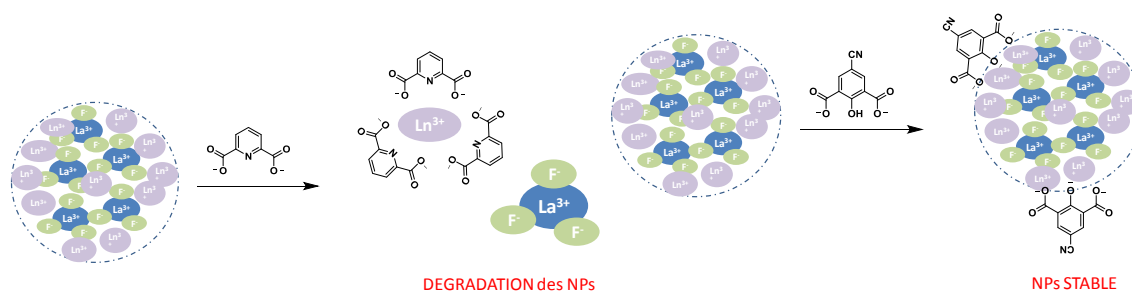


Figure 22. Schéma de la chélation d'un ligand picolinate et hydroxyphtalique sur la surface des NPs

## 2. Etudes spectroscopiques des NPs en présence de $L_3$

### 2.1. Titrage pH métrique du ligand $L_3$

Le ligand  $L_3$  se coordine à la surface des NPs par interaction électrostatique donc celle-ci est fortement influencée par le pKa du phénol. Le titrage ph-métrique (**Figure 23**) suivit par absorption électronique montre un effet hyperchrome pour les transitions  $\pi \rightarrow \pi^*$  à 259 nm et à 309 nm qui se stabilise à partir de pH=6,5. Cet effet résulte de la formation du phénolate. Le logiciel de modélisation SPECFIT (**Figure 24**) permet de déduire 3 constantes d'acidité (pKa) : 1,89 ; 5,08 et 6,85. Les deux pKa acides sont associés aux acides carboxyliques et le



pKa neutre au phénol. Le diagramme de distribution pour le ligand  $L_3$  indique la présence à des proportions égales de l'espèce phénolate et du phénol à pH neutre.

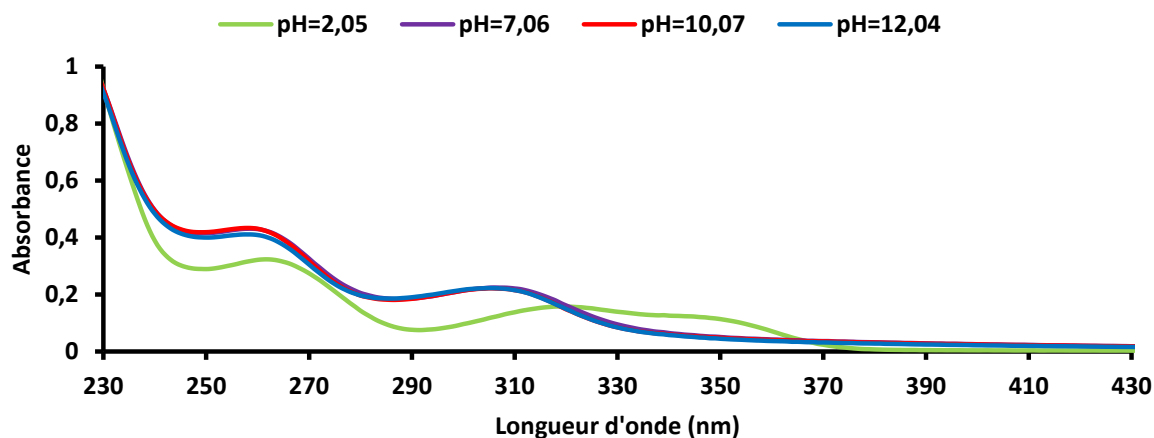


Figure 23. Titration pH métrique du ligand  $L_3$

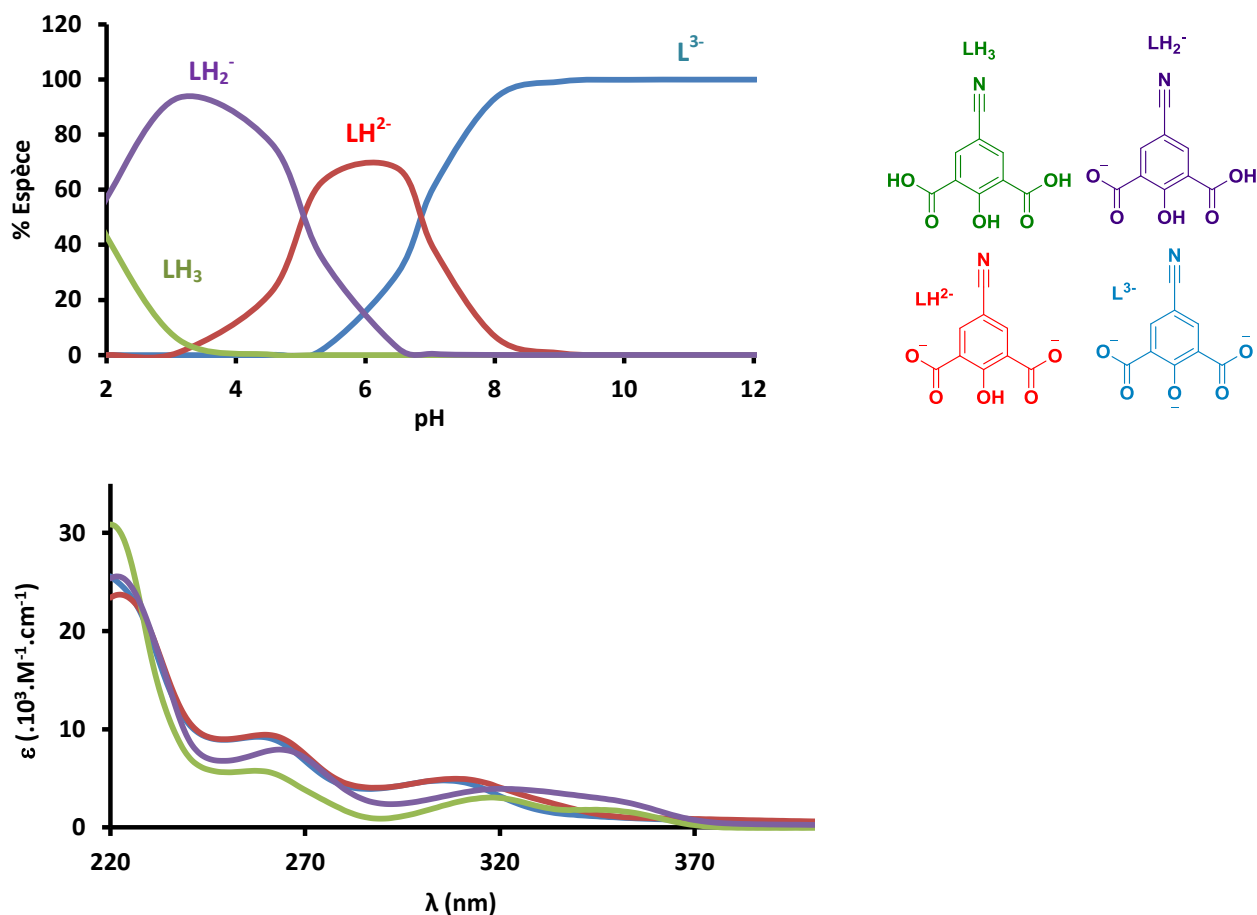


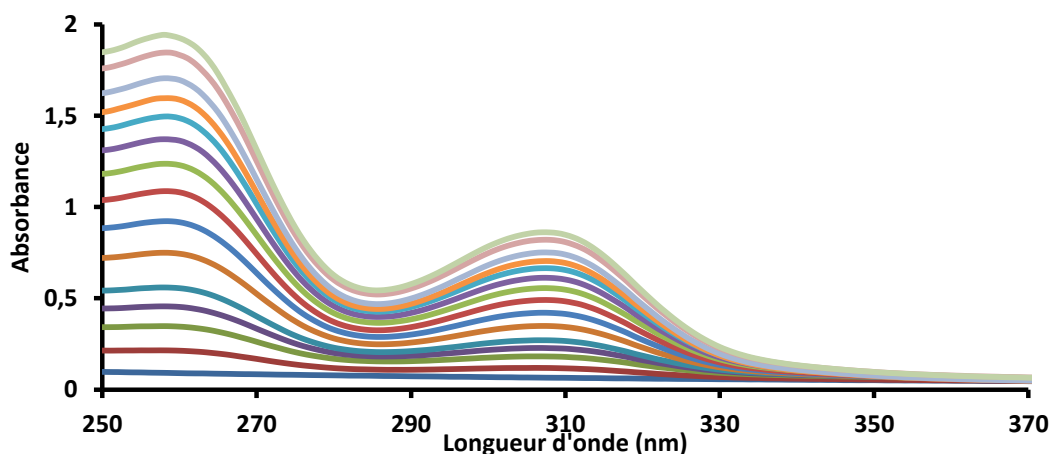
Figure 24. Diagramme de distribution des espèces en fonction du pH et spectres d'absorptions calculés pour les différentes espèces du ligand  $L_3$  (SPECFIT)

## 2.2. Titrage des NPs par une solution du ligand L<sub>3</sub>

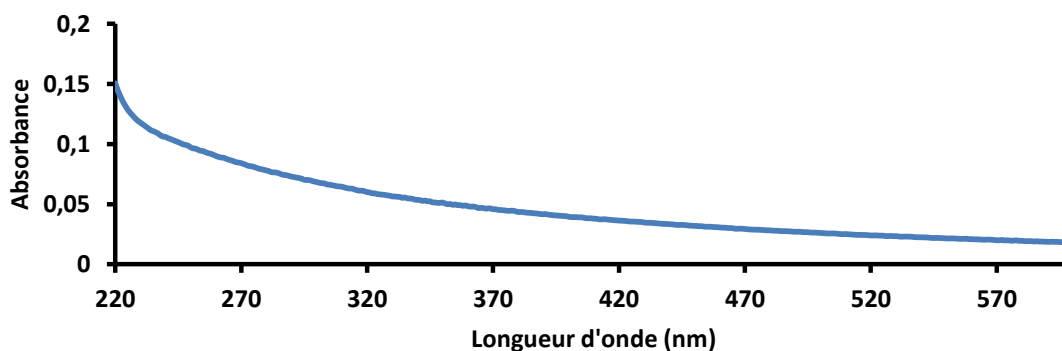
Afin de comprendre le comportement des NPs en présence de L<sub>3</sub>, des titrages en absorption électronique et en émission de fluorescence ont été réalisés. Ces études ont pour objectif de confirmer que le ligand L<sub>3</sub> est capable de se coordonner efficacement à la surface des NPs et qu'il est un bon photosensibilisateur du Tb(III).

### 2.2.1. Titrage en absorption électronique

Le titrage par spectroscopie UV/visible des NPs (**Figure 25**) par addition d'une solution de L<sub>3</sub> montre une augmentation progressive des bandes d'absorptions attribuées au ligand. On note la déviation de la ligne de base sur le spectre d'absorption des NPs seules (**Figure 26**). On l'explique par le phénomène de diffusion qu'elles induisent en solution.



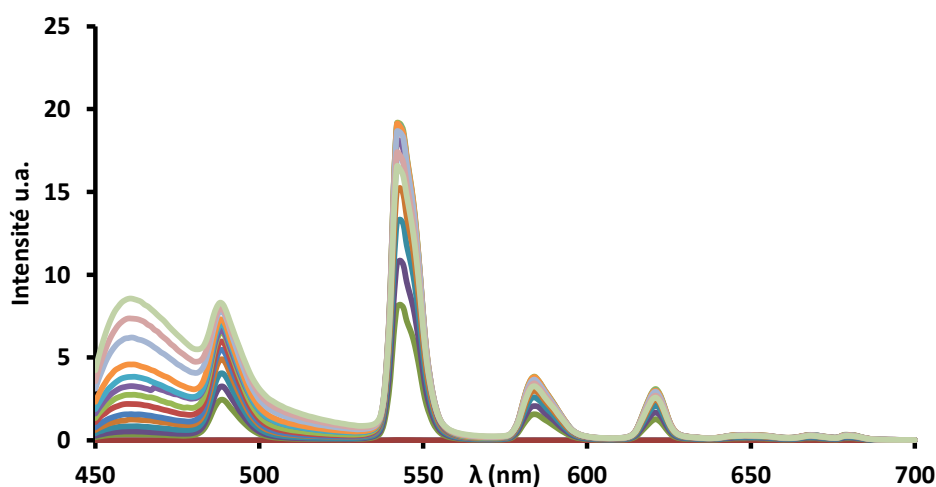
*Figure 25. Titrage UV-Visible des NPs par ligand L<sub>3</sub> (Tris (0,01M) /HCl, pH=7, [L<sub>3</sub>]=5.10<sup>-4</sup> M, [NP]=0,89nM)*



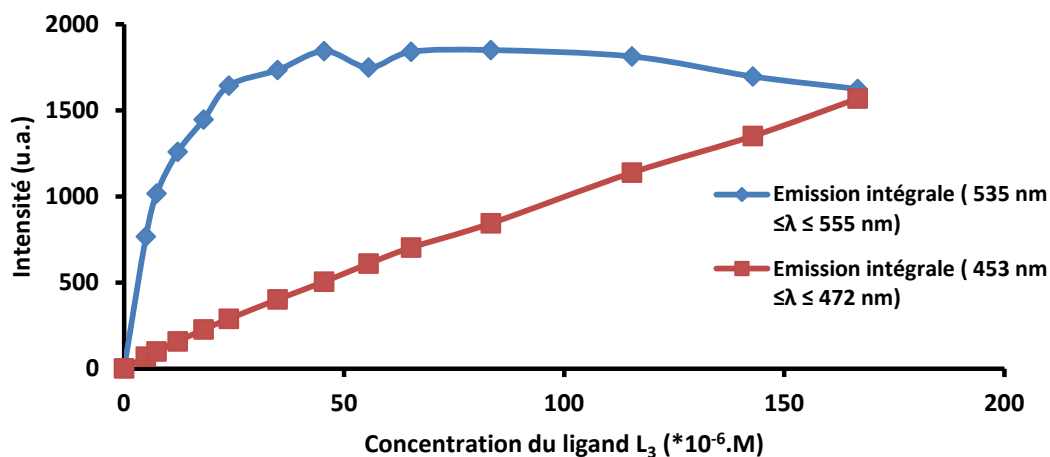
*Figure 26. Spectre d'absorption d'une solution de NPs, Tris/HCl, 0,1M, pH=7,0)*

2.2.2. Titration en émission de fluorescence

Le titrage en émission (**Figure 27**) après excitation dans les bandes d'absorption du ligand à 329 nm, nous révèle une augmentation de l'intensité d'émission du Tb(III). On distingue les bandes habituelles à 485,545, 584 et 621 nm attribuées aux transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$  ( $J=6, 4, 5, 3$  respectivement) ce qui confirme l'effet d'antenne induit par le ligand. Nous apercevons également l'émission du ligand libre à 461 nm qui augmente logiquement tout au long du titrage. L'évolution de l'intensité à 542 nm indique que l'augmentation atteint un plateau (**Figure 28**). Ce plateau indique que la surface totale des nanoparticules est recouverte par le ligand.



**Figure 27.** Titration en émission de fluorescence des NPs par le ligand  $L_3$  ( $\lambda_{exc}=329$  nm, Tris /HCl,  $pH=7,0$ ,  $[L_3]=5.10^{-4}$  M,  $[NP]=0,89$  nM)

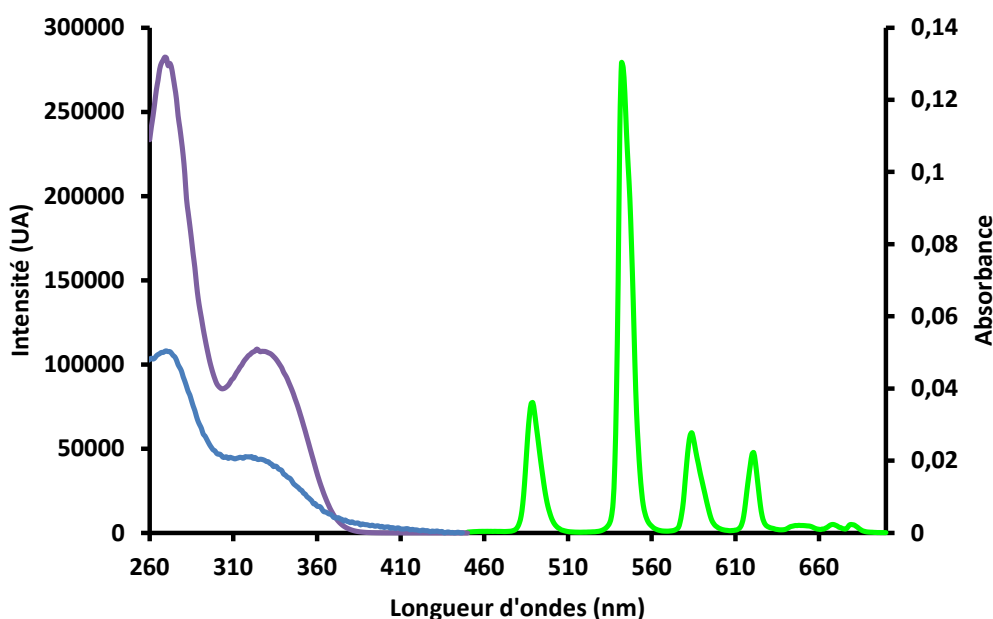


**Figure 28.** Intensité d'émission de fluorescence ( $\lambda_{exc}=329$  nm) durant le titrage des NPs par le ligand  $L_3$  en fonction de  $[L_3]$

### 2.3. Etudes spectroscopiques des nanoparticules purifiés

#### 2.3.1. Propriétés photophysiques et physico-chimiques des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>

Les NPs recouvertes par le ligand (NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>) sont purifiées par centrifugation afin de se séparer du ligand libre en solution. Les spectres d'absorption et d'excitation des particules purifiées (**Figure 29**) sont superposables donc l'émission du Tb(III) est principalement induite par l'effet d'antenne du ligand L<sub>3</sub>. On ne distingue plus la bande d'émission à 461 nm due à l'absence de L<sub>3</sub> libre après purification.



**Figure 29.** Spectre d'absorption (bleu), d'excitation ( $\lambda_{em}=549nm$ , violet) et d'émission ( $\lambda_{exc}=329nm$ , vert) des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> (0.89 nM, H<sub>2</sub>O, pH=7)

Les NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> présentent un rendement quantique de 13% et un coefficient d'absorption molaire de  $1,6 \cdot 10^7$  à 307 nm (**Tableau 2**). Ce coefficient est calculé grâce à la concentration des NPs déterminés par ICP-AES. Nous en déduisons une brillance très élevée de  $2,1 \cdot 10^6$  pour des nanoparticules de lanthanides. Les coefficients d'absorptions molaires des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> et les titrages en absorption réalisés précédemment nous permettent de déduire la présence de 5240 environ ligand L<sub>3</sub> à la surface des nanoparticules. La mesure du temps de vie montre la présence de deux composantes de 1.58 ms et de 3.76 ms avec des proportions respectives de 48% et 52%. Le temps de vie long correspond à la luminescence induite par les ions Tb au sein de des NPs et le temps de vie court aux ions Tb en surface plus sensible au

photoblanchiment induit par les molécules d'eau.<sup>14</sup> On peut aussi envisager que le temps de vie court puisse être attribué a des transfert d'énergie Tb-Tb.<sup>15</sup>

	$\tau_{H_2O}$ (ms)	$\phi$	Nombre de Ligands	$\epsilon$ ( $\lambda_{max}=307nm$ ) ( $M^{-1}.cm^{-1}$ )	Brillance ( $M^{-1}.cm^{-1}$ )
NPs-(L <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	1,58 (48%)	0,13	5240	1,6*10 <sup>7</sup>	2,1*10 <sup>6</sup>
	3,76 (52%)				

Tableau 2. Propriétés photophysiques des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>

### 2.3.2. Etude de la stabilité des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>

La stabilité des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> a été étudiée en présence de 1, 10, 100 et 1000 équivalents de citrate à pH neutre (**Figure 30**). Le citrate est un excellent chélatant anionique utilisé pour la préparation des NPs solubles dans l'eau.<sup>16</sup> Après un ajout de 1000 équivalents de citrate, les (NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> conserve environ 40% de leur émission initiale (**Figure 31**). Elles restent brillantes malgré ce large excès d'anions compétiteurs.

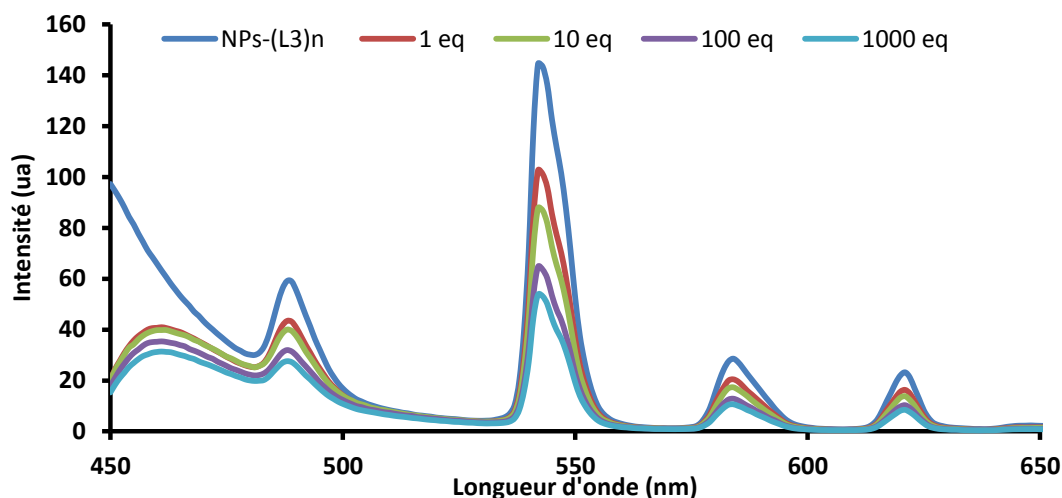
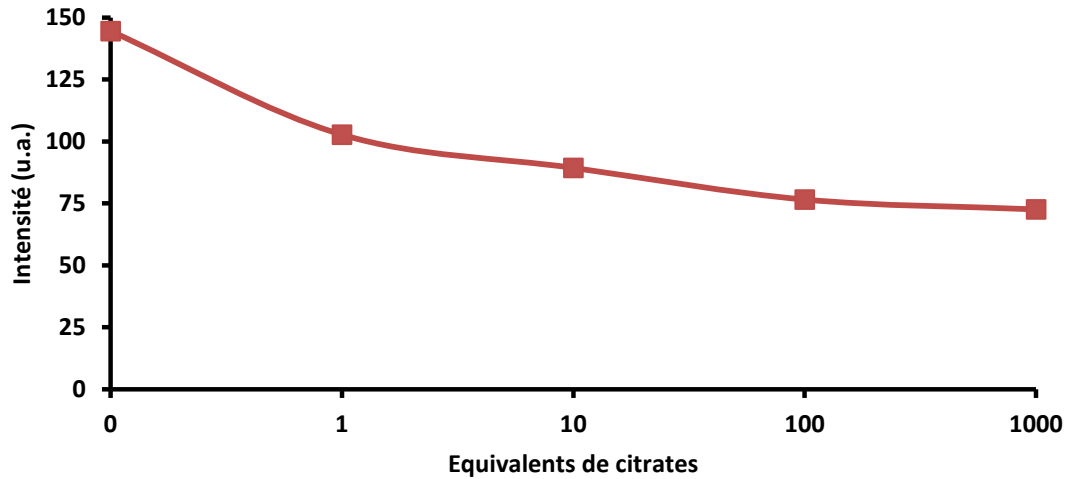


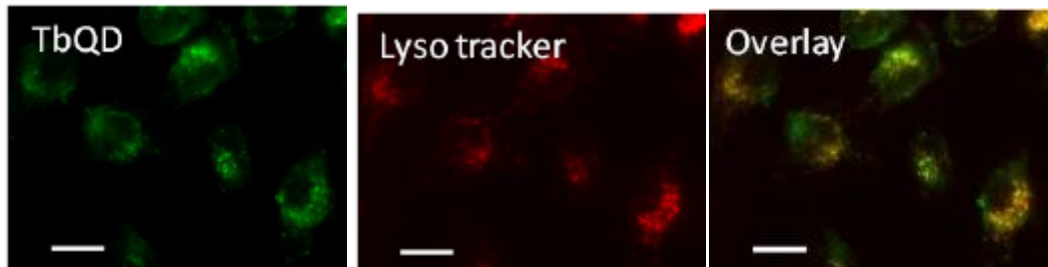
Figure 30. Spectre d'émission des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> en présence 1, 10, 100 et 1000 équivalents de citrate (pH=7,0)



**Figure 31.** Intensité d'émission à 542 nm du titrage des NPs-(L<sub>3</sub>)<sup>n</sup> en présence 1, 10, 100 et 1000 équivalents de citrate (pH=7,0)

### 3. Marquage cellulaire

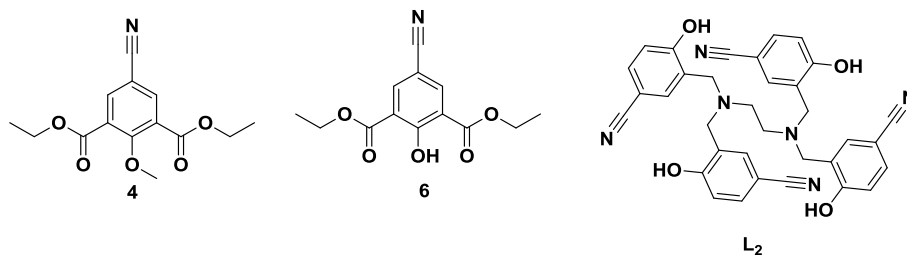
Afin de valider l'utilité des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> pour l'imagerie in vivo, des tests de localisation cellulaire sont réalisés par le laboratoire du Dr Ka-Leung Wong à l'Université Baptiste de Hong-Kong. Les NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> ont été incubées dans des cellules cancéreuses de type HeLaCell24 (**Figure 32**). La microscopie de fluorescence confocale montre l'émission verte caractéristique du Tb des NPs qu'on observe dans le cytosol. L'expérience de colocalisation avec le LysoTracker® a montré la superposition de son émission et de celle du Tb. On peut en déduire que les NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> sont absorbées dans le milieu intracellulaire et plus précisément dans les lysosomes.



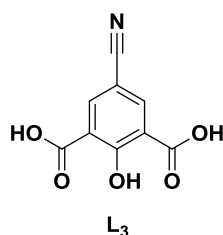
**Figure 32.** Localisation cellulaire des NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub> : Image de microscopie confocale des cellules cancéreuses de type HeLaCell24 ( $\lambda_{exc}=330\text{ nm}$ ,  $\lambda_{em}=545\text{ nm}$  ;  $\lambda_{exc}=577\text{ nm}$ ,  $\lambda_{em}=590\text{ nm}$  ; cellules incubées pendant 24h avec une solution de NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>, [NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>]=1.33 nM )

### III. Conclusion

La synthèse du ligand **L<sub>1</sub>** n'a pas été un succès car nous avons eu beaucoup de difficultés à synthétiser le précurseur principal. Les tentatives de réduction des composés **4** et **6** n'ont rien donné non plus. L'oxydation sélective utilisée lors de la seconde voie de synthèse à fonctionnée de manière incomplète.



Nous avons ensuite décidé de synthétiser un second ligand dont la synthèse est plus accessible. Le ligand **L<sub>2</sub>** a une faible solubilité en milieux aqueux. Son complexe de terbium présente un faible rendement quantique et son temps de vie est court ce qui n'en fait pas un candidat idéal pour le développement de nouvelles sondes fluorescentes.



Nous nous sommes également intéressés à la synthèse du ligand **L<sub>3</sub>** capable de se coordiner à la surface des nanoparticules de lanthanides. Ces nanostructures permettent d'accéder à des composés luminescents « ultra-brillants ». La stabilité du ligand à leur surface a permis de les introduire dans des cellules cancéreuses de type HelaCell24 et des expériences de localisation ont montrés leur présence dans les lysosomes.

Les propriétés photophysiques et la stabilité des **NPs-(L<sub>3</sub>)<sub>n</sub>** en font de nouveaux outils très prometteurs dans le développement de nouvelles nanotechnologies utilisables en bioanalytique.

#### IV. Bibliographie

- (1) MP Lima, L.; Tripier, R. *Curr. Inorg. Chem.* **2011**, *1* (1), 36–60.
- (2) Cohen, S. M.; Petoud, S.; Raymond, K. N. *Inorg. Chem.* **1999**, *38* (20), 4522–4529.
- (3) Petoud, S.; Cohen, S. M.; Bünzli, J.-C. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (44), 13324–13325.
- (4) Petoud, S.; Muller, G.; Moore, E. G.; Xu, J.; Sokolnicki, J.; Riehl, J. P.; Le, U. N.; Cohen, S. M.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (1), 77–83.
- (5) Xu, J.; Corneillie, T. M.; Moore, E. G.; Law, G.-L.; Butlin, N. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (49), 19900–19910.
- (6) Nguyen, H. H.; McAliley, J. H.; Bruce, D. A. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.* **2012**, *50* (10), 2019–2028.
- (7) Daumann, L. J.; Gahan, L. R.; Comba, P.; Schenk, G. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (14), 7669–7681.
- (8) Zavitsas, A. A.; Beaulieu, R. D.; Leblanc, J. R. *J. Polym. Sci. [A1]* **1968**, *6* (9), 2541–2559.
- (9) An, G.; Kathlia A. De Castro; Hyunseok Ahn; Hakjune Rhee. *Synthesis* No. 3, 477–485.
- (10) Lee, D. H.; Kim, S. Y.; Hong, J.-I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43* (36), 4777–4780.
- (11) Haas, Y.; Stein, G. *J. Phys. Chem.* **1971**, *75* (24), 3668–3677.
- (12) Murcia, M. J.; Naumann, C. A. In *Nanotechnologies for the Life Sciences*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.
- (13) Wang, F.; Zhang, Y.; Fan, X.; Wang, M. *J. Mater. Chem.* **2006**, *16* (11), 1031.
- (14) Cross, A. M.; May, P. S.; Veggel, F. C. J. M. van; Berry, M. T. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114* (35), 14740–14747.
- (15) Nonat, A.; Regueiro-Figueroa, M.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. *J. Chem. - Eur. J.* **2012**, *18* (26), 8163–8173.
- (16) Sudarsan, V.; Veggel, F. C. J. M. van; Herring, R. A.; Raudsepp, M. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15* (13), 1332–1342.







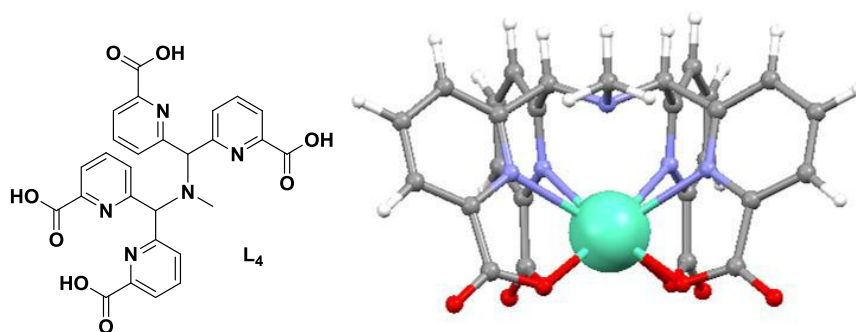
# **CHAPITRE III :**

# **LIGANDS POLY-PICOLINATES**



## I. Synthèse du ligand tétrapicolinate

Dans ce troisième chapitre, nous avons opté pour la synthèse de ligands à base d'acides picoliniques contenant au minimum quatre groupements chomophoriques. Le groupe du Dr Mazzanti a montré que la fonctionnalisation de l'éthylène diamine par quatre acides picoliniques conduit à la synthèse d'un ligand pontant hexadentate formant des complexes stables.<sup>1</sup> Ce ligand permet la synthèse d'un complexe de terbium intéressant. Ce complexe présente une brillance de 9720 avec un rendement quantique de 45% et un coefficient d'absorption molaire de  $21600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Nous nous sommes intéressés à la synthèse du ligand **L<sub>4</sub>**. Il est composé de quatre acides picoliniques et de neuf atomes coordinants. La modélisation DFT (**Figure 1**) réalisé par le Dr Platas-Iglesias montre que sa structure nonadentate est idéale pour la complexation d'ions lanthanides notamment pour l'ion Eu(III). Les distances entre les atomes coordinants et l'ion europium sont comprises entre 2.42 Å et 2.84 Å. On peut supposer la coordination des neuf atomes malgré l'aspect rigide du ligand. Nous avons tenté de synthétiser ce ligand selon différentes voies.



**Figure 1.** Structure de ligand  $L_4$  et modélisation DFT de  $[EuL_4]$  en phase gazeuse

### 1. Voie de Synthèse A

Dans une première voie de synthèse, nous nous sommes inspirés de Renz et *al* et de sa synthèse par amination réductrice du ligand tétrapyridinique, la bis-[di(2-pyridyl)méthyle] amine (BDPMA) à partir de la di-2-pyridyl cétone et de la di-(2-pyridyl) méthamine (**Figure 2**). BDPMA est un ligand capable de complexer le cuivre (II).<sup>2</sup>

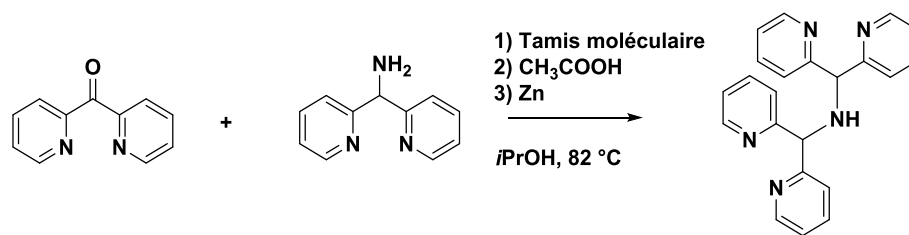


Figure 2. Schéma de synthèse du BDPMA

Dans cette voie (**Figure 3**), la combinaison condensation-amination réductrice des précurseurs bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanone (**13**) et bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanamine (**14**) donne le composé **15** après alkylation. Le ligand souhaité sera obtenu par oxydation.

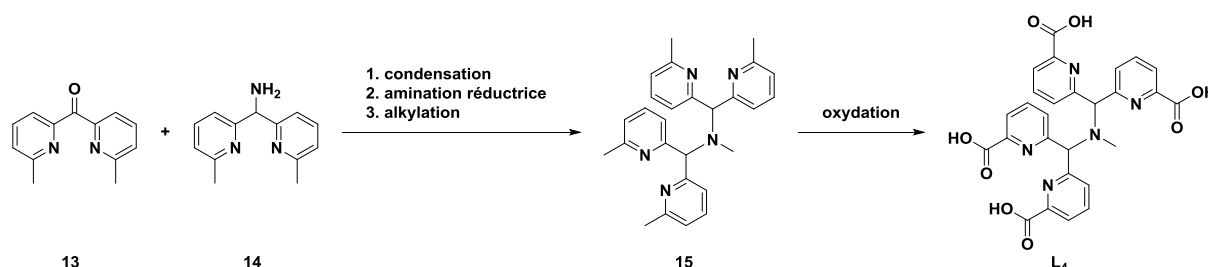


Figure 3. Voie de Synthèse A

### 1.1. Synthèse des précurseurs bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthane

La synthèse des composés **13** et **14** a été réalisée par Chatterjee et *al.*<sup>3</sup> La réaction de Sandmeyer sur la 2-amino-6-méthylpyridine donne la 2-bromo-6-méthylpyridine. Son dérivé lithien permet d'obtenir la cétone **13** par substitution nucléophile en présence de chloroformiate d'éthyle. Par une réaction de condensation entre **17** et l'hydroxylamine, nous avons synthétisé la cétoxime **18** (**Figure 4**). L'amination réductrice permet d'accéder au précurseur bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanamine (**14**).

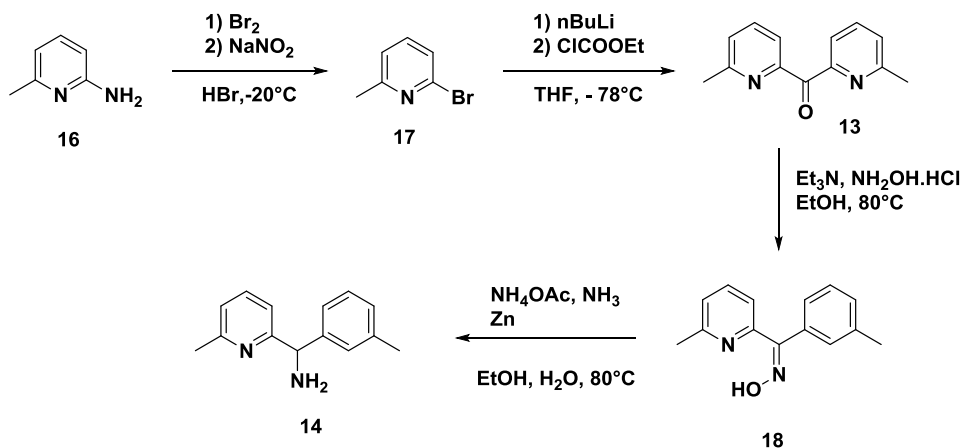


Figure 4. Synthèse des précurseurs bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthane

## 1.2. Amination réductrice

Nous avons tenté la réaction d'amination réductrice selon la méthode de Renz (**Figure 5**) en présence des précurseurs **13** et **14**, de tamis moléculaire, de zinc et d'isopropanol.<sup>2</sup> Le produit principal isolé lors de cette réaction est la cétone de départ. Nous supposons que dans ces conditions l'imine formée est instable.

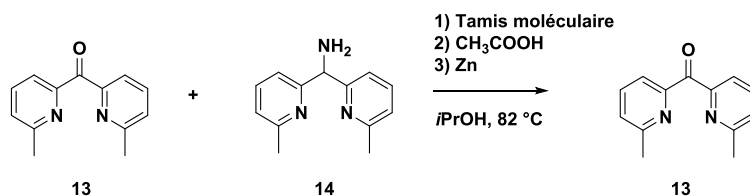


Figure 5. Schéma réactionnel de l'amination réductrice

## 2. Voie de Synthèse B

Dans cette voie de synthèse (**Figure 6**), les fonctions méthyles seront oxydées et la cétone réduite. Le composé di-acide-mono-alcool serait estérifié puis activé par un groupement nucléofuge qui permettrait la N-fonctionnalisation sur une amine primaire. L'hydrolyse basique permettrait d'accéder au ligand **L<sub>4</sub>** souhaité.

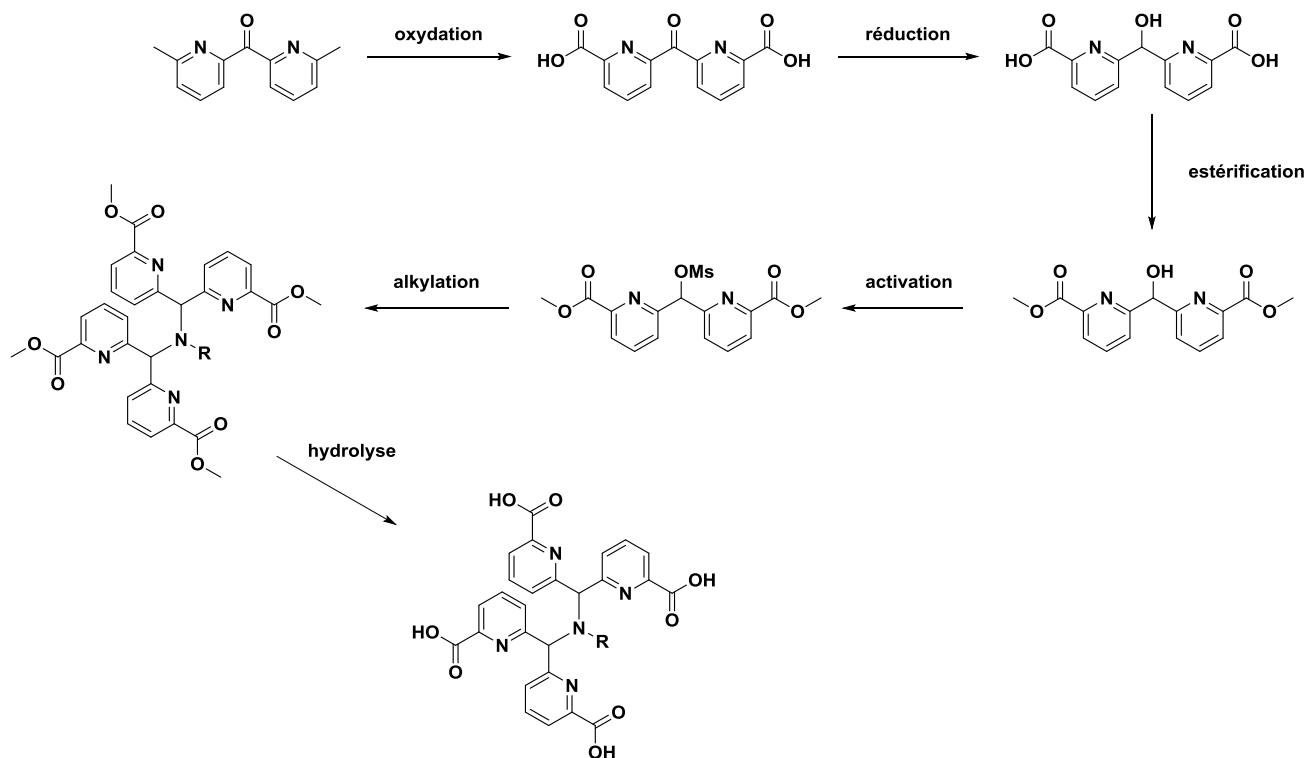


Figure 6. Voie de Synthèse B

## 2.1. Synthèse du diméthyl 6,6'-(((méthylsulfonyl)oxy)méthylène)dipicolinate

Nous avons tenté l'oxydation des groupements méthyliques du composé **13** en présence de  $\text{KMnO}_4$  dans l'eau mais celle-ci s'est montrée infructueuse. L'oxydation de Jones (**Figure 7**) en présence d'oxyde de chrome (VI) et d'acide sulfurique permet d'aboutir au di-acide **19**. Il a été purifié par chromatographie sur phase inverse.

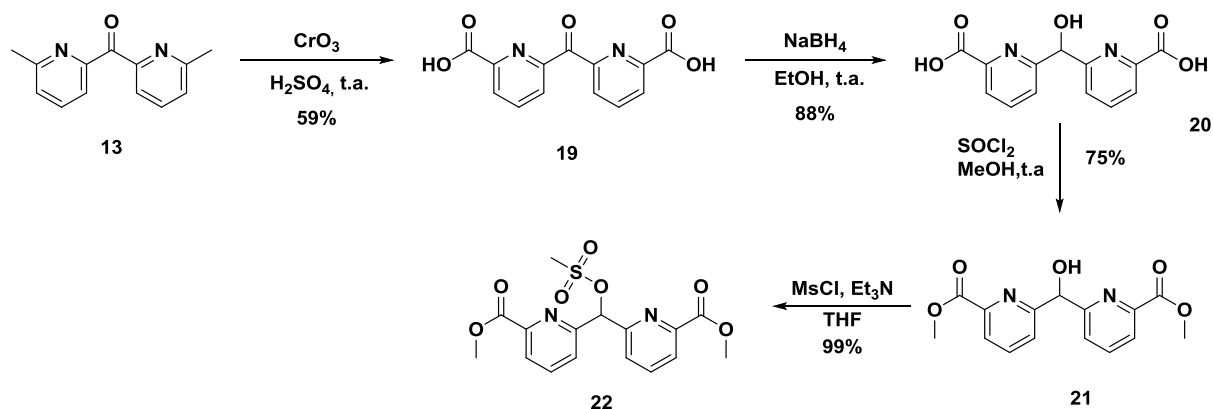


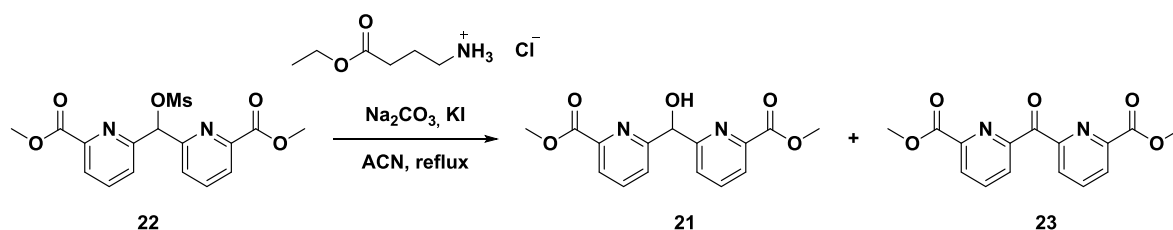
Figure 7. Synthèse du diméthyl 6,6'-(((méthylsulfonyl)oxy)méthylène)dipicolinate **22**



La cétone **19** est réduite en alcool en présence de  $\text{NaBH}_4$  dans l'éthanol. Le diacide-alcool **20** est aussi purifié sur phase inverse. Le composé **21** a été obtenu par estérification en présence de  $\text{SOCl}_2$  et de méthanol. Il est activé par substitution nucléophile en présence de THF et de chlorure de mésylate pour donner le précurseur mésylé **22**.

## 2.2. Alkylation

La N-fonctionnalisation du précurseur **22** a été tentée en présence d'éthyl 4-aminobutyrate hydrochloride, de carbonate de sodium, d'iodure de potassium dans l'acétonitrile à reflux. Cette amine primaire a été choisie car elle possède une fonction ester modulable. Les produits isolés en fin de réaction sont la cétone **23** et le composé **21** (**Figure 8**). On peut en déduire que dans ces conditions, le groupement mésylate est instable. L'oxydation secondaire de l'alcool durant cette réaction laisse penser à une forte acidité du proton en alpha des ester picoliniques qui est préjudiciable lors de cette synthèse.



**Figure 8.** Essai d'alkylation du précurseur **22** sur l'éthyl 4-aminobutyrate hydrochloride

## 2.3. Réduction de la bis (6-méthylpyridin-2-yl)méthanone avec le méthyllithium

Nous avons décidé de convertir le proton acide du composé **21** en un groupement méthyle pour éviter les réactions secondaires. La cétone **13** a été réduite en présence de méthyle lithium dans le THF pour obtenir le composé **24**. Ce synthon est respectivement oxydé et estérifié dans les mêmes conditions que les composés **19** et **20**.

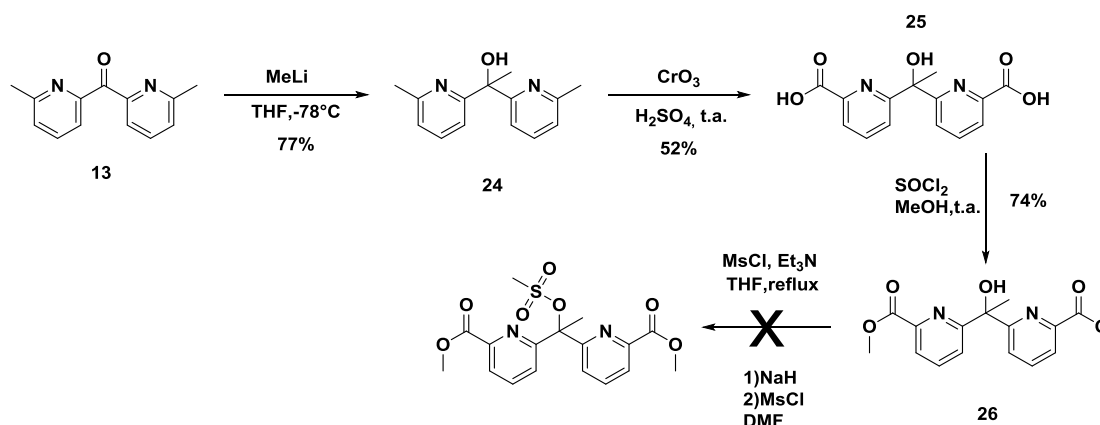


Figure 9. Tentative de synthèse de l'analogue méthylé du composé 22

Nous avons tenté d'activer le précurseur **26** par substitution nucléophile en présence de MsCl et de triéthylamine dans du THF mais sans succès. La réaction de Williamson avec l'hydrure de sodium (NaH) s'est aussi soldée par un échec. Dans les deux essais, nous isolons principalement le produit de départ. Le manque de réactivité de cet alcool tertiaire s'explique par sa faible nucléophilie dû à la présence des esters picoliniques et du groupement méthyle.

### 3. Voie de Synthèse C

Dans cette troisième voie de synthèse, nous avons voulu synthétiser la plate-forme composée des quatre méthylpicolines et de finaliser par l'étape d'oxydation pour obtenir le ligand.

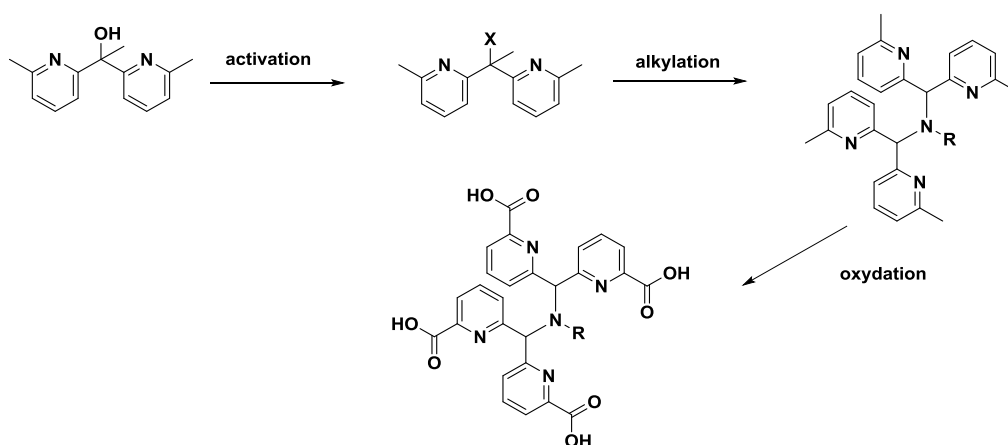
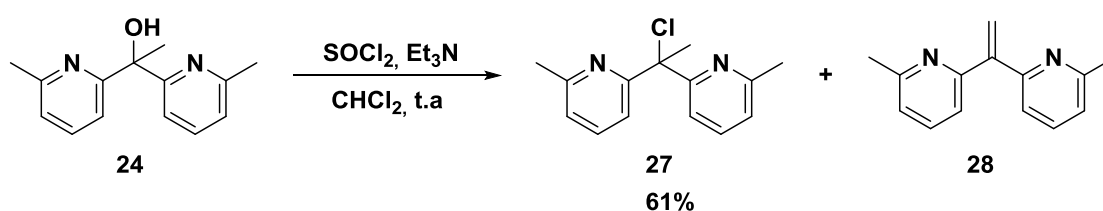


Figure 10. Voie de Synthèse C

### 3.1. Substitution nucléophile sur la 1,1-bis (6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-ol

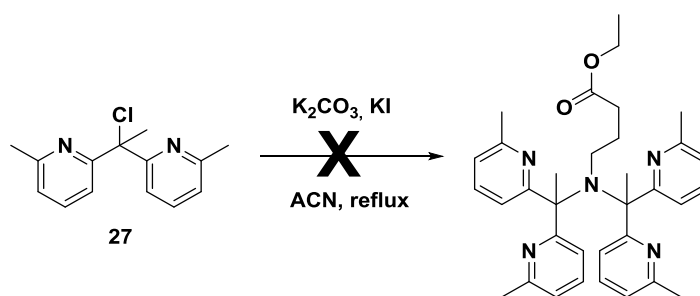
Nous avons substitué la fonction alcool de **26** par un chlore en présence de  $\text{SOCl}_2$  et de  $\text{Et}_3\text{N}$  dans du dichlorométhane (**Figure 10**). Durant cette réaction, en présence de 1 équivalent de  $\text{SOCl}_2$  et 1 équivalent de base, le rendement de la réaction n'est que de 31%. Nous avons observé la formation d'un produit secondaire (**28**) obtenu par une bêta-élimination favorisée en milieu acide. L'acidité est due à la libération de  $\text{HCl}$  lors de la réaction de chloration. Afin de pallier ce problème, nous avons relancé la réaction avec 2 équivalents de  $\text{Et}_3\text{N}$  et 3 équivalents de  $\text{SOCl}_2$  pour obtenir le composé **27** avec un rendement de 61%.



*Figure 10.* Substitution nucléophile sur la 1,1-bis (6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-ol

### 3.2. N-fonctionnalisation sur 6,6'-(1-chloroéthane-1,1-diyl)bis(2-méthylpyridine)

La N-fonctionnalisation (**Figure 11**) a été tentée en présence du précurseur **27**, d'éthyl 4-aminobutyrate hydrochloride et de carbonate de sodium dans l'acétonitrile à reflux. On n'isole que les produit de départ lors de cet essai. Il est à noter qu'une température trop élevée conduit à la synthèse du produit de bêta-élimination.



*Figure 11.* Tentative de N-fonctionnalisation sur 6,6'-(1-chloroéthane-1,1-diyl)bis(2-méthylpyridine)

#### 4. Synthèse du ligand $L_5$ un analogue de $L_4$

La synthèse du ligand  $L_4$  est apparue très compliquée notamment par la difficulté de faire réagir une amine primaire sur un halogénure tertiaire par substitution nucléophile. Nous avons donc décidé d'apporter de la flexibilité à notre ligand afin de synthétiser le ligand  $L_5$  selon la voie de synthèse suivante :

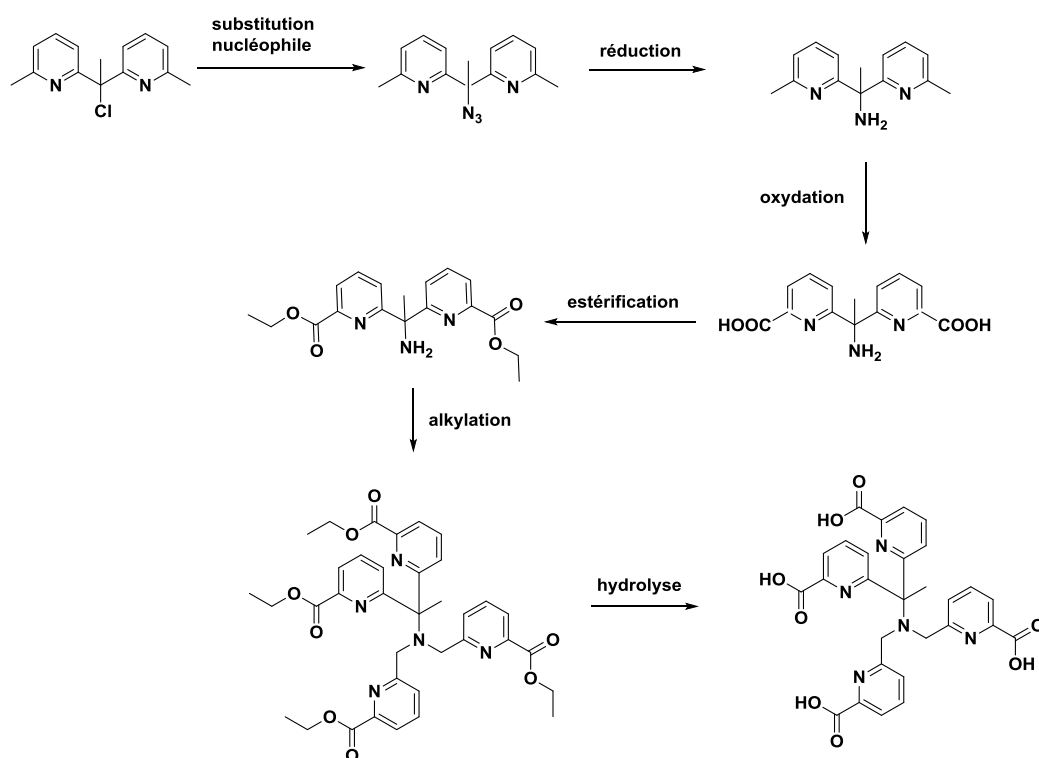


Figure 12. Voie de Synthèse du ligand  $L_5$

##### 4.1. Substitution du chlore par un azoture

Le composé **27** en présence de large excès d'azoture de sodium dans du diméthylformamide permet de substituer le chlore par un groupement azoture (**Figure 13**). Le suivi de réaction par chromatographie sur couche mince n'est pas adapté car les rapports frontaux du composé de départ et d'arrivée sont identiques. Le suivi se fait uniquement par RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 14**). On observe un décalage du déplacement chimique des protons méthyls « e » en alpha du carbone central vers les hauts champs de 0,29 ppm. On observe un décalage similaire de 0,20 ppm des protons « d » de la picoline. Ce décalage est induit par l'électronégativité supérieure du chlore par rapport au groupement azoture.

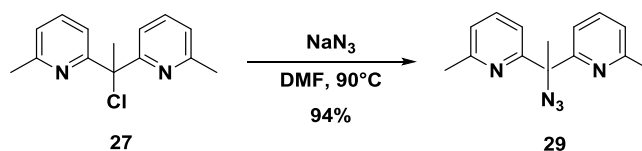


Figure 13. Synthèse du 6,6'-(1-azidoéthane-1,1-diyl)bis(2-méthylpyridine)

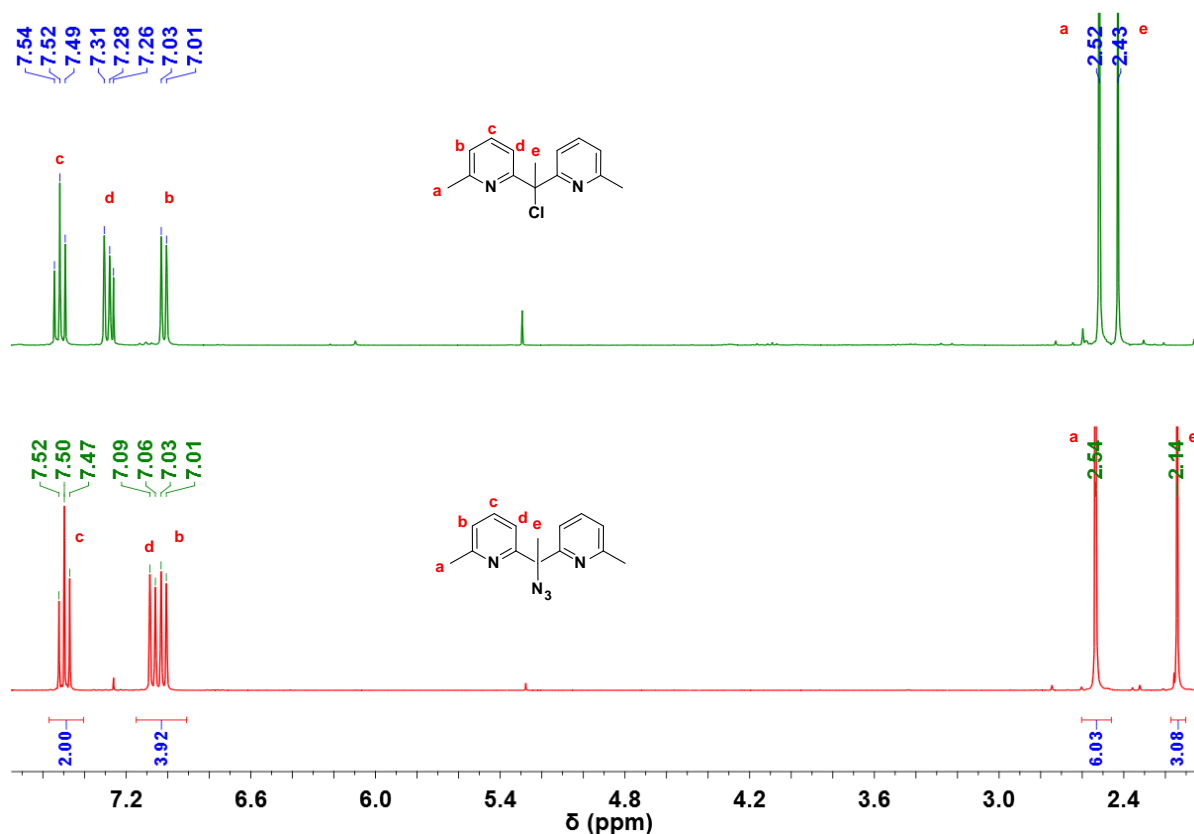


Figure 14. Spectre RMN  $^1\text{H}$  des composés **27** et **29** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)

## 4.2. Réduction du groupement azoture

L'azoture du composé **29** est réduit en amine primaire par une réaction d'hydrogénation en présence d'un flux de dihydrogène et de palladium sur charbon dans du méthanol pour obtenir le composé **30** (Figure 15). Une réaction de Staudinger qui permet de transformer un azoture par l'intermédiaire d'un iminophosphorane, en amine primaire en présence de phosphine a été tentée pour obtenir ce composé mais sans succès.<sup>4</sup> La formation de l'amine primaire induit aussi un décalage du déplacement chimique des protons méthylque « e » vers les hauts champs de 0,25 ppm. On voit aussi l'apparition d'un singulet large qui intègre pour les deux protons de cette amine.

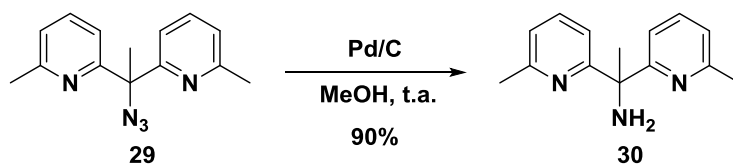


Figure 15. Synthèse du 1,1-bis(6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-amine

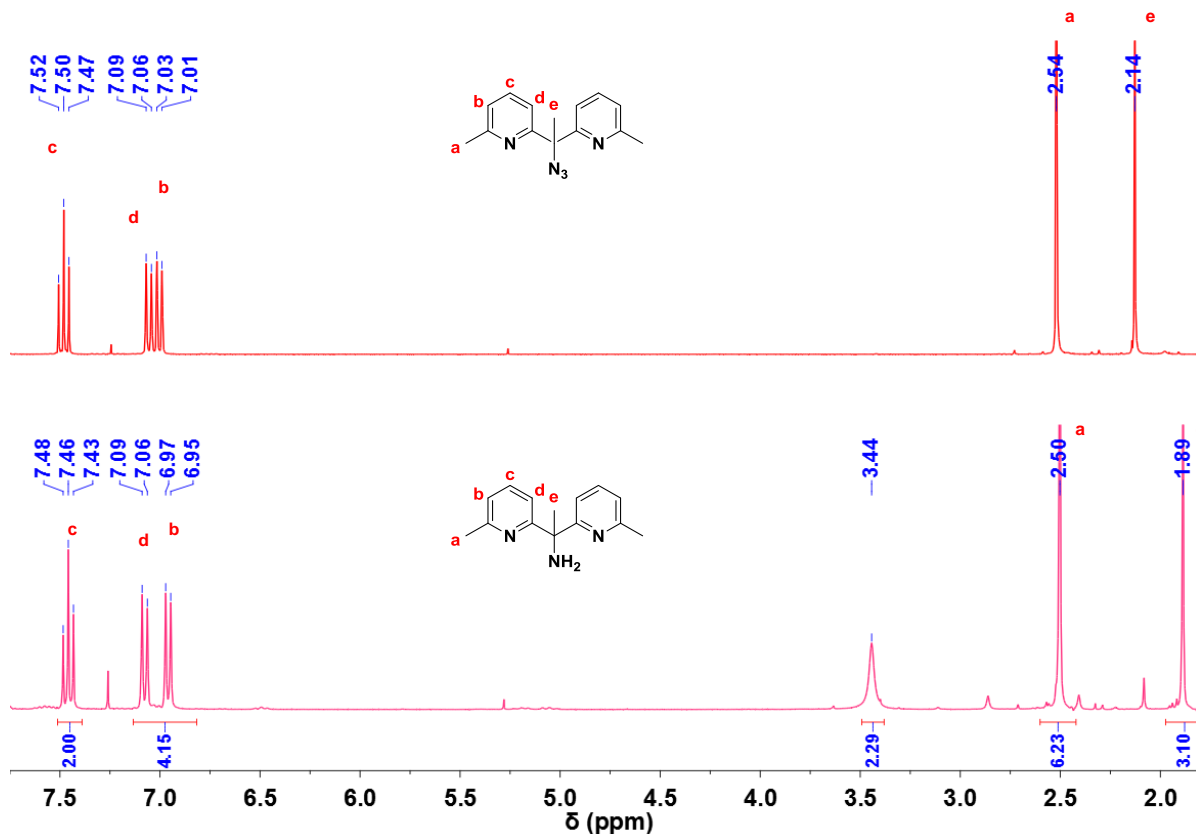


Figure 16. Spectre RMN  $^1\text{H}$  des composés 29 et 30 ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)

### 4.3. Oxydation et estérification de la 1,1-bis(6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-amine

Nous avons réalisé une oxydation de Jones (**Figure 17**) sur le synthon **30** afin d'obtenir l'acide aminé **31** avec un excellent rendement de **61%**. Ce composé a été purifié sur phase inverse de façon similaire aux composés **20** et **25**. L'acide aminé a été estérifié en présence de  $\text{SOCl}_2$  et d'éthanol pour obtenir le précurseur **32**.

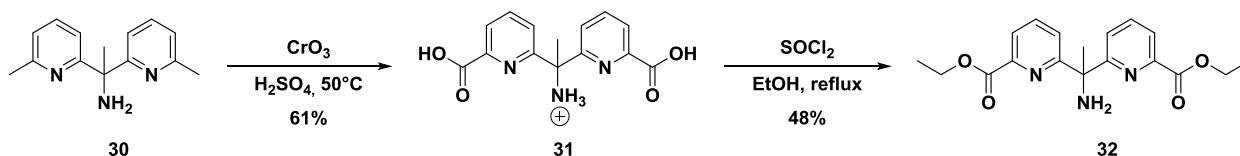
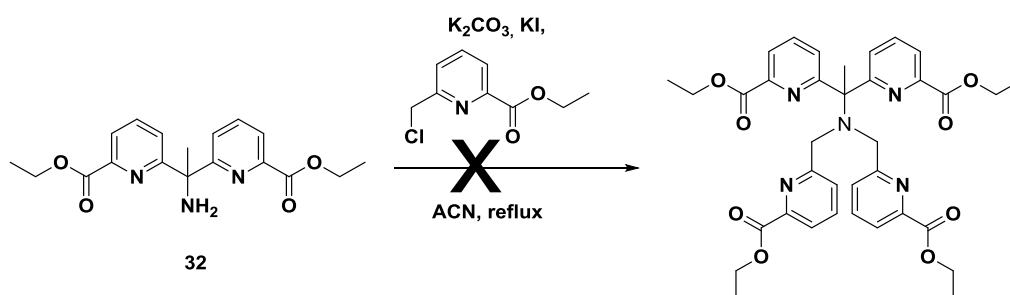


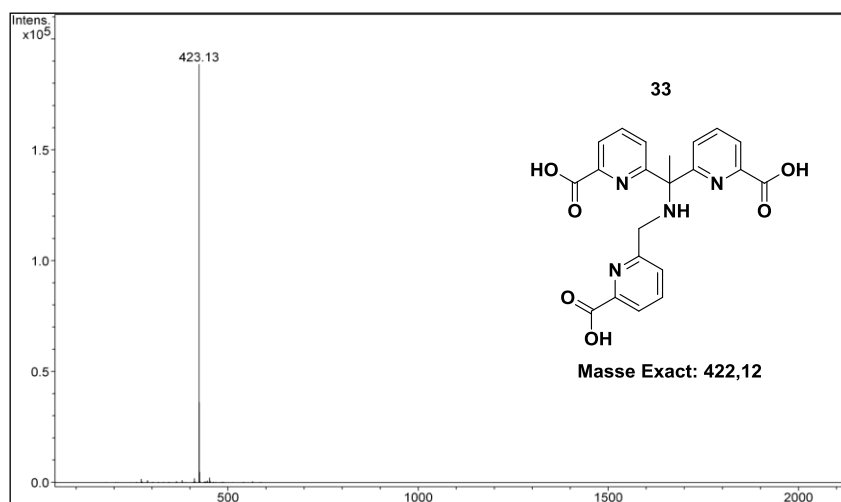
Figure 17. Oxydation et estérification de la 1,1-bis(6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-amine

#### 4.4 Alkylation du diéthyl 6,6'-(1-aminoéthane-1,1-diyl) dipicolinate

La N-fonctionnalisation (**Figure 18**) a été tentée en présence du précurseur **32**, d'éthyle 6-(chlorométhyl)picolinate, de  $K_2CO_3$  et de KI dans l'acétonitrile. Nous avons eu beaucoup de difficultés à purifier et à caractériser le produit lors de cette étape. Nous avons donc directement décidé de saponifier directement le brut réactionnel afin de privilégier la purification sur phase inverse. Celle-ci s'est aussi avérée compliquée. L'analyse par spectroscopie de masse par ionisation électrospray indique que le produit majoritairement isolé correspond au produit de monoalkylation.



**Figure 18.** Oxydation et estérification de la 1,1-bis(6-méthylpyridin-2-yl)éthan-1-amine



**Figure 19.** Spectroscopie de masse du composé **33**(ESI +)

## 5. Discussion

La synthèse des ligands **L<sub>4</sub>** et **L<sub>5</sub>** n'a pas été une réussite, il a été très difficile de maîtriser la réactivité des ponts méthines. La première difficulté est apparue avec l'acidité du proton du composé **23** qui était un inconvénient pour les réactions de N-fonctionnalisation nécessitant la

présence d'une base. Nous avons substitué ce proton par un groupement méthyle afin de pallier ce problème. L'insertion de ce méthyle, nous permet de substituer l'alcool tertiaire du composé **24** par un groupement chlorure qui est un bon nucléofuge mais suffisamment stable pour éviter une bêta-élimination trop importante lors de cette réaction.

La difficulté d'alkyler directement sur un halogénure tertiaire nous a conduit à la tentative de synthèse du ligand **L<sub>5</sub>** mais sans succès.

## II. Ligand pyridine-tétrapyridinique

Goldsmith et *al* ont décrit la synthèse (Figure 20) du 2,6-bis (bis(2-pyridyl)méthoxyméthane)pyridine (**36**) afin de développer des complexes de fer (III).<sup>5</sup>

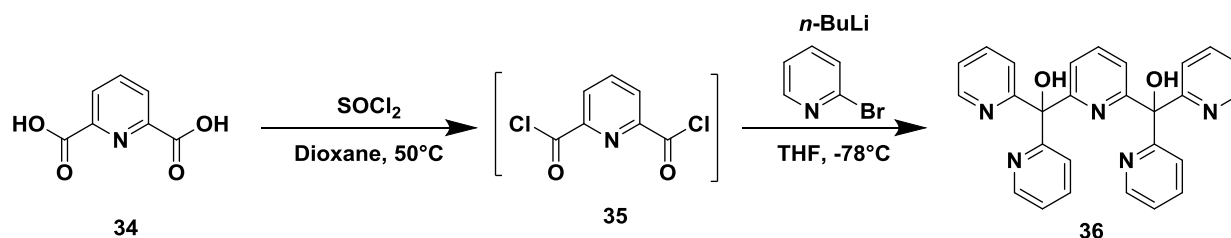


Figure 20. Synthèse du 2,6-bis-bis(2-pyridyl)méthoxyméthane)pyridine

En nous inspirant de la synthèse de ce ligand, nous avons voulu synthétiser le ligand **L<sub>6</sub>** composé de quatre acides picoliniques relié par une pyridine centrale. Ce ligand pontant est composé de 10 atomes coordinants et serait capable de former un complexe monométallique comme le montre le modèle DFT (Figure 21) réalisé par le Dr Platas-Iglesias. L'avantage de ce ligand est l'absence d'oscillateurs de type C–H et N–H en première sphère de coordination permettant de diminuer les désexcitations non-radiatives des états excités et la détérioration des propriétés de luminescence des complexes  $[\text{LnL}_6]$ .<sup>6</sup> La voie de synthèse envisagée est identique à celle de Goldsmith mais la bromopyridine est remplacé par une méthylpyridine afin d'oxyder les groupements méthyles et d'obtenir les fonctions carboxylates indispensable à la coordination de l'ion lanthanide (III).



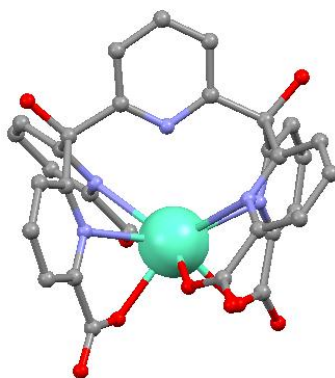


Figure 21. Modèle DFT du complexe  $[EuL_6]$

## 1. Etude du ligand $L_6$ et de ses complexes

### 1.1. Synthèse du ligand $L_6$

#### 1.1.1 Synthèse de la pyridine-2,6-diylbis(bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanol)

L'acide pyridine-2,6-dicarboxylique (**34**) est converti en chlorure d'acyle par substitution nucléophile en présence de chlorure de tosyle dans du dioxane (**Figure 22**). La 2-bromo-6-méthylpyridine est convertie en son dérivé lithié en présence de butyle lithium. Les quatre équivalents de ce synthon sont alkylés par substitution et addition nucléophile sur le dichlorure pyridine-2,6-dicarbonylé (**35**). Cette réaction donne le composé **37**. Celui-ci n'a pas été purifié de façon optimale. Néanmoins, le spectre RMN du proton et le spectre de masse nous indique que nous avons bien le composé souhaité malgré la présence d'impuretés non identifiées.

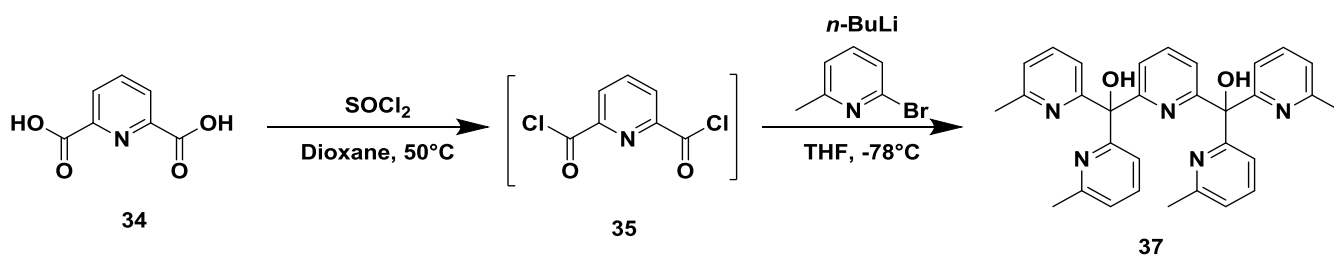


Figure 22. Synthèse du composé **37**

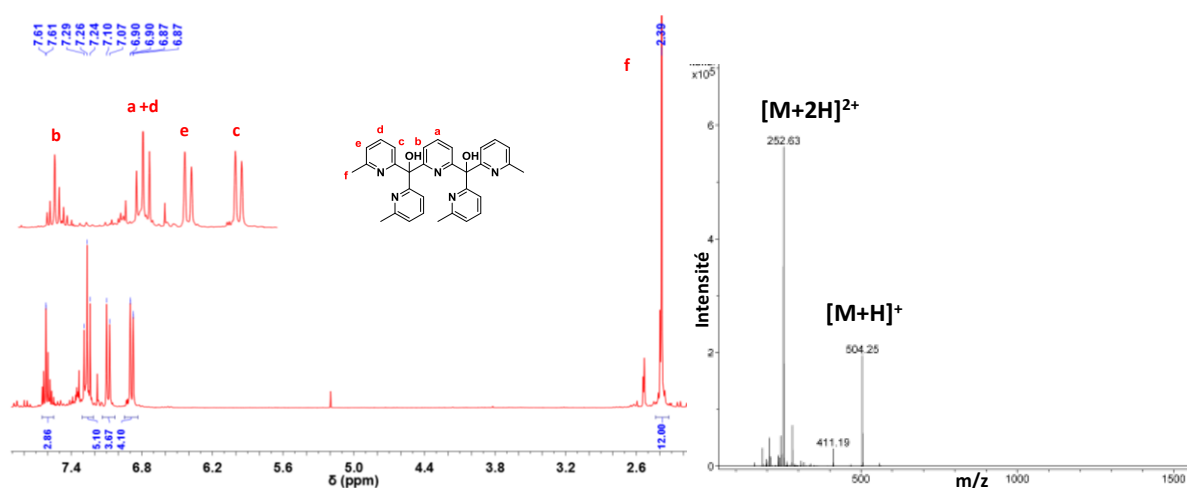


Figure 23. Spectre RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) et spectroscopie de masse du composé **37** (ESI+)

### 1.1.2. Oxydation de la pyridine-2,6-diylbis(bis(6-méthylpyridin-2-yl)méthanol)

Le composé **37** donne le ligand **L<sub>6</sub>** par une oxydation de Jones (**Figure 24**). Il a été purifié par filtration sur silice C18 et par lavage aqueux en milieu acide.

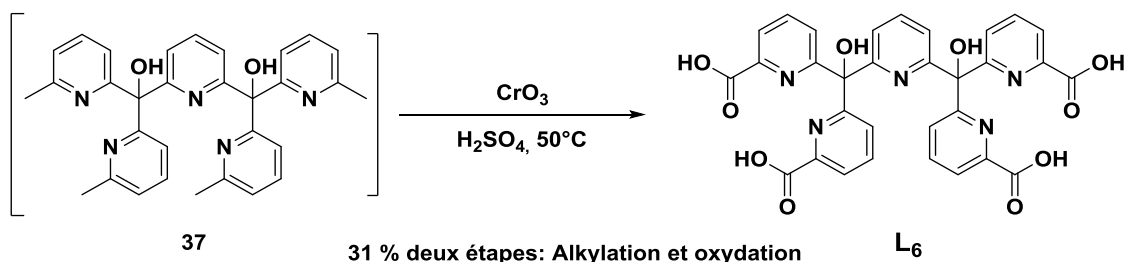


Figure 24. Synthèse du ligand **L<sub>6</sub>**

La caractérisation du ligand **L<sub>6</sub>** par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  dans le DMSO montre les différents pics des protons aromatiques. On distingue deux doublets (e+c) à 7,93 et 7,52 ppm et un triplet (d) à 7,78 ppm correspondant respectivement aux protons en *mé*ta et *para* des acides picoliques (**Figure 25**). Le triplet (a) à 7,88 ppm et le doublet (b) à 7,62 ppm sont affiliés respectivement aux protons en *para* et *mé*ta de la pyridine centrale.

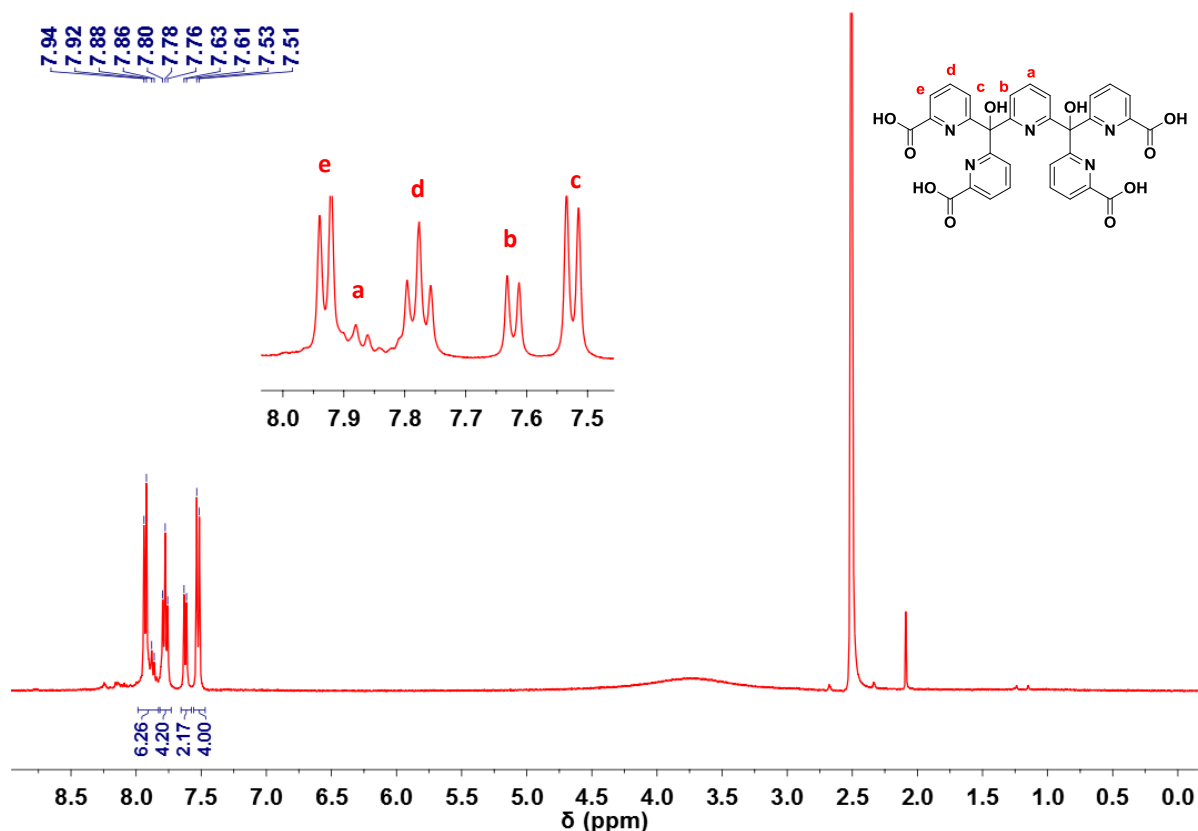


Figure 25. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du ligand  $\text{L}_6$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz)

## 1.2. Etudes spectroscopiques du ligand $\text{L}_6$

Nous avons réalisés des titrages de  $\text{L}_6$  par addition d'euprium suivit par absorption électronique et par émission de fluorescence afin d'étudier les complexes formés en solution. Le titrage a été réalisé en milieux aqueux et méthanolique.

### 1.2.1 Titrages par addition d'Eu (III) suivit par absorption électronique

Le spectre d'absorption du ligand présente une bande d'absorption intense à 270 nm correspondant à une transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  des acides picoliques.<sup>7</sup> Le coefficient d'absorption maximale est de  $17800 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Le titrage par addition d'Eu(III) ne montre pas de changement important. La diminution de l'absorption est induite par la dilution lors du titrage.

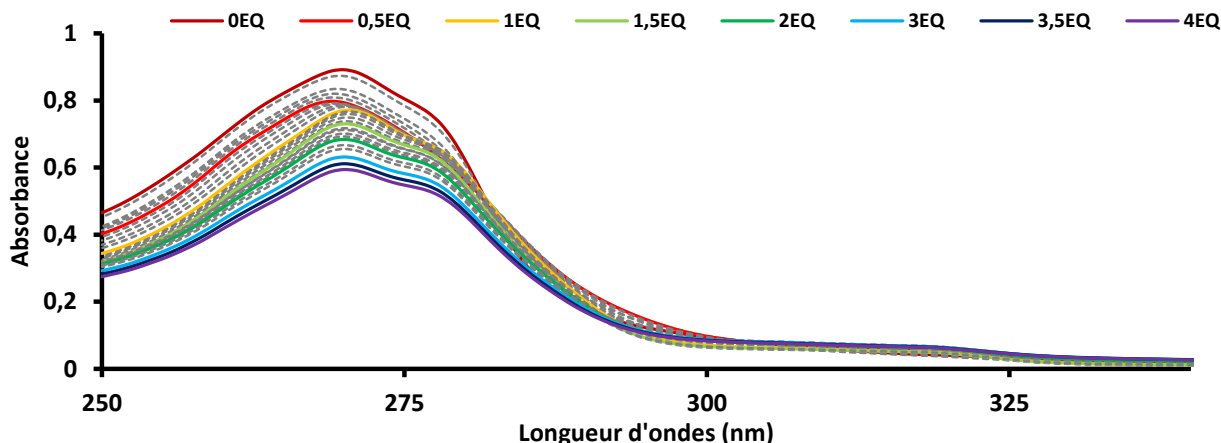
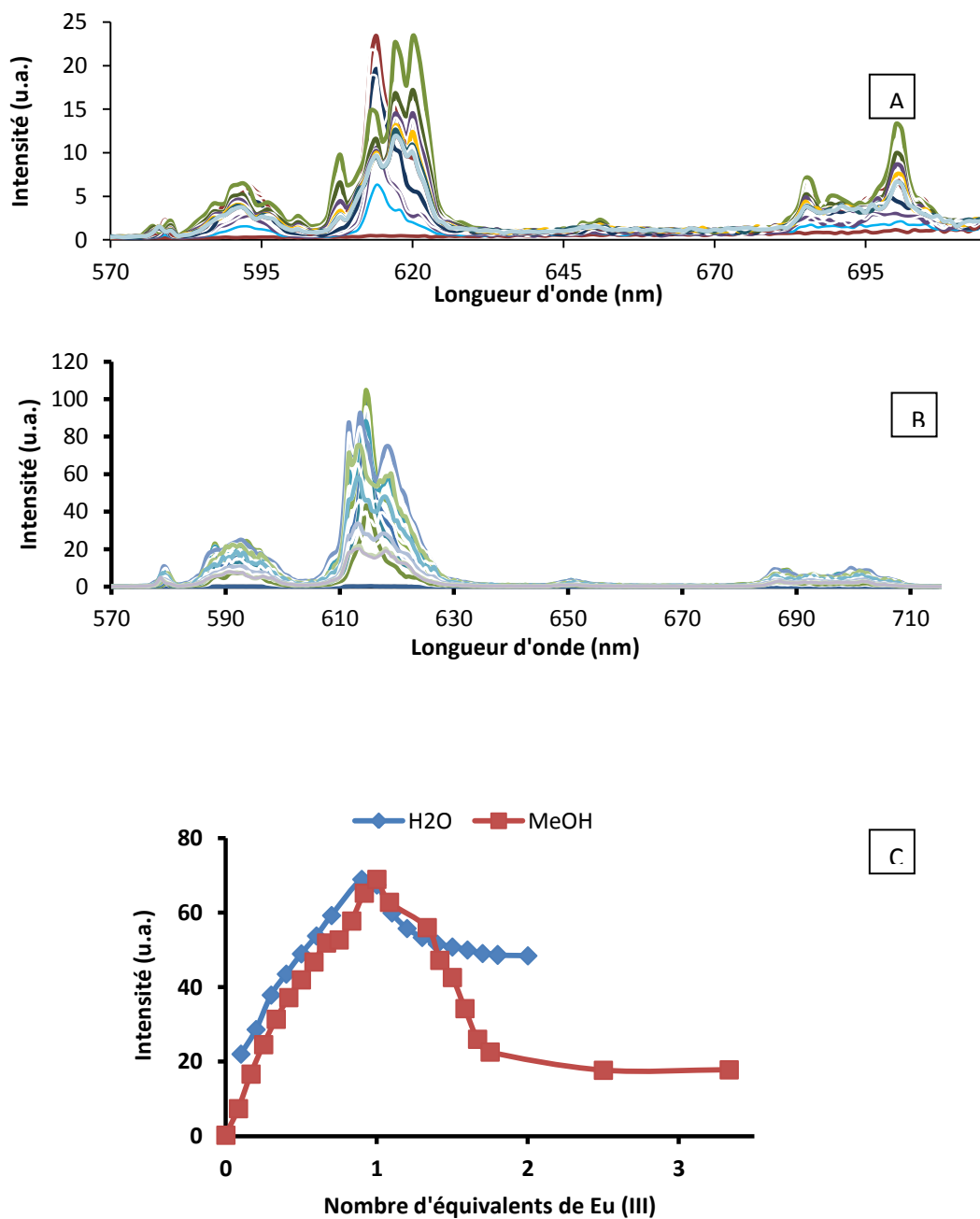


Figure 26. Titration d'une solution de  $L_6$  par addition d'Eu (III) en absorption électronique ( $H_2O/Tris-HCl(0,01M)$ ,  $pH=7,00$ ,  $[L_6]=5.10^{-5} M$ )

### 1.2.2 Titrages par addition d'euporium Eu(III) suivit par émission de fluorescence

Le titrage en émission de fluorescence fait apparaître les bandes d'émission du cation Eu(III) pour une excitation à 270 nm. Ces bandes ont été attribuées aux transitions  $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$  à 579 nm ( $J=0$ ), 583-603 nm ( $J=1$ ), 604-630 nm ( $J=2$ ), 650 nm ( $J=3$ ), 679-707 nm ( $J=4$ ) avec un maximum d'émission pour  $J=2$ . On observe les mêmes transitions avec le titrage dans le méthanol mais la transitions  $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$  est moins intense.

L'évolution de l'intensité d'émission de luminescence en fonction du nombre d'équivalents d'euporium montre une différence entre les deux solvants. Le titrage en milieu aqueux révèle que le maximum d'émission est atteint à 1 équivalent de métal et que celui-ci diminue pour atteindre un plateau à 1,5 équivalents. Cette évolution indiquerait la formation de complexe de type ML et  $M_3L_2$ . Le titrage en milieu organique atteint le plateau à 2 équivalents ce qui supposerait la formation de complexe de type ML et  $M_2L$ . La capacité du ligand  $L_6$  à former des complexes  $M_2L_3$  ou  $M_3L_2$  laisse supposer la possible interaction des alcools tertiaires. Nous avons donc décidé de les protéger avec un groupement méthyle en synthétisant le ligand  $L_7$ .



**Figure 27.** Titration d'une solution de  $L_6$  par addition d'euporium  $Eu(III)$  suivit par émission de fluorescence (A.  $H_2O/Tris-HCl(0,01M)$ , pH=7,00,  $[L_6]=5.10^{-5}M$ , B.  $MeOH/Et_3N$ ,  $[L_6]=5.10^{-5}M$ , C. Intensité d'émission en fonction du nombre d'équivalents d' $Eu(III)$ )

## 2. Etude du ligand L<sub>7</sub>

### 2.1 Synthèse du ligand L<sub>7</sub>

Le ligand L<sub>6</sub> est alkylé par une réaction de Williamson en présence de large excès de NaH et d'iodométhane dans le diméthylsulfoxyde à température ambiante. Dans un second temps, nous avons additionné une solution de soude afin d'éviter la formation d'ester méthylique qui compliquerait la purification. Le ligand L<sub>7</sub> est obtenu après filtration sur silice C18 et purification par chromatographie sur phase inverse. Le spectre RMN <sup>1</sup>H montre l'apparition du singulet « f » qui intègre pour 6 protons à 3,15 ppm.

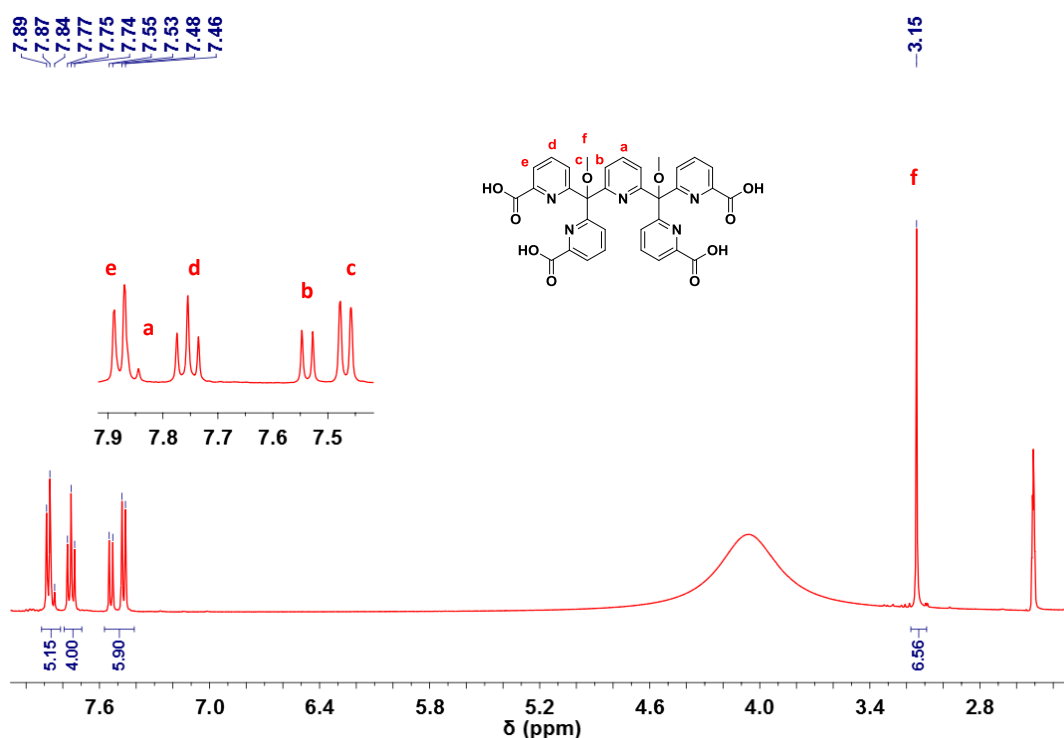
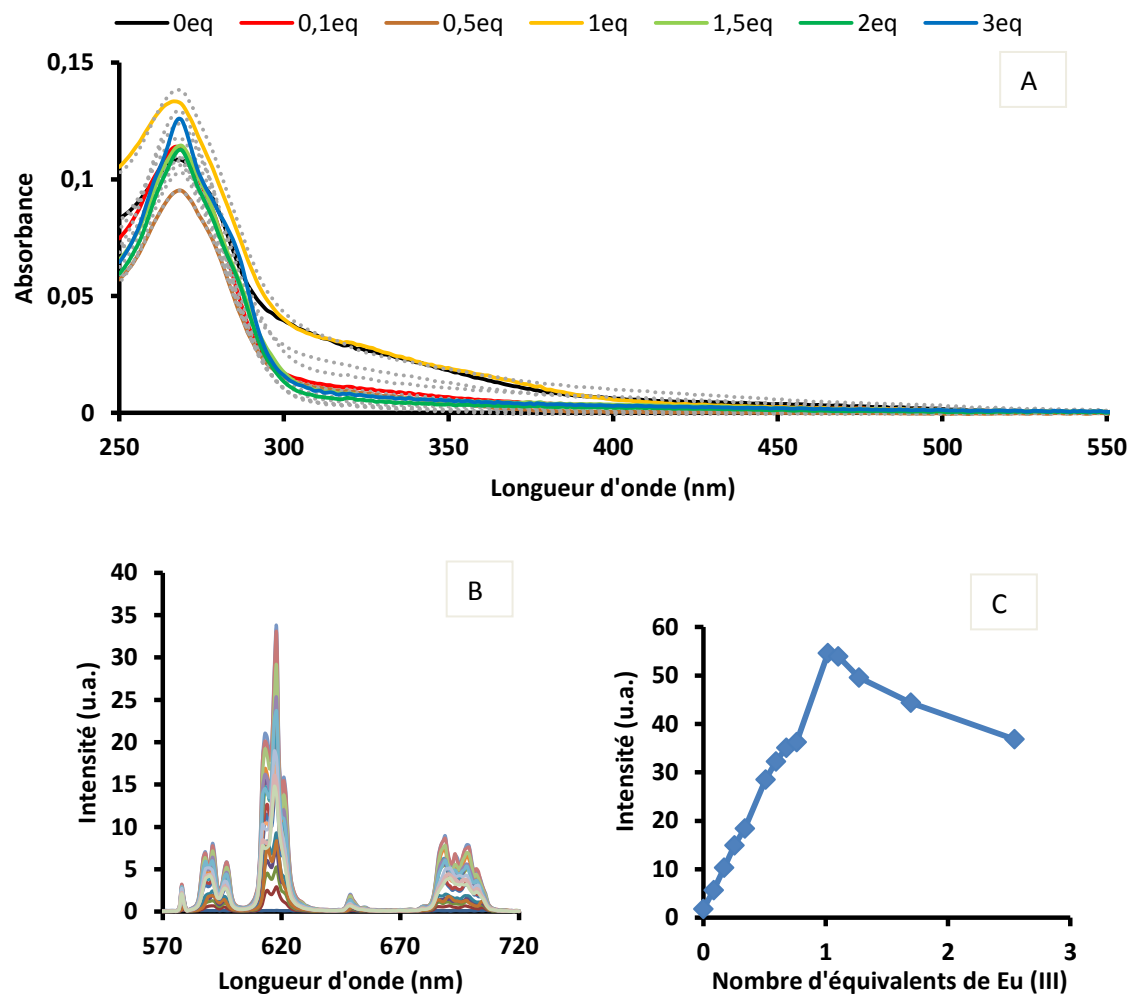


Figure 28. Spectre RMN <sup>1</sup>H du ligand L<sub>7</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz)

### 2.2 Etudes spectroscopiques du ligand L<sub>7</sub>

Le titrage suivi par absorption électronique montre une déviation de la ligne de base entre 0 et 1 équivalent d'ion Eu(III) indiquant un souci de solubilité au cours du titrage. Mais le titrage en émission du ligand dévoile la formation principale d'un complexe de type ML. A partir de ce titrage, nous avons décidé de synthétiser les complexes isolés de lanthanides de L<sub>7</sub>



**Figure 29.** Etudes spectroscopiques du ligand  $L_7$  ( $H_2O/Tris-HCl(0,01 M)$ ,  $pH=7,00$ ,  $[L_7]=4,58.10^{-5} M$  ; A. Titrage d'une solution de  $L_7$  suivit par absorption électronique par addition d' $Eu(III)$ , B. Titrage suivit par émission de fluorescence, C. Intensité totale d'émission en fonction du nombre d'équivalents d' $Eu(III)$ )

### 3. Etude des complexes isolés de $L_7$

#### 3.1. Synthèse des complexes isolés

Nous avons décidé de synthétiser les complexes  $[LnL_7]^-$  d'euprium, de terbium et de lutécium. La synthèse est réalisée en présence de  $L_7$ , de triéthylamine et d'un chlorure de lanthanide hexahydrate dans le méthanol. On remarque pendant la synthèse de ces trois complexes, la précipitation instantanée de l'éventuel complexe. Cette précipitation peut aussi être induite par la formation de polymères insolubles.

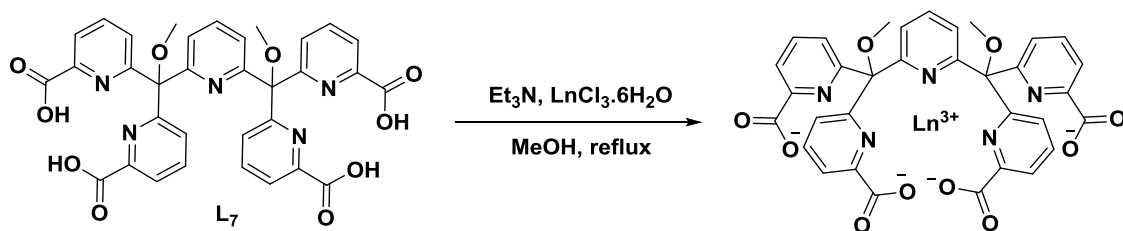


Figure 30. Synthèse des complexes de lanthanides de  $L_7$

Le spectre RMN du complexe de lutécium montre des signaux très larges ne donnant aucune information sur sa structure. La difficulté de solubiliser ce complexe dans les différents solvants deutérés nous limite dans cette investigation. La tentative de cristallisation n'a rien donné.

### 3.2. Etude spectroscopique des complexes isolés

Le spectre d'émission du complexe d'euporium  $[EuL_7]^-$  montre les transitions de l'euporium  $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$  (Figure 31). Le spectre d'excitation est superposable au spectre d'absorption. Le temps de luminescence de ce composé nous donne une seule composante de 0,43 ms en milieu aqueux et de 2,32 ms dans le  $D_2O$  ce qui induirait la complexation de deux molécules d'eau dans la première de sphère de coordination. On suppose que seulement trois des quatre groupements picoliniques et la pyridine centrale, de  $L_7$  se coordinent au métal. Le complexe de terbium isolé  $[TbL_7]^-$  montre les transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$  du terbium avec un maximum d'émission à 545 nm (Figure 32). L'étude du temps de vie de luminescence indique la présence de deux composantes. La composante courte de 0,742 ms (27%) correspondrait d'après notre calcul à une espèce avec 5 molécules d'eau dans la première sphère de coordination et la composante longue de 1,22 ms (73%), à une espèce avec deux molécules d'eau en première sphère. Ces différents données nous montrent la difficulté d'obtenir un complexe  $[LnL_7]$  stable dans lequel les quatre acides picoliniques se coordinent au métal.

Nous avons supposé que la structure contrainte du ligand empêche le métal de se complexer correctement aux quatre acides picoliniques. Nous avons décidé de synthétiser le ligand  $L_8$  analogue de  $L_6$  mais la pyridine centrale est remplacée par une bipyridine afin d'y apporter plus de flexibilité au ligand et faciliter la complexation.



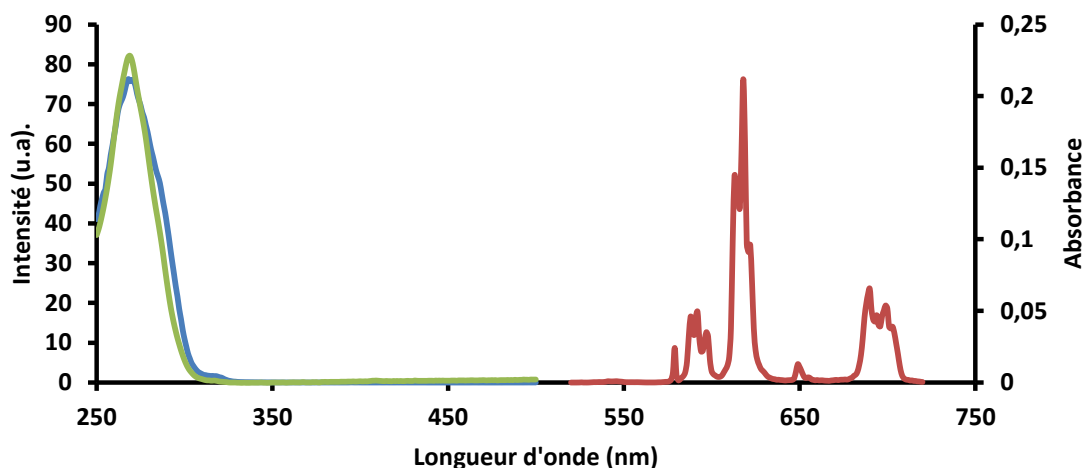


Figure 31. Spectre d'absorption (vert), spectre d'excitation (bleu –  $\lambda_{emi}=618$  nm) et d'émission du complexe  $[EuL_7]$  (rouge –  $\lambda_{exc}=274$  nm)

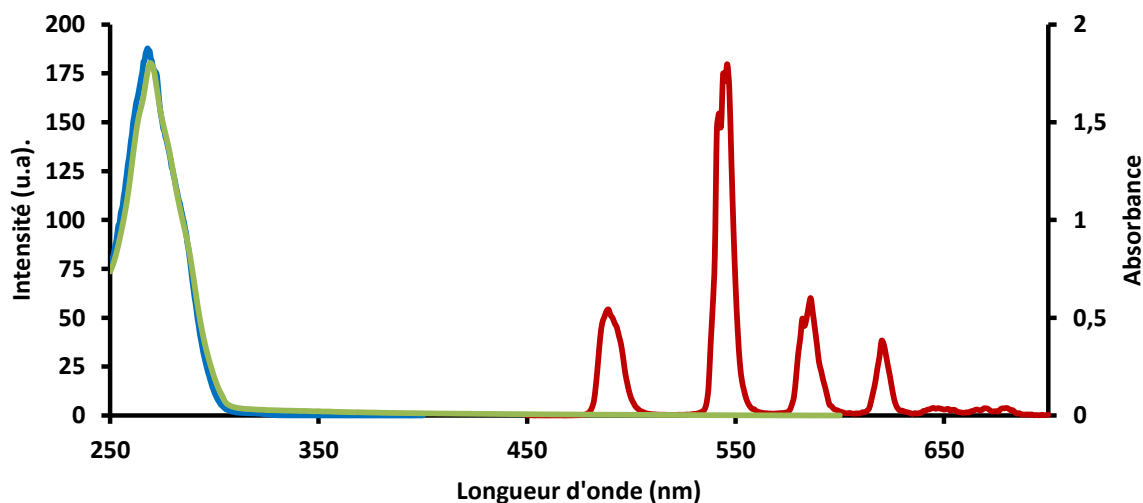


Figure 32. Spectre d'absorption (vert), spectre d'excitation (bleu –  $\lambda_{emi}=545$  nm) et d'émission du complexe  $[TbL_7]$  (rouge –  $\lambda_{exc}=274$  nm)

### III. Ligand bipyridine-tétrapicolinique

#### 1. Etude du Ligand $L_8$

##### 1.1. Synthèse du ligand $L_8$

La 6,6'-diméthyl-2,2'-bipyridine est synthétisé par un couplage d'Ullmann catalysé par le chlorure de nickel (II) en présence de zinc, de diode et de chlorure de lithium.<sup>8</sup> Elle est oxydée en di-acide **39**. Le ligand  $L_8$  est obtenu à partir de cet acide par la voie de synthèse similaire à celle de  $L_6$  (Figure 33). Le ligand est caractérisé par spectroscopie de masse et par RMN  $^1H$ . L'analyse RMN a été faite dans l'eau en milieu basique afin d'observer une meilleure résolution des signaux. On distingue les doublets et le triplet correspondant aux protons de la

bipyridine à 7,07, 7,35 et 7,58 ppm. Les doublets et le triplet des protons de l'acide picolinique sont compris entre 7,56 et 7,87 ppm.

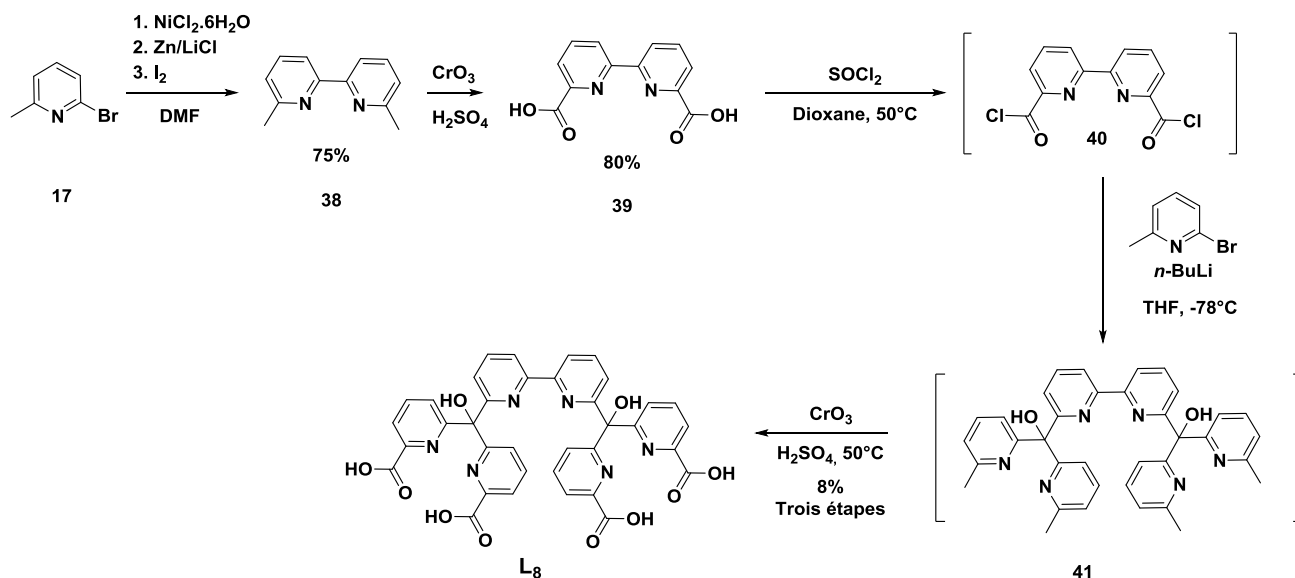


Figure 33. Synthèse du ligand L<sub>8</sub>

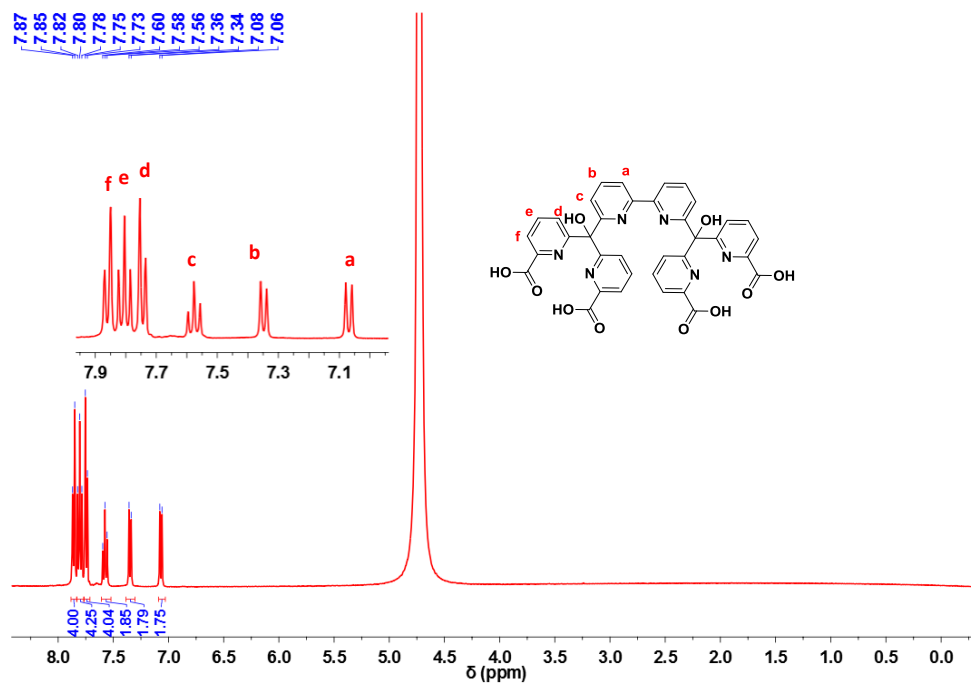


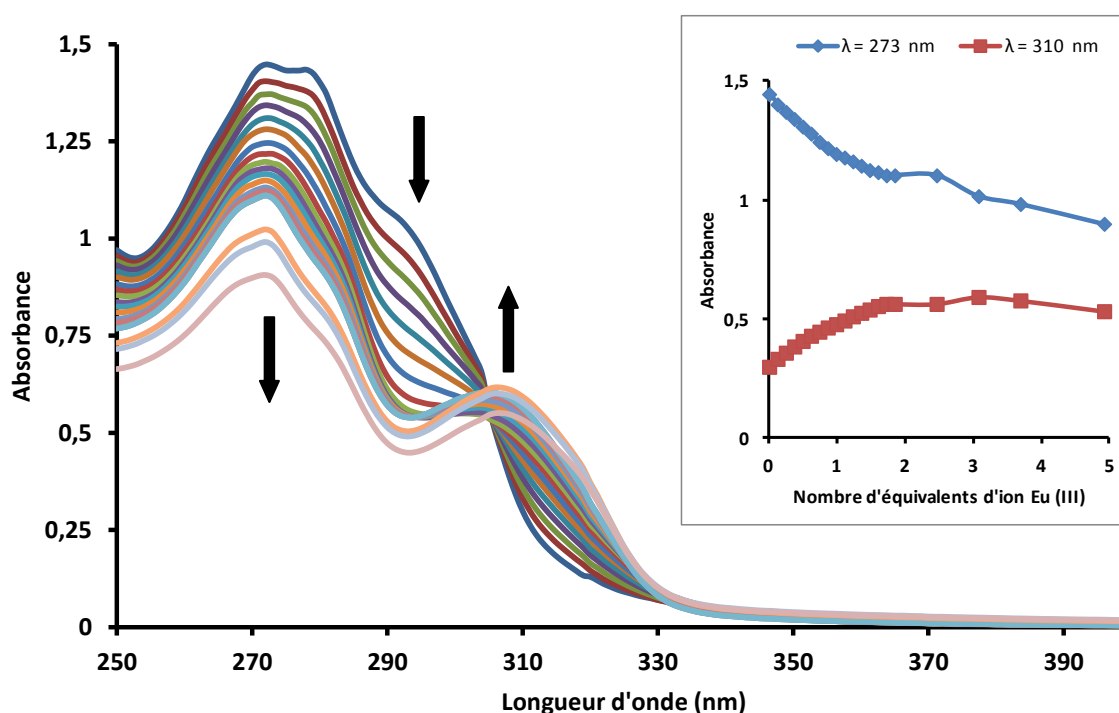
Figure 34. Spectre RMN <sup>1</sup>H du ligand L<sub>8</sub> (D<sub>2</sub>O+NaOD, 400 MHz)

## 1.2. Etudes spectroscopiques du ligand $L_8$

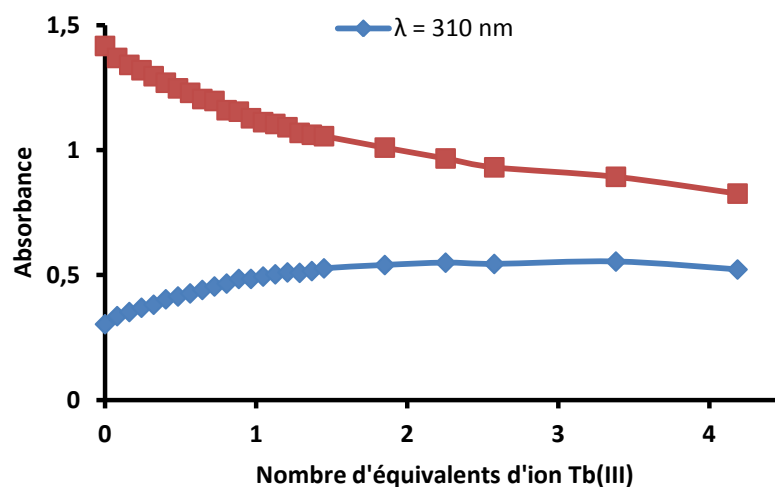
Nous avons réalisé des titrages par addition d'euprium en absorption électronique et émission de fluorescence afin d'étudier le comportement de  $L_8$  en présence de lanthanides. Le titrage a été en réalisé en milieux aqueux.

### 1.2.1. Titrages par addition d'Eu(III) et Tb(III) suivit par absorption électronique

Le spectre d'absorption du ligand présente une bandes d'absorption intense à 272 nm correspondant à la supersposition des transitions électroniques  $\pi \rightarrow \pi^*$  des acides picoliques et de la bipyridine (**Figure 35**).<sup>7</sup> Le coefficient d'absorption molaire maximale est de  $28950 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  à 272 nm. Le titrage par addition d'Eu(III) montre un effet bathochrome à 305 nm induit par le changement de conformation des bipyridines qui passent en conformation *cis* qui présente un niveau d'énergie différent. Cet effet bathochrome se stabilise après ajout de deux équivalents d'euprium laissant supposer la formation d'un complexe  $M_2L$ . On observe une évolution identique lors du titrage par addition de Tb(III) (**Figure 36**).



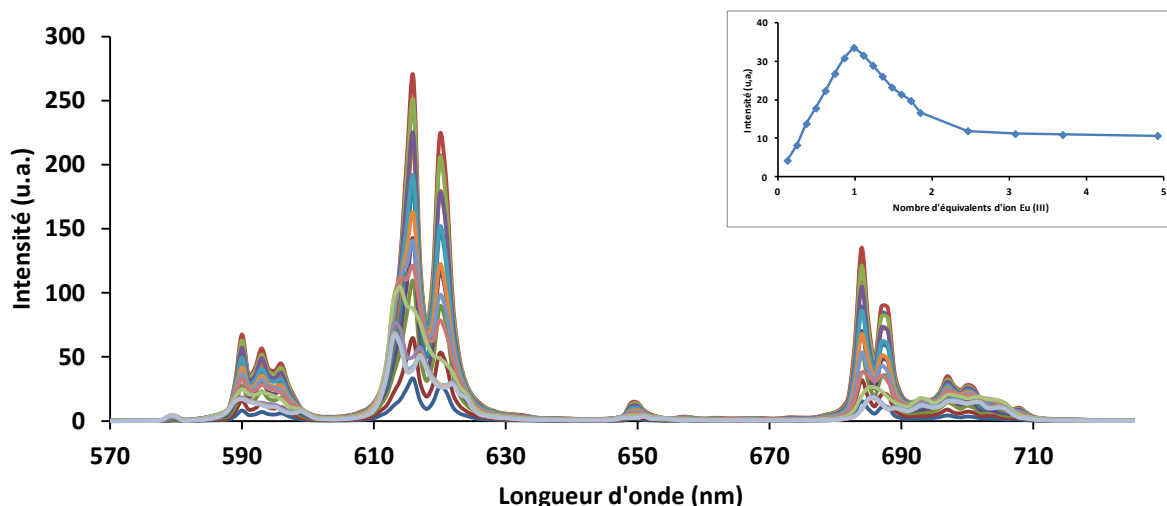
**Figure 35.** Titrage d'une solution de  $L_8$  par addition d'Eu (III) en absorption électronique ( $H_2O/Tris-HCl(0,01 \text{ M})$ ,  $pH=7,00$ ,  $[L_8]=5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ). Encart : Absorbance à  $\lambda = 273 \text{ nm}$  et  $\lambda = 310 \text{ nm}$  en fonction du nombre d'équivalent d'Eu(III)



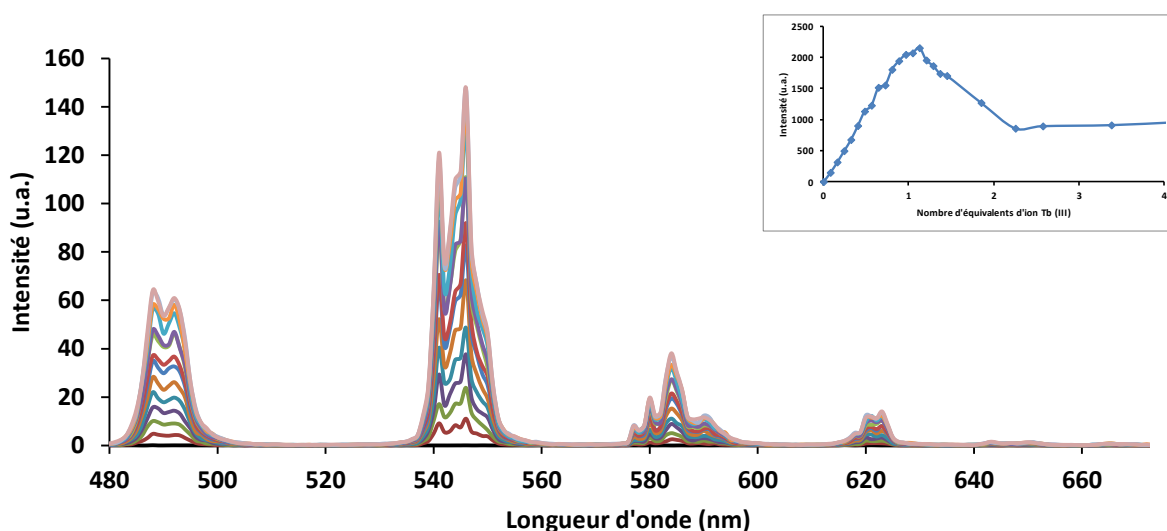
**Figure 36.** Titration d'une solution de  $L_8$  par addition de Tb (III) en absorption électronique ( $H_2O/Tris-HCl(0,01 M)$ ,  $pH=7,00$ ,  $[L_8]=5.10^{-5} M$ ).

### 1.2.2. Titrages par addition d'euporium Eu(III) et de Tb(III) suivit par émission de fluorescence

Le titrage en émission de fluorescence fait apparaître les bandes d'émission du cation Eu(III) pour une excitation à 270 nm (**Figure 37**). L'intensité d'émission augmente pour atteindre son maximum à 1 équivalent et diminue pour atteindre un plateau au delà de 2 équivalents. On peut en déduire la formation d'un complexe ML qui semble présenter une constante de stabilité élevée et la formation de complexe  $M_2L$  après addition d'un large excès de métal. Le titrage par addition de Tb(III) fait apparaître les bandes d'émission du cation Tb(III) et son évolution est identique au titrage par addition d'Eu(III) (**Figure 38**). D'après ces études initiales,  $L_8$  est un ligand adapté à la formation de complexe mononucléaire.



**Figure 37.** Titrage d'une solution de  $L_8$  par addition d'euporium  $Eu(III)$  en émission de fluorescence ( $\lambda_{exc}=270$  nm ;  $H_2O/Tris-HCl(0,01 M)$ ,  $pH=7,00$ ,  $[L_8]=5.10^{-5}M$ ). Encart : Intensité totale d'émission en fonction du nombre d'équivalents d' $Eu(III)$



**Figure 38.** Titrage d'une solution de  $L_8$  par addition d'euporium  $Tb(III)$  en émission de fluorescence ( $\lambda_{exc}=270$  nm ;  $H_2O/Tris-HCl(0,01M)$ ,  $pH=7,00$ ,  $[L_8]= 5.10^{-5}M$ ). Encart : Intensité totale d'émission en fonction du nombre d'équivalents de  $Tb(III)$

## 2. Synthèse et caractérisation du complexe mononucléaire de $L_8$

### 2.1. Synthèse du complexe $[Eu(L_8)]^-$

Nous avons tenté la synthèse du complexe mononucléaire d'euporium de  $L_8$  dans l'eau en présence de NaOH et de chlorure d'euporium hexahydrate dans des conditions très diluées ( $10^{-4} M$ ) afin d'éviter la formation de polymères. Le complexe  $[Eu(L_8)]^-$  est isolé par précipitation en présence d'éthanol.

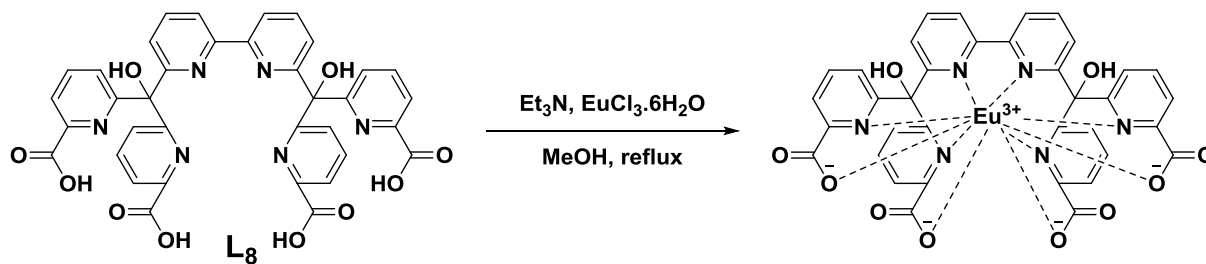


Figure 39. Synthèse du complexe  $[Eu(L_8)]^-$

## 2.2. Caractérisation par spectrométrie de masse de $[Eu(L_8)]^-$

$[Eu(L_8)]^-$  est caractérisé par spectrométrie de masse par ionisation électrospray (**Figure 40**). Nous observons un pic majoritaire à 849,04 m/z qui correspond bien au complexe  $[Eu(L_8)]^-$ . On observe la distribution isotopique parfaite pour l'ion  $Eu^{3+}$  lorsqu'on réalise un zoom sur ce pic. Ce zoom indique aussi la présence d'une seconde espèce dans des proportions plus faible correspondant au complexe  $[Eu_2(L_8)_2]^{2-}$  qu'on retrouve sous sa forme mono-chargé à 1697.07 m/z. Nous observons un second pic d'intensité élevé à 895.04 m/z correspondant au complexe  $[Eu(L_8)]^-$  en présence d'une molécule d'éthanol.

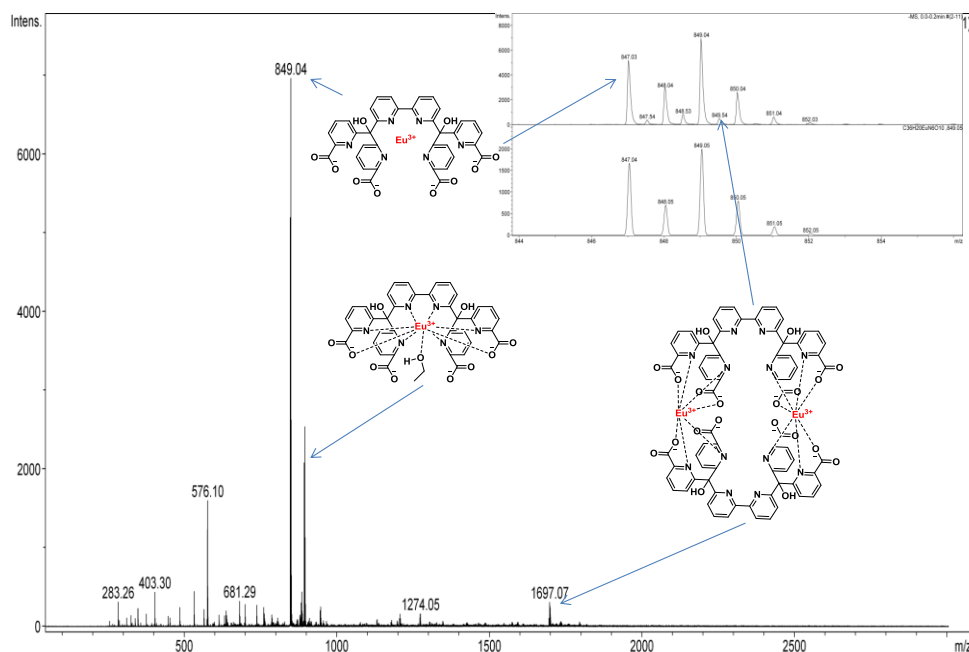
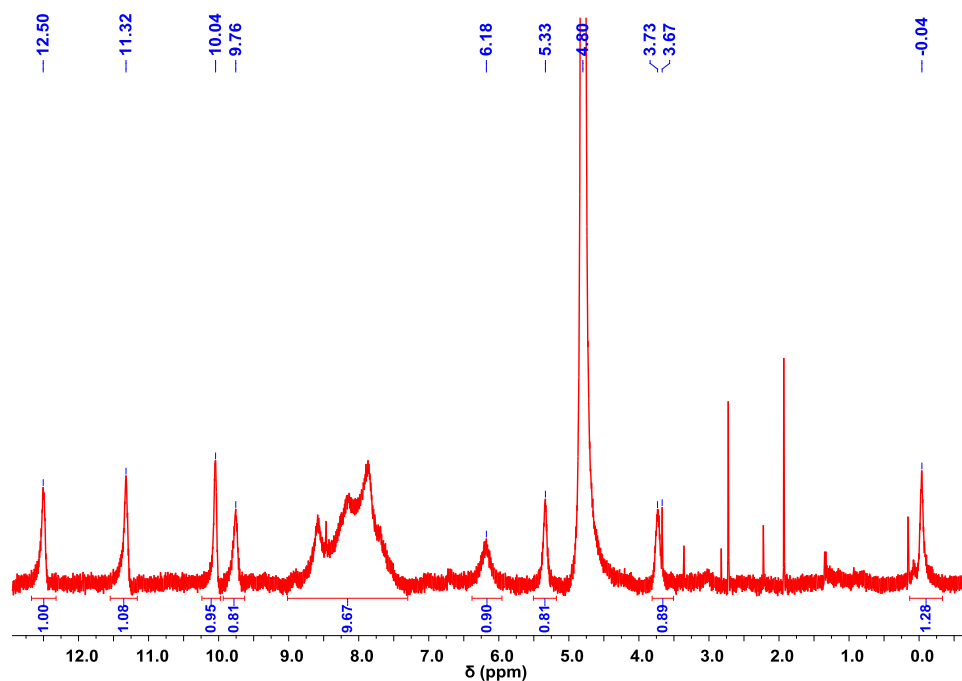


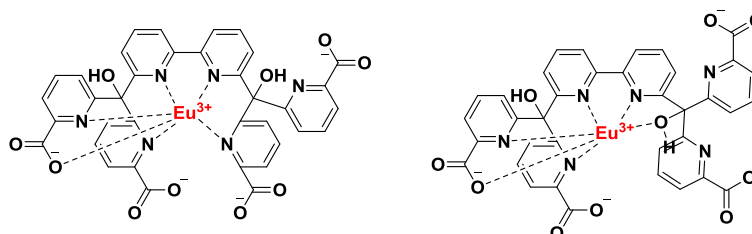
Figure 40. Analyse ESI(-) du complexe  $[Eu(L_8)]^-$ . Encart : zoom sur le pic à 849,04 m/z, spectre mesurée (haut) et spectre calculé (bas)

### 2.3. Caractérisation par RMN de $[Eu(L_8)]^-$

Nous avons réalisé l'analyse RMN (**Figure 41**) du complexe  $[Eu(L_8)]^-$  afin de vérifier qu'il s'agit d'un complexe mononucléaire symétrique. Nous observons au moins 9 signaux indiquant plutôt la présence d'un complexe dissymétrique car dans le cas contraire le nombre de signaux maximum serait de 6. Cette donnée combinée à l'analyse par spectrométrie de masse laisse supposer que le complexe est coordonné avec trois des quatre acides picoliniques formant un complexe octadentate (**Figure 42**). On peut supposer aussi que l'un des oxygènes d'une fonction alcool se coordine aussi au métal pour former un complexe heptadentate. L'optimisation de  $L_8$  nécessitera l'alkylation ou la substitution des fonctions alcool.



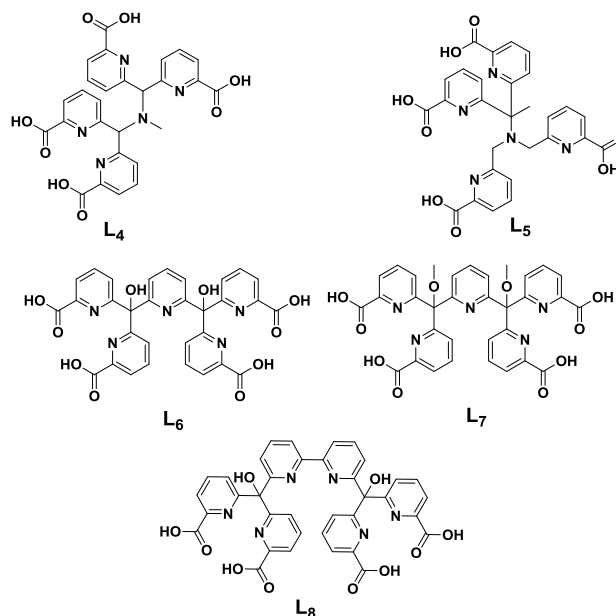
**Figure 41.** Spectre RMN  $^1H$  du complexe  $[Eu(L_8)]^-$  ( $D_2O$ , 400MHz)



**Figure 42.** Structure proposé pour le complexe  $[Eu(L_8)]^-$

## IV. CONCLUSION

Nous avons tenté de synthétiser le ligand **L<sub>4</sub>** capable d'après notre modélisation DFT de former un complexe monométallique d'euprium. La synthèse de ce ligand n'a pas été une réussite. Différentes voie de synthèse ont été envisagées, mais il a été très difficile de maîtriser la réaction des ponts méthine. Nous avons eu des difficultés similaires pour la synthèse du ligand **L<sub>5</sub>**.



Ensuite, nous nous sommes intéressés au ligand **L<sub>7</sub>** et **L<sub>8</sub>**, des ligands polypyridinique composé de 5 groupements chromophoriques qui ont l'avantage d'être synthétisée en peu d'étapes. Les titrages spectroscopiques ont montré la capacité de ces ligands à former des complexes monométalliques. Actuellement, nous avons des difficultés à caractériser les complexes isolés de ces ligands. Ils nécessitent plus d'investigations d'un point de vue synthétique notamment par la protection ou la substitution des fonctions alcools de **L<sub>6</sub>** et **L<sub>8</sub>** afin d'éviter leur interaction avec le métal, ce qui empêcherait une coordination correct des quatres acides picoliques. Les perspectives pour **L<sub>7</sub>** et **L<sub>8</sub>** sont très intéressantes car après modulations des acides picoliniques nous pourrions obtenir des ligands avec un coefficient d'extinction molaire élevé et atteindre des longueurs d'ondes supérieures à 310 nm. Ces différentes caractéristiques combinées à un rendement quantique élevé permettraient de développer des complexes de lanthanide (Eu ou Tb) avec une excellente brillance.



## V. BIBLIOGRAPHIE

- (1) Chatterton, N.; Bretonnière, Y.; Pécaut, J.; Mazzanti, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (46), 7595–7598.
- (2) Renz, M.; Hemmert, C.; Meunier, B. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 1998 (7), 1271–1273.
- (3) Chatterjee, S.; Sheet, D.; Paine, T. K. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (87), 10251–10253.
- (4) Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2* (1), 635–646.
- (5) Goldsmith, C. R.; Jonas, R. T.; Stack, T. D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (1), 83–96.
- (6) Horrocks, W. D.; Sudnick, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (2), 334–340.
- (7) Renaud, F.; Piguet, C.; Bernardinelli, G.; Bünzli, J.-C. G.; Hopfgartner, G. *Chem. – Eur. J.* **1997**, *3* (10), 1646–1659.
- (8) Liao, L.-Y.; Kong, X.-R.; Duan, X.-F. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (2), 777–782.





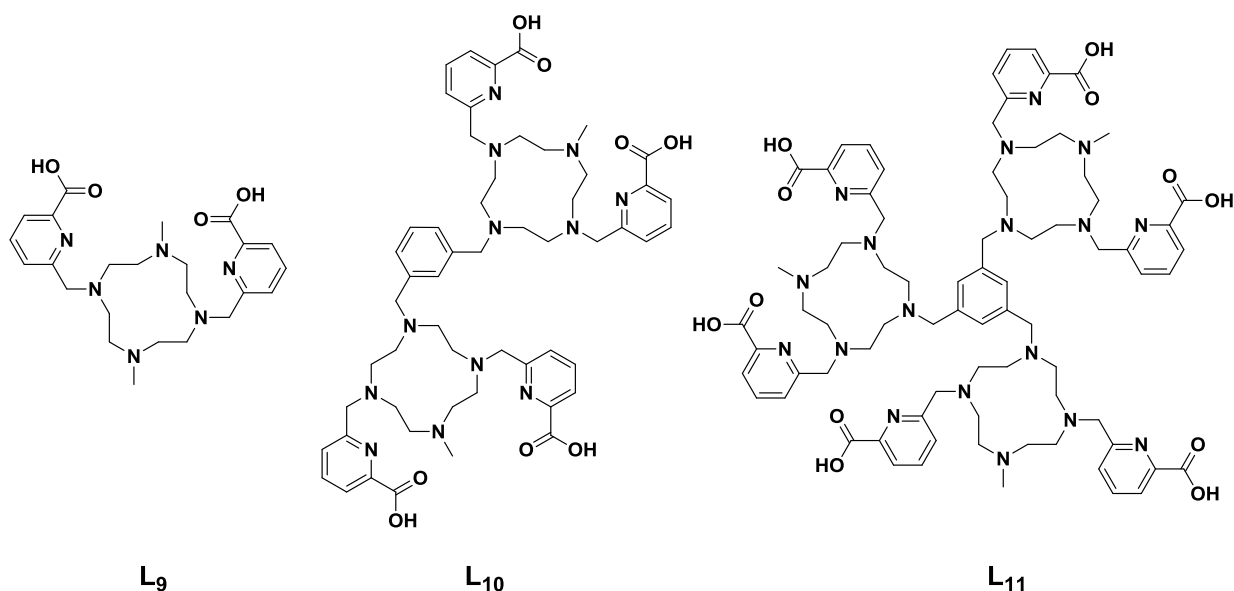


**CHAPITRE IV :**  
**LIGANDS BENZYL-CYCLENE**



## I. Etudes des complexes mono, di et trinocléaires

Dans les chapitres précédents, l'objectif était de synthétiser des complexes monométalliques avec un ligand composé d'un nombre important de chromophores. Nous avons développé une nouvelle stratégie qui consiste à augmenter le nombre de sites de complexation. Les travaux antérieurs au laboratoire ont montré que pour certains composés dinucléaires, les ions Ln (III) peuvent montrer des propriétés de transfert d'énergie intramoléculaire.<sup>1</sup> Nous avons voulu savoir si l'augmentation du nombre de chromophores et du nombre de sites de coordination permettait d'ajouter les propriétés photophysiques des complexes de lanthanides. La recherche a été axée sur la synthèse de complexes à base de cyclènes et d'acides picoliniques. Nous nous sommes intéressés à la synthèse de trois ligands (**Figure 1**) : mono- (**L<sub>9</sub>**), di- (**L<sub>10</sub>**) et tri-topique (**L<sub>11</sub>**). Le ligand **L<sub>9</sub>** a été développé par le groupe du Dr Carlos Platas-Iglesias. Ce ligand est composé de huit atomes coordinants et les travaux ont montré l'importance des groupements méthyles permettant d'éviter la présence de molécules d'eau dans la première sphère de coordination.<sup>2</sup> Les ligands **L<sub>10</sub>** et **L<sub>11</sub>** sont composés respectivement de deux et trois unités de **L<sub>9</sub>** cependant ils sont reliés par un espaceur benzylique. Ces trois ligands vont permettre la synthèse de complexes mono-, di et trinocléaires d'euprium et de terbium.



*Figure 1. Structure des ligands L<sub>9</sub>, L<sub>10</sub> et L<sub>11</sub>*

## 1. Synthèses des ligands et des complexes

### 1.1 Synthèse des complexes mononucléaires

#### 1.1.1 Synthèse du ligand L<sub>9</sub>

La synthèse du ligand mono-nucléaire a été décrite dans la littérature en utilisant la voie du cyclène-glyoxal.<sup>2</sup> Ces composés présentent une configuration cis pliée induisant une discrimination entre les deux paires d'azote opposées (*exo* et *endo*) (**Figure 2**). Les azotes en *exo* présentent un caractère nucléophile beaucoup plus marqué, entraînant la formation préférentielle de cyclène di substitués en position 1 et 7 plutôt que les alternatives 4 et 10.<sup>3,4</sup>

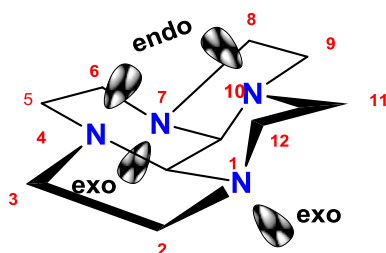


Figure 2. Structure du cyclène-glyoxal

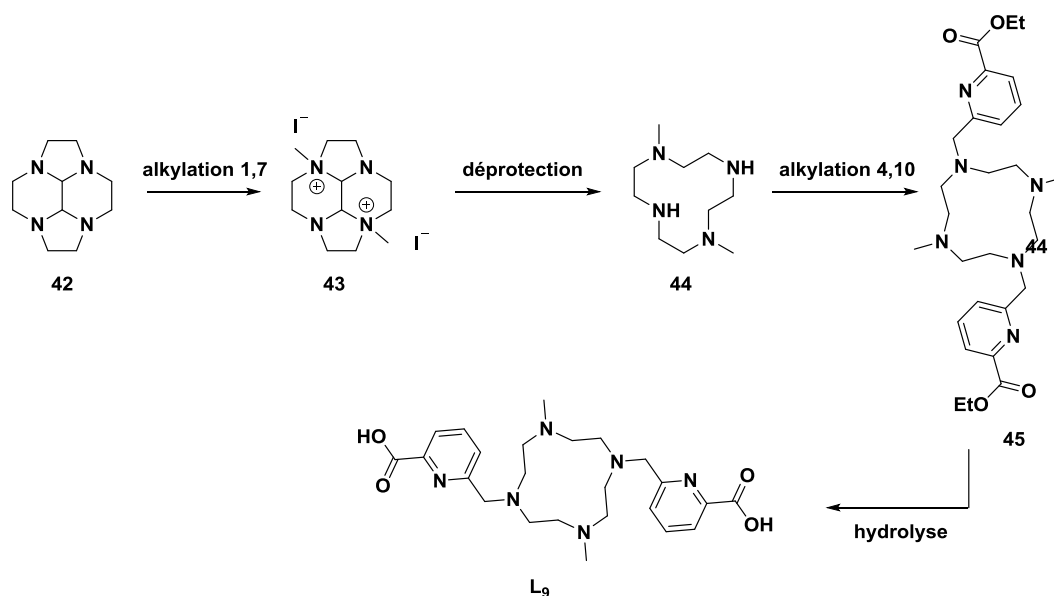


Figure 3. Synthèse du ligand L<sub>9</sub> par la voie du cyclène-glyoxal<sup>2</sup>

La synthèse du ligand L<sub>9</sub> a été développée par une autre voie afin de synthétiser simultanément le composé **51**, précurseur important pour la synthèse du ligand ditopique. Le cyclène est protégé en position 1 et 7 par un groupement protecteur tert-butoxycarbonyl.<sup>5</sup> Deux équivalents du méthyl 6-(chlorométhyl)picolinate **47** sont utilisés pour l'alkylation sur le cyclène déprotégé **48** en présence de carbonate de sodium dans l'acétonitrile afin d'obtenir le composé **49**. Ce composé a été alkylé en présence d'iodométhane, de carbonate de sodium



et donne le cyclène tétra-fonctionnalisé **50** qui permet d'accéder au ligand par hydrolyse basique des fonctions esters. Les composés **48**, **49**, **50** et **L<sub>9</sub>** ont été synthétisés et caractérisés dans la littérature.<sup>2</sup>

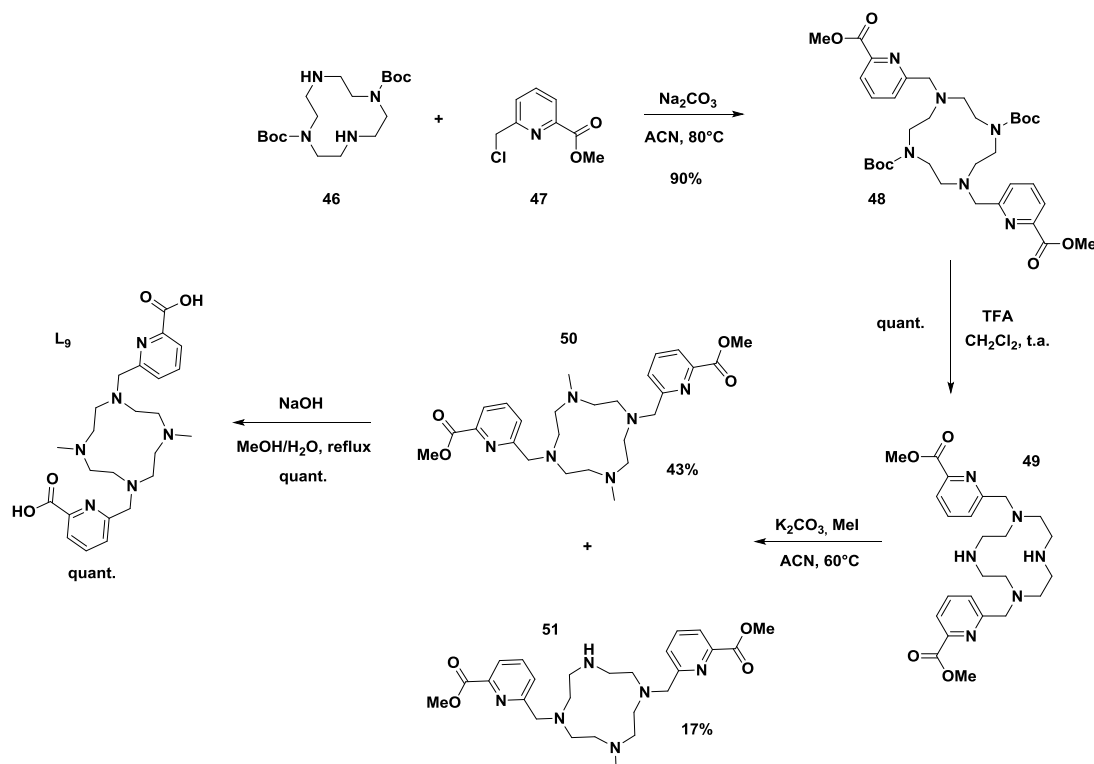


Figure 4. Voie de synthèse du ligand **L<sub>9</sub>** utilisé au laboratoire

### 1.1.2 Synthèse des complexes $[\text{EuL}_9]^+$ et $[\text{TbL}_9]^+$

Les complexes d'euprium et de terbium de **L<sub>9</sub>** ont été synthétisés en présence du chlorure de terbium (ou d'euprium) hexahydrate et de triéthylamine dans le méthanol à reflux. Les complexes  $[\text{EuL}_9]^+$  et  $[\text{TbL}_9]^+$  ont été purifiés par précipitation et caractérisés par spectrométrie de masse (Figure 5).<sup>2</sup>

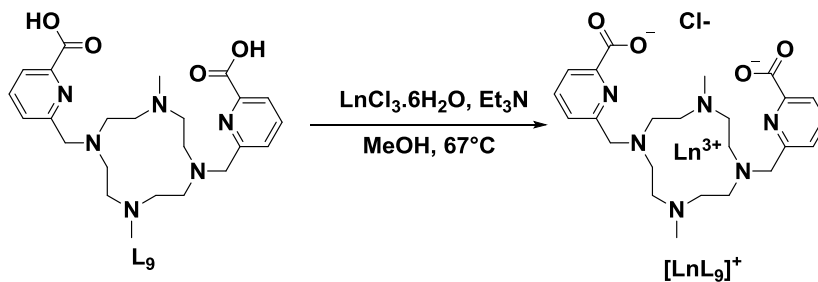


Figure 5. Schéma de synthèse des complexes mononucléaires

## 1.2 Synthèse des complexes dinucléaires

### 1.2.1 Synthèse du ligand ditopique L<sub>10</sub>

#### a. Voie de synthèse A

La synthèse du ligand ditopique a été envisagée par la voie du cyclène-glyoxal (**Figure 6**). Les composés **54** et **55** ont été synthétisés par Chang et *al* à partir des travaux de l'équipe du Pr Handel.<sup>6,4</sup> Nous avons tenté de réaliser la synthèse du composé **56** par N-fonctionnalisation en présence de carbonate de potassium et de chlorure de méthyl 6-(chlorométhyl)picolinate. Durant cette réaction, nous avons remarqué par spectrométrie de masse que le composé tétra-fonctionnalisé **56** est isolé en présence d'un produit secondaire penta-fonctionnalisé **57**. La purification sur gel d'alumine n'a pas permis de les séparer car ils présentent un rapport frontal identique.

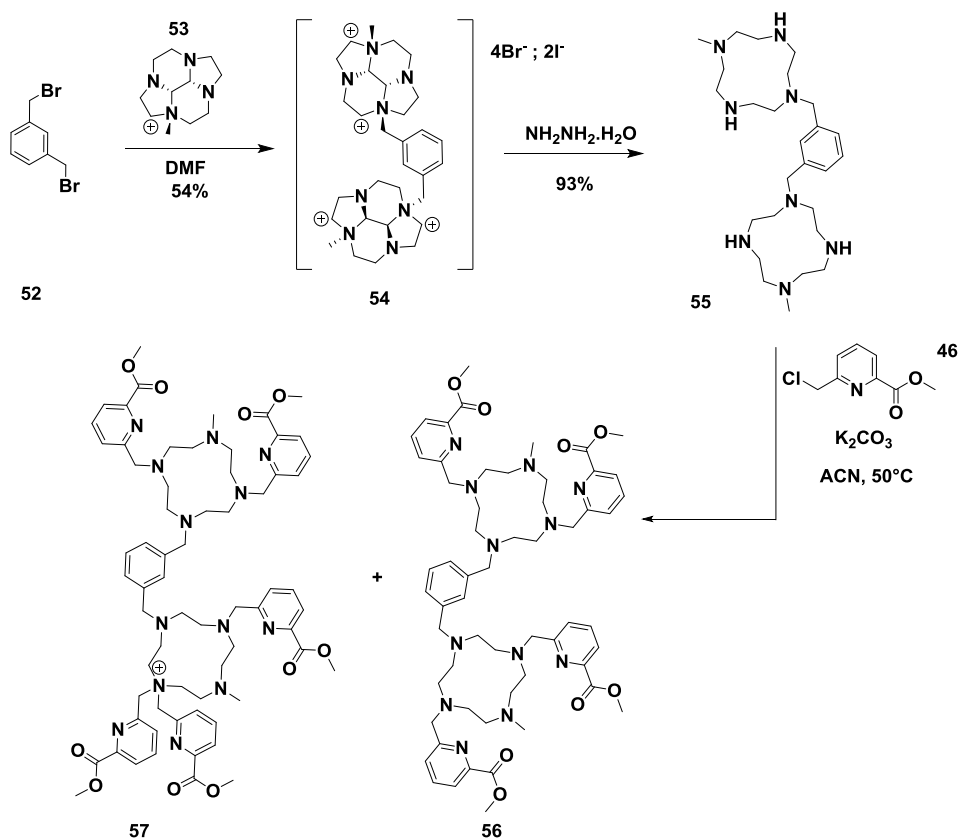
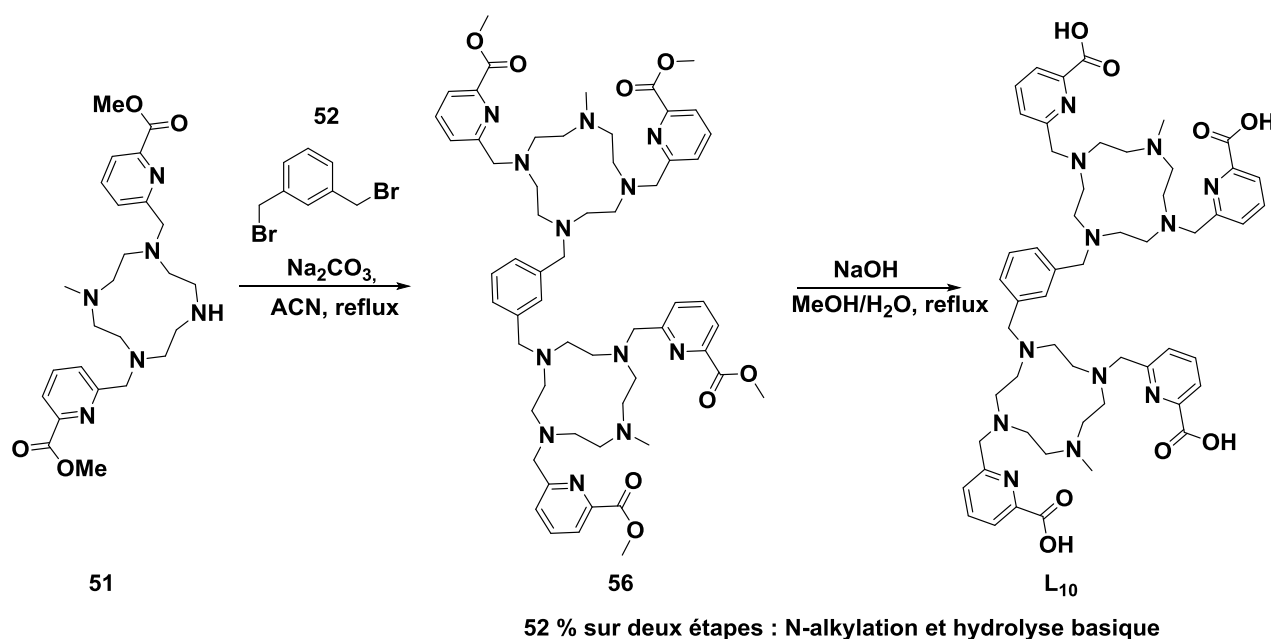


Figure 6. Schéma de synthèse du composé **53** par la voie A

## b. Voie de synthèse B

Le suivi de synthèse du composé **50** (**Figure 4**) permet d'obtenir le produit de monoalkylation **51**. Le tétra-ester **56** a été finalement obtenu par N-fonctionnalisation à partir du produit commercial 1,3-bis(bromométhyl)benzène **52** et du composé **51** en présence de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans l'acétonitrile (**Figure 7**).



**Figure 7.** Schéma de synthèse du ligand **L<sub>10</sub>**

L'analyse par RMN  $^1\text{H}$  du composé **56** montre des signaux larges et mal résolus. Une étude sur sa partie aromatique montre sa capacité à complexer le sodium durant la réaction (**Figure 8**). Le spectre RMN rouge, correspondant au composé isolé après purification sur gel d'alumine montre la présence de plusieurs signaux qui laisse penser la présence de plusieurs espèces. Après addition de chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ), on remarque que les signaux s'affinent (spectre bleu), ce qui nous permet d'attribuer les signaux correspondant. Cette capacité à complexer le sodium complique la purification et la caractérisation de ce composé. Sa caractérisation a été complétée par une analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) (**Figure 9**). On observe la présence d'un produit majoritaire à 92% avec un temps de rétention de 2,9 min. L'analyse de spectrométrie de masse révèle une masse de 1070,61 m/z ce qui concorde avec la masse théorique du tétra-ester **56**.

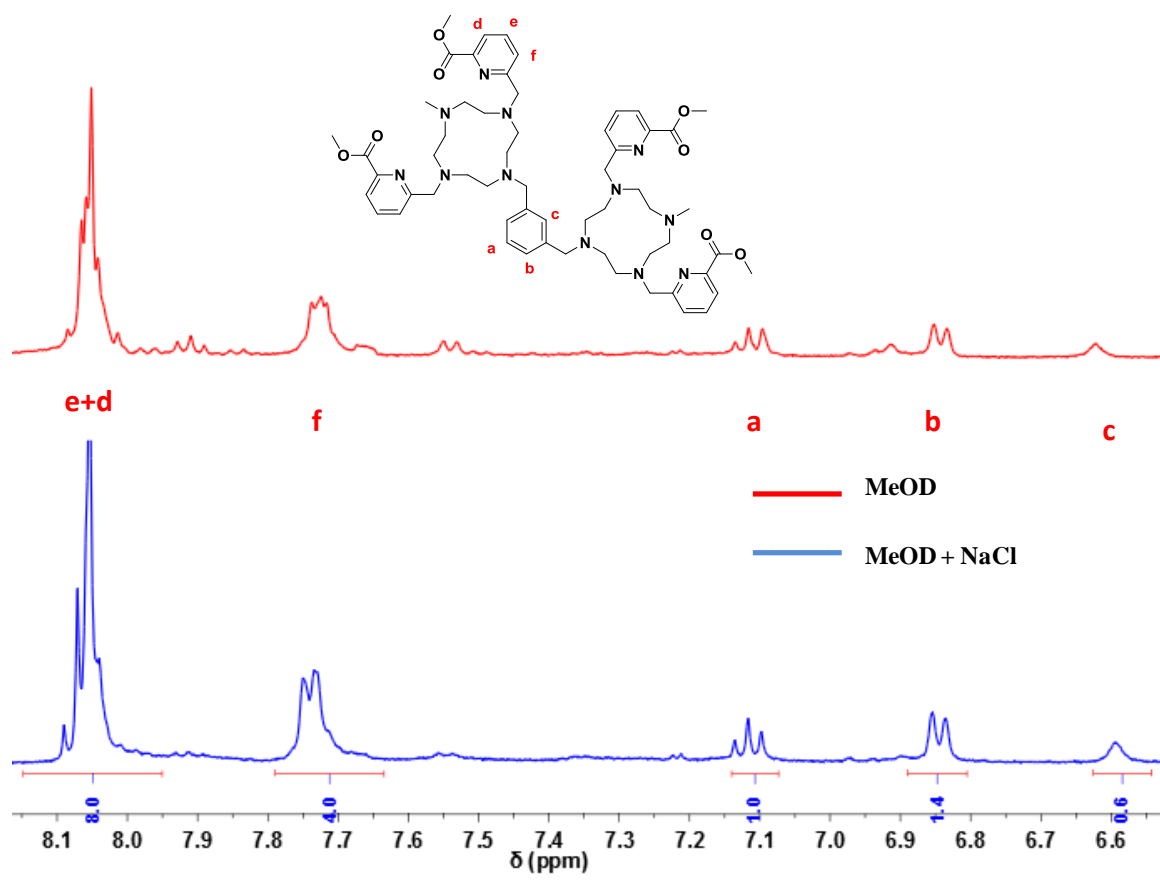


Figure 8. Analyse RMN 1H de la partie aromatique du composé 56 (MeOD, 400 Hz)

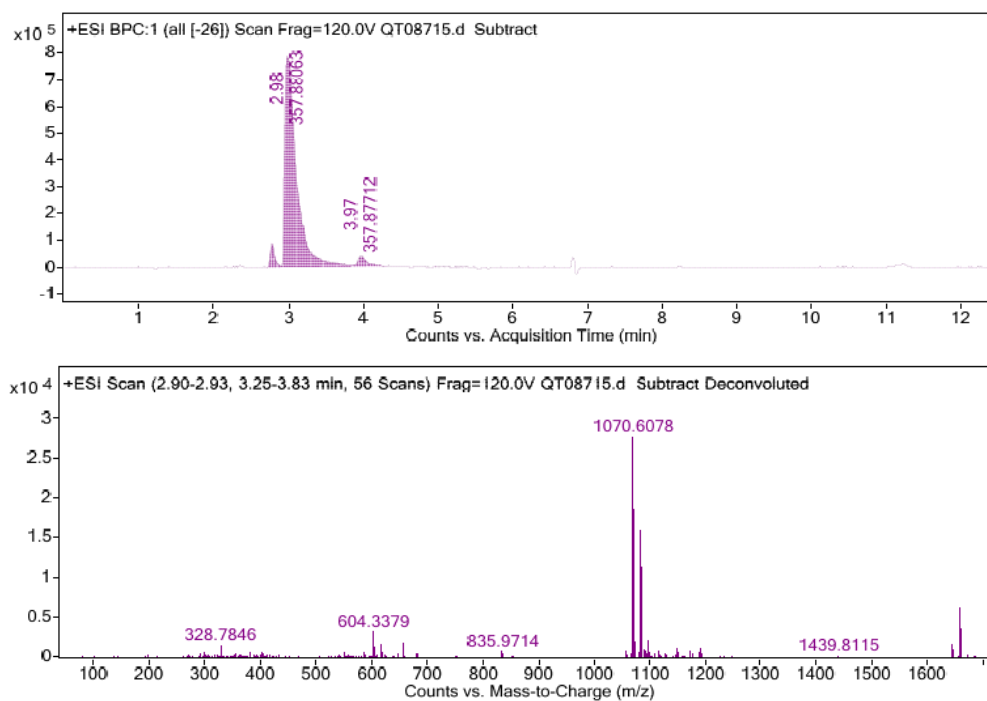


Figure 9. Analyse LC-MS du composé 56 ([ACN (+0.1%TFA) -  $\text{H}_2\text{O}$  (+0.1%TFA)] : gradient pendant 12 min - 5%-95% à 100%-0%)

Le ligand di-topique  $L_{10}$  est obtenu après hydrolyse basique des esters du composé **56** en présence de NaOH dans un mélange méthanol/eau. Il a été purifié par chromatographie en phase inverse et caractérisé par RMN  $^1H$  (Figure 10). On arrive à distinguer précisément les protons méthyliques à 2,65 ppm, les protons méthyléniques des cyclènes entre 2,83 et 3,43 ppm. Le système AB à 3,85 ppm est attribué aux protons « l » en alpha des acides picoliniques indiquant une rotation bloqué du carbone  $sp^3$ . Le singulet à 4,16 ppm est attribué aux protons méthyléniques « g » en alpha du benzène central. Les singulet large à 6,13 ppm et à 6,68 ppm sont attribués aux protons « c » et « b » du benzène central. On retrouve les protons de l'acide picoliniques avec le multiplet à 7,86 ppm et le doublet à 7,47 ppm.

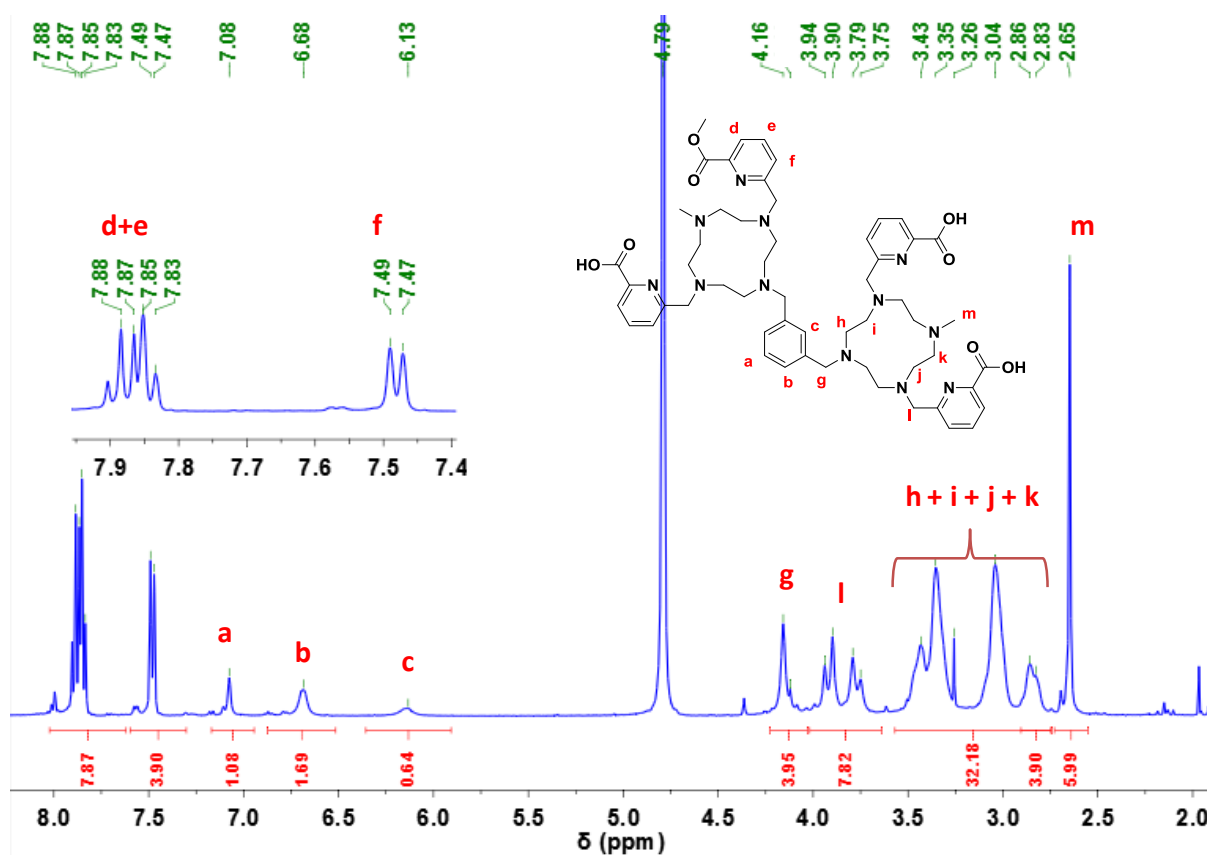


Figure 10. Analyse RMN  $^1H$  du ligand  $L_{10}$  ( $D_2O$ , 25°C, 400MHz)

### 1.2.2 Synthèse des complexes $[Eu_2(L_{10})]^{2+}$ et $[Tb_2(L_{10})]^{2+}$

Les complexes d'euprium et de terbium de  $L_{10}$  ont été synthétisés en présence du chlorure de terbium (ou d'euprium) hexahydrate et de diisopropyléthylamine (DIPEA) dans le butanol à reflux. (Figure 11)

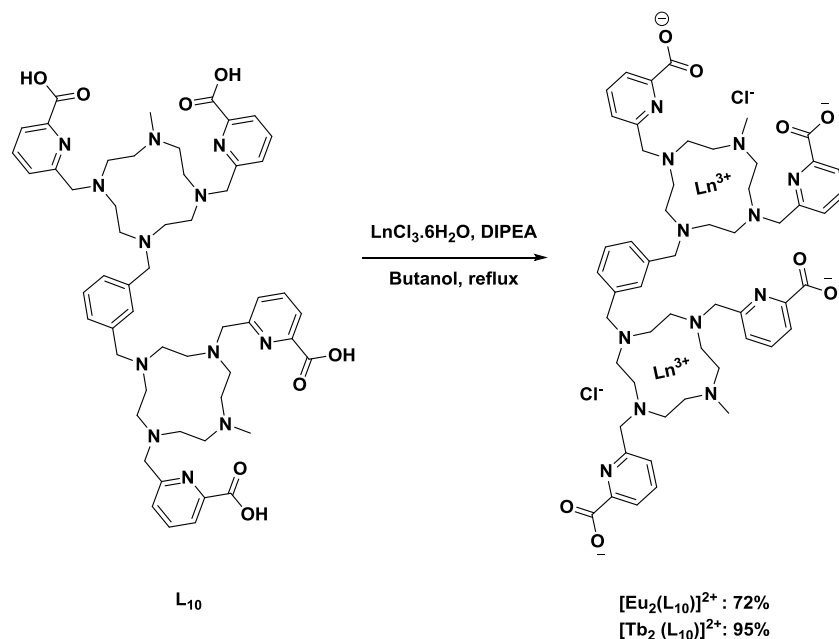


Figure 11. Schéma de synthèse des complexes dicucléaires

Les complexes  $[Eu_2(L_{10})]^{2+}$  et  $[Tb_2(L_{10})]^{2+}$  ont été purifiés par précipitation et caractérisés par spectroscopie de masse par ionisation électrospray (Figure 12). Le pic majoritaire pour  $[Eu_2(L_{10})]^{2+}$  est observé à 657,17 m/z et correspond bien au complexe dicationique. On observe une concordance parfaite de la distribution isotopique pour l'ion  $Eu^{3+}$  lorsqu'on réalise un zoom sur cette région du spectre et que l'on compare les différents pics obtenus expérimentalement à ceux obtenus théoriquement. Le pic majoritaire pour  $Tb_2(L_{10})]^{2+}$  est observé à 664.18 m/z concordant à la valeur théorique (Figure 13).

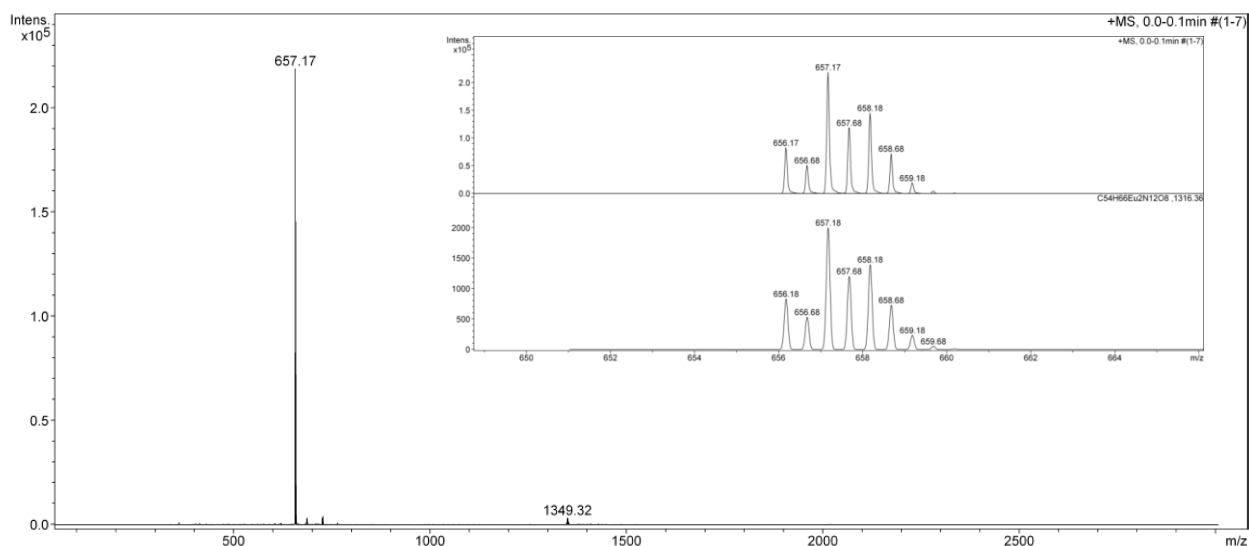
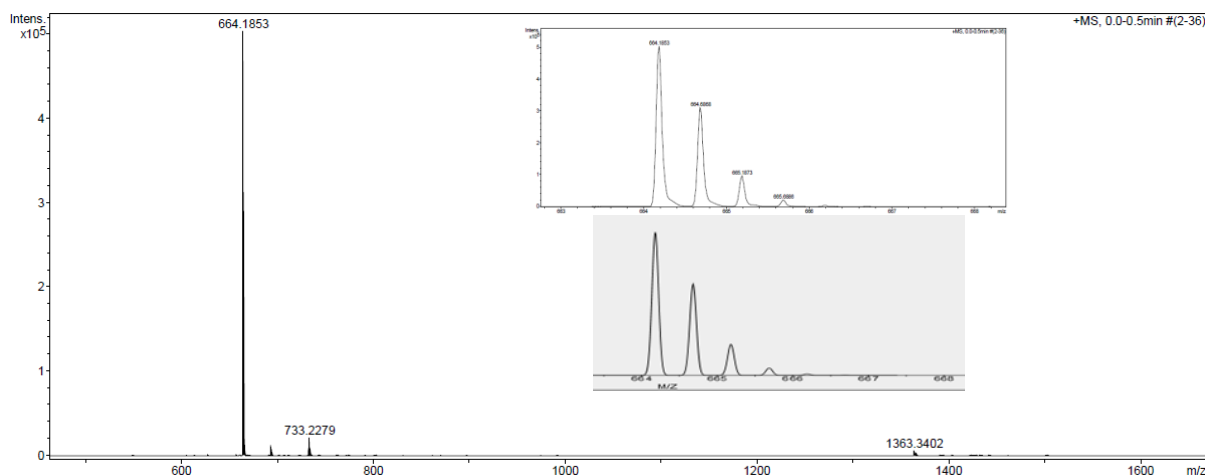


Figure 12. Analyse ESI(+) du complexe  $[Eu_2(L_{10})]^{2+}$ . Encart : zoom sur le pic à 657,17 m/z, spectre mesurée (haut) et spectre calculé (bas)

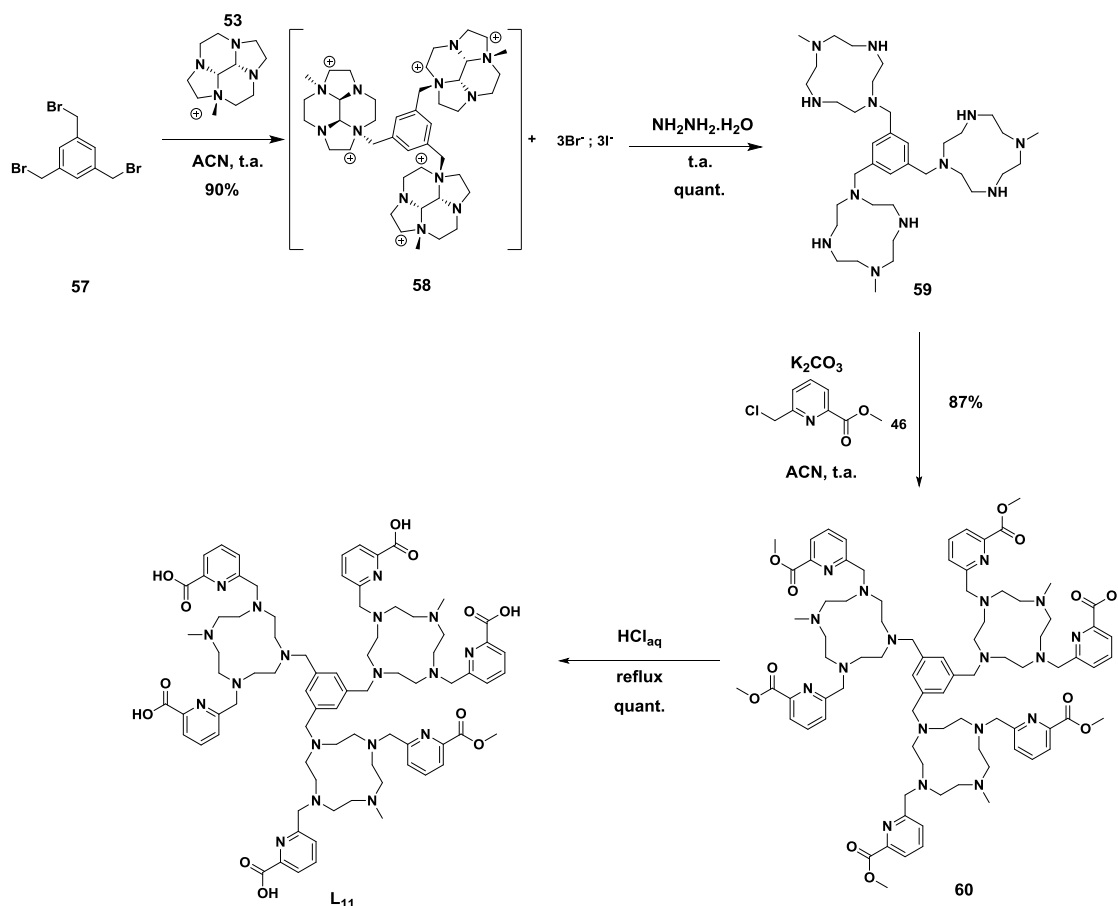


**Figure 13.** Analyse ESI(+) du complexe  $[Tb_2(L_{10})]^{2+}$ . Encart : zoom sur le pic à 664,19 m/z, spectre mesurée (haut) et spectre calculé (bas)

### 1.3 Synthèse des complexes trinocléaires

#### 1.3.1 Synthèse du ligand tritopique $L_{11}$

Le ligand trinocléaire a été synthétisé par notre collaborateur le Dr Platas-Iglesias (**Figure 14**). Le cyclène glyoxal **53** a été alkylé sur le produit commercial 1,3,5-tris(bromométhyl)benzène **57** afin de donner le sel **58**. L'hydrazine monohydrate permet d'accéder à la plate-forme **59** après déprotection des cyclènes. La N-fonctionnalisation avec six équivalents de chlorure de méthyl 6-(chlorométhyl) picolinate donne l'hexaester **60**. L'hydrolyse acide en présence d'acide chlorydrique donne le ligand tritopique  $L_{10}$ .


 Figure 14. Schéma de synthèse du ligand  $L_{11}$ 

### 1.3.2 Synthèse des complexes $[Eu_3(L_{11})]^{3+}$ et $[Tb_3(L_{11})]^{3+}$

Les complexes trinucéaires d'euprium et de terbium ont été synthétisés de façon identique au complexes dinucéaires (**Figure 15**).  $[Eu_3(L_{11})]^{3+}$  et  $[Tb_3(L_{11})]^{3+}$  ont été purifiés par précipitation et caractérisé par spectrométrie de masse par ionisation électrospray (**Figure 16** et **17**). Le pic majoritaire pour  $[Eu_3(L_{11})]^{3+}$  est observé à 643,83 m/z donc identique à la valeur théorique de ce complexe tricationique. On observe la distribution isotopique parfaite pour l'ion  $Eu^{3+}$  lorsqu'on réalise un zoom sur cette région du spectre. Le pic majoritaire pour  $[Tb_3(L_{11})]^{3+}$  est observé à 651,17 concordant avec sa valeur théorique.



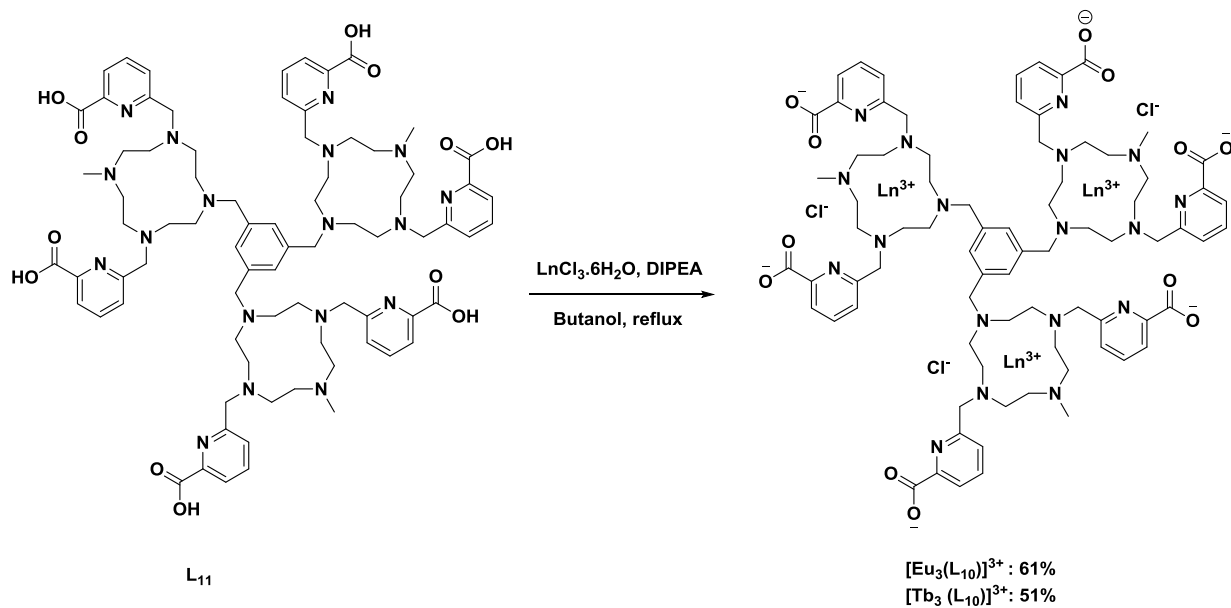


Figure 15. Schéma de synthèse des complexes trinucéaires

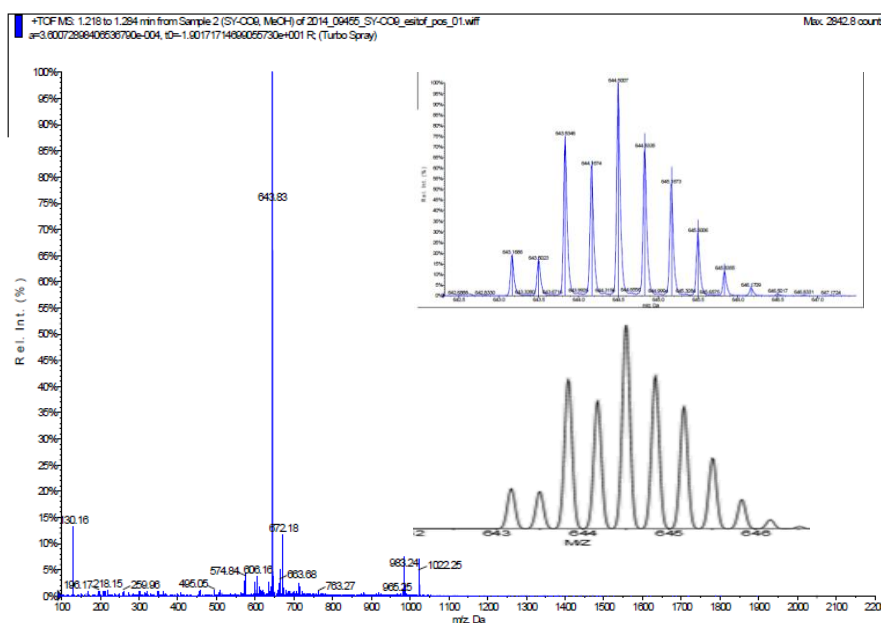
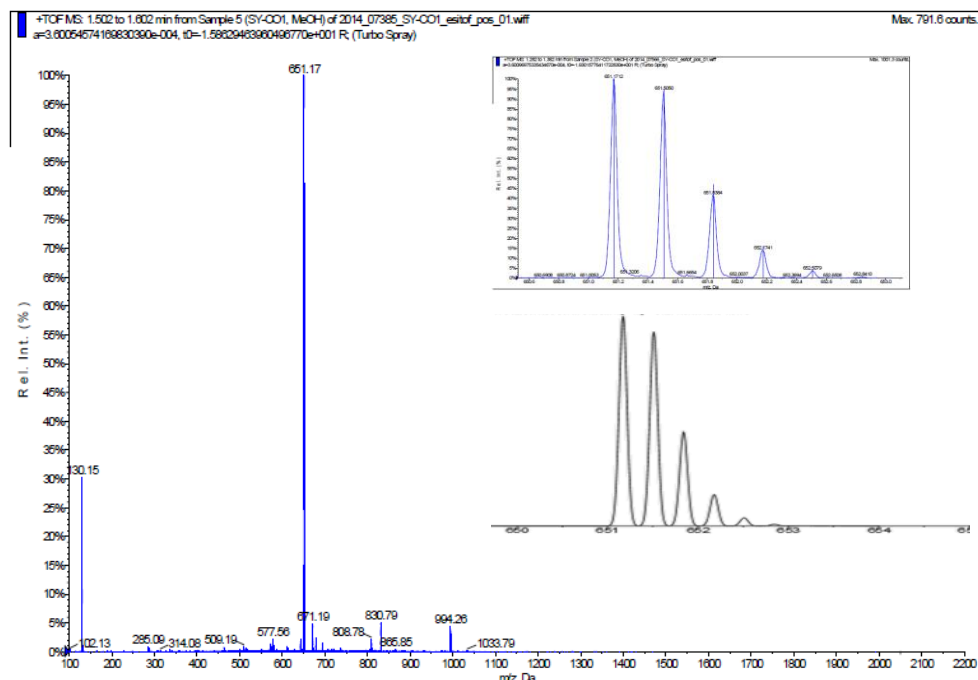


Figure 16. Analyse ESI(+) du complexe  $[Eu_3(L_{11})]^{3+}$ . Encart : zoom sur le pic à 643,83 m/z, spectre mesurée (haut) et spectre calculé (bas)



**Figure 17.** Analyse ESI(+) du complexe  $[Tb_3(L_{11})]^{3+}$ . Encart : zoom sur le pic à 651,17 m/z, spectre mesurée (haut) et spectre calculé (bas)

## 2. Etudes Spectroscopiques

### 2.1. Etudes des Complexes de Terbium

Les spectres d'absorption des complexes de terbium montrent une bande avec un maximum à 274 nm qui correspond aux transitions  $\pi-\pi^*$  des chromophores picoliniques (**Figure 18**).<sup>7</sup> Les coefficients d'extinction molaire sont respectivement pour les complexes mono, di et tri-nucléaire de 11950, 21100, 31500  $M^{-1}\cdot cm^{-1}$ . L'augmentation du nombre d'acides picoliniques induit une augmentation du coefficient d'extinction molaire confirmant la stratégie envisagée afin d'augmenter la brillance de nos composés. Les trois spectres d'émission qui sont superposables font apparaître les bandes d'émission du cation Tb (III) pour une excitation à 274 nm (**Figure 19**). Ces bandes ont été attribuées aux transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J$  du Tb(III) à 478-505 nm ( $J = 6$ ), 534-560 nm ( $J = 5$ ), 575-606 ( $J=4$ ) et 615-633 nm ( $J = 3$ ) avec un maximum d'émission à 543 nm. Les temps de vie de luminescence dans l'eau sont respectivement pour les complexes mono-, di- et tri-nucléaires de 2,55 ; 2,48 et 2,07 ms (**Tableau 1**). Les temps de vie dans l'eau lourde permettent de déterminer par la méthode développée par le Dr Parker et ses collaborateurs qu'il n'y a pas de molécules d'eau coordonnées en première sphère de l'ion Tb (III) dans les trois complexes ( $q=0$ ).<sup>8</sup> La méthode de Haas et Stein donne des rendements quantiques très intéressants dans l'eau de 0,58 ; 0,53 ; 0,44 pour les complexes

mono-, di- et tri-nucléaires.<sup>9</sup> On remarque le caractère intensif du rendement quantique car celui-ci tend à diminuer légèrement avec l'augmentation du nombre de chromophores.

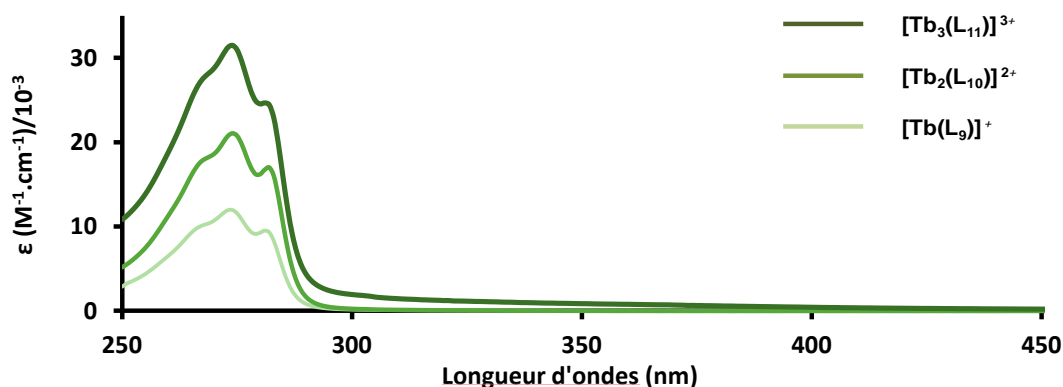


Figure 18. Spectre d'absorption des complexes mono-, di et trinucleaires de terbium ( $H_2O/Tris-HCl$  (0,01 M)/pH=6.9)

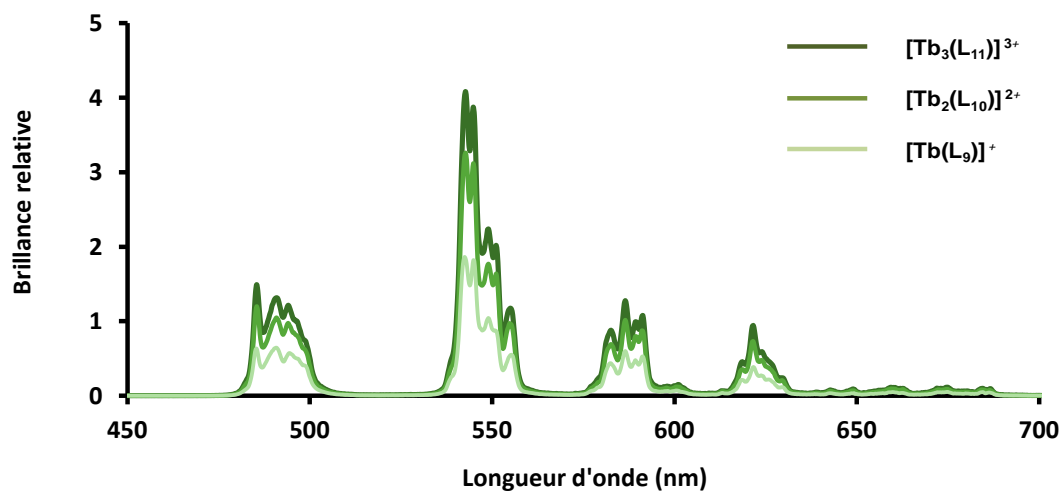


Figure 19. Spectre d'émission normalisés par rapport à la brillance des complexes mono-, di et trinucleaires de terbium ( $\lambda_{exc}=274$  nm,  $H_2O/Tris-HCl$  0,01M/pH=6,9)

	$\tau_{H2O}$ (ms)	$\tau_{D2O}$ (ms)	$q^8$	$\phi^9$	$\epsilon(\lambda = 274nm)$ $M^{-1}.cm^{-1}$	Brillance ( $\phi^*\epsilon$ ) $M^{-1}.cm^{-1}$
$[Tb(L_9)]^+$	2,55	2,69	0	0,58	11950	6900
$[Tb_2(L_{10})]^{2+}$	2,48	2,50	0	0,53	21100	11200
$[Tb_3(L_{11})]^{3+}$	2,07	2,17	0	0,44	31500	13900

Tableau 1. Propriétés photophysiques des complexes mono-, di et trinucleaires de terbium. ( $H_2O/Tris-HCl$  0,01M/pH=6,9)

## 2.2. Etudes des Complexes d'Europium

Les spectres d'absorption des complexes d'euporium montrent une bande avec un maximum à 274 nm. Les coefficients d'extinction molaire sont respectivement pour le mono, di et tri de 9300, 21300, 35900  $M^{-1}cm^{-1}$  (**Figure 20**). Les trois spectres d'émission des complexes d'euporium superposables font apparaître deux bandes majoritaires attribuées aux transitions  $^5D_0 \rightarrow ^7F_J$  602-625 nm ( $J = 2$ ) et 688-714 nm ( $J = 4$ ) avec un maximum d'émission à 610 nm (**Figure 21**). Les temps de vies de luminescence (**Tableau 2**) dans l'eau sont de 0,96 ; 0,93 ; 0,92 ms pour les complexes mono-, di- et tri-nucléaires. On remarque aussi qu'il n'y a pas molécules d'eau coordonnées en première sphère de l'ion Eu (III) dans les trois complexes. Les rendements quantiques sont respectivement pour les complexes mono-, di- et tri-nucléaires de 0,08 ; 0,1 et 0,1.

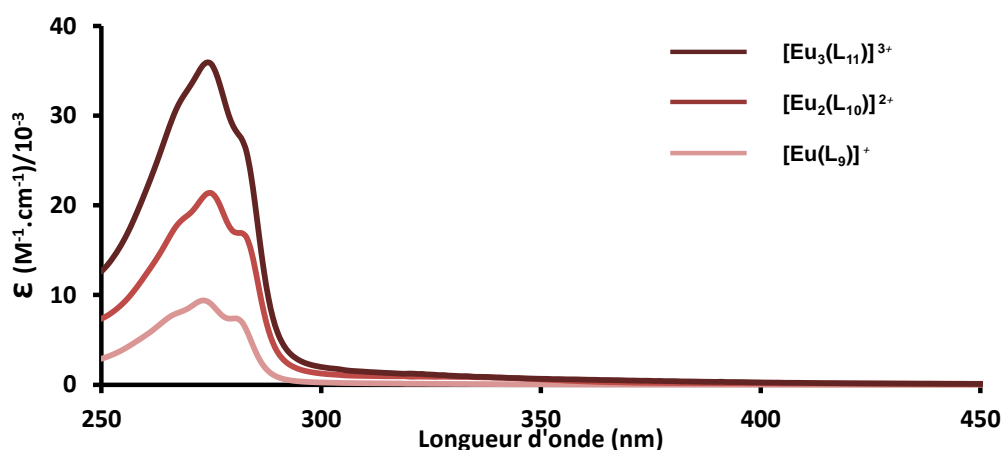


Figure 20. Spectre d'absorption des complexes mono-, di et trinucleaires d'euporium ( $H_2O/Tris-HCl$  ; 0,01M/pH=6,9)

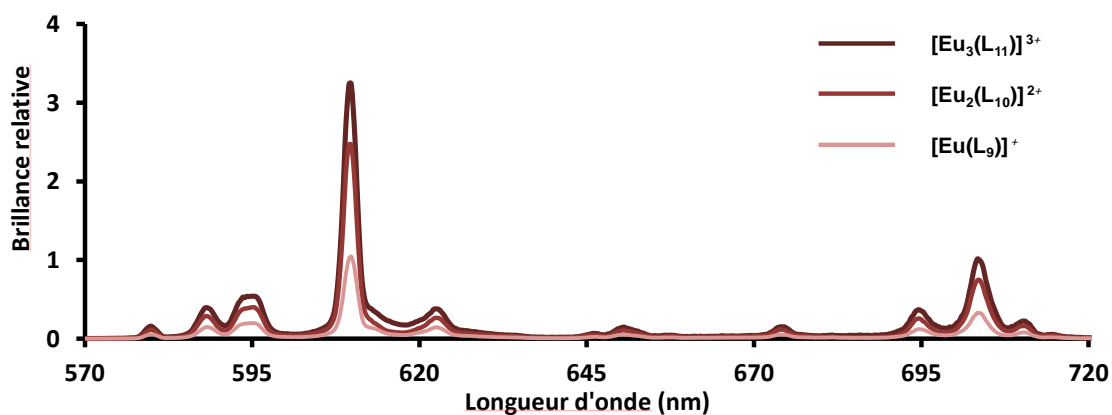


Figure 21. Spectre d'émission normalisés par rapport à la brillance des complexes mono-, di et trinucleaires d'euporium ( $\lambda_{exc}=274$  nm,  $H_2O/Tris-HCl$  ; 0,01M/pH=6,9)

	$\tau_{H_2O}$ (ms)	$\tau_{D_2O}$ (ms)	$q^8$	$\phi^9$	$\epsilon(\lambda = 274\text{nm})$ $M^{-1}.cm^{-1}$	Brightness ( $\phi^*\epsilon$ ) $M^{-1}.cm^{-1}$
$[Eu(L_9)]^+$	0,96	1,19	0	0,10	9300	930
$[Eu_2(L_{10})]^{2+}$	0,93	1,25	0	0,10	21300	2130
$[Eu_3(L_{11})]^{3+}$	0,92	1,16	0	0,08	35900	2870

**Tableau 2.** Propriétés photophysiques des complexes mono-, di et trinucéaires d'euporium. ( $H_2O/Tris-HCl$  ; 0,01M/pH=6,9)

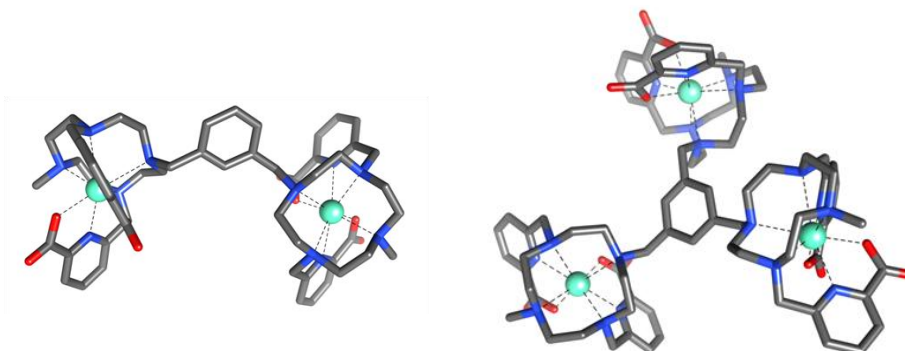
### 2.3. Discussions

Ces études montrent que les complexes de terbium ont des rendements quantiques très intéressants proches de 50% et des temps de vie de luminescence supérieurs à 2 ms. Au contraire, ces deux propriétés sont assez faibles pour les complexes d'euporium, des rendements quantiques inférieurs à 10% et des temps de vie inférieurs à 1 ms. Cette différence est induite par le niveau d'énergie de l'état de triplet de l'acide picolinique qui est idéal pour l'état excité  $^5D_4$  du terbium ( $20\,400\text{ cm}^{-1}$ ). Les rendements quantiques décrits dans la littérature de complexes à base d'acides picoliniques varient entre 20 - 60% pour les complexes de terbium et 5-10% pour les complexes d'euporium ce qui concorde avec nos résultats expérimentaux.<sup>10,11,12,13</sup>

On peut aussi remarquer que dans les deux cas (complexe d'euporium et complexe de terbium), les ligands mononucléaires et di nucléaires ont des propriétés assez similaires.

En revanche les complexes trinucéaires subissent une légère baisse de leurs propriétés photophysiques notamment au niveau des rendements quantiques. Nous avons supposé que cette diminution pouvait être des transferts d'énergie intramoléculaires non radiatives. La probabilité de transfert d'énergie serait plus élevée entre les trois sites du complexe trinucéaire que pour le complexe dinucléaire car celui-ci présente des distances plus courtes entre les sites. La modélisation DFT (**Figure 22**) des complexes dinucléaire et trinucéaire d'euporium montre que cette hypothèse n'est pas si exacte. Dans le complexe dinucléaire les sites de coordination sont repoussés l'un de l'autre probablement pour des raisons électrostatiques induisant une conformation *trans* entre les deux sites avec une distance de 10,93 Å entre les deux Eu(III). Pour le complexe trinucéaire, les trois atomes Eu(III) forment quasiment un triangle isocèle avec deux distances courtes presque identiques de 10.49 et 10.53 Å et une distance longue de 11,74. La distance moyenne est de 10.92 Å qui est quasi

identique à la distance entre les deux sites du complexes dinucléaire. La diminution du rendement quantique et du temps de vie de luminescence pour les complexes trinucéaires serait induit par des transitions non radiatives pour lesquelles nous n'avons pas d'explication à l'heure actuelle.



**Figure 22.** Modélisation DFT des complexes  $[Eu_2(L_{10})]^{2+}$  (à gauche) et  $[Eu_3(L_{11})]^{3+}$  (à droite)

### 3. Conclusion

Les études spectroscopiques ont montré que l'augmentation du nombre de sites de coordination induisait une légère diminution du temps de vie de luminescence et du rendement quantique. On peut supposer une communication énergétique intra-moléculaire entre les différents sites coordonnés. Cette étude indique aussi que les ligands dinucléaires sont intéressants pour la synthèse de nouvelles sondes fluorescentes à base de lanthanides car ils permettent d'avoir un nombre conséquent de chromophores sur un seul ligand et ils possèdent une plate-forme centrale modulable. Dans une seconde partie, nous nous sommes intéressés à la synthèse de ligands dinucléaires composés de chromophores capables d'absorber à une longueur d'onde supérieure à 300 nm.

## II. Modulation des chromophores du ligand ditopique

Dans cette seconde partie, nous avons voulu modifier le ligand dinucléaire en modulant les acides picoliniques sur la position *para* de la pyridine afin que l'absorbance atteigne des longueurs d'ondes supérieures à 300 nm. Notre recherche s'est axée sur deux chromophores (**61** et **62**, <sup>1</sup> **Figure 23**) capables d'absorber respectivement à 320 nm et 318 nm et de sensibiliser de manière optimale Eu(III).<sup>14</sup> Les groupes du Dr Olivier Maury et Dr David Parker ont

développé ce type de chromophores notamment pour la synthèse des composés de la famille des EuroTracker®<sup>15,16,17,18,19</sup>.

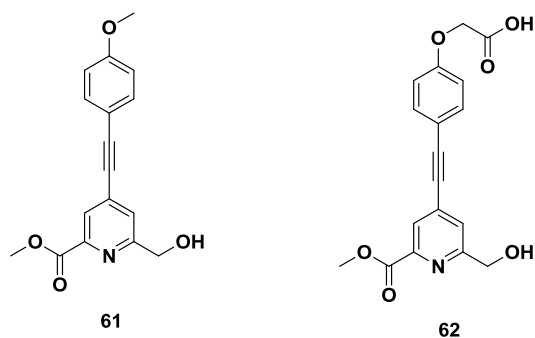


Figure 23. Structure des chromophores 61 et 62

### 1. Voie de Synthèse A

Nous avons voulu synthétiser les ligands **L<sub>12</sub>** et **L<sub>13</sub>** selon la voie de synthèse utilisée par le groupe du Dr Maury pour la synthèse de l'EuroTracker (Figure 24).<sup>20</sup> Le méthyl 4-iodo-6-(((méthylsulfonyl)oxy) méthyl)picolinate **67** est relié sur la plate-forme **53** dicyclénique. Ensuite, quatre couplages de Sonogashira simultanés permettraient d'obtenir les chromophores désirés. L'hydrolyse basique permettra d'accéder au ligand souhaité.

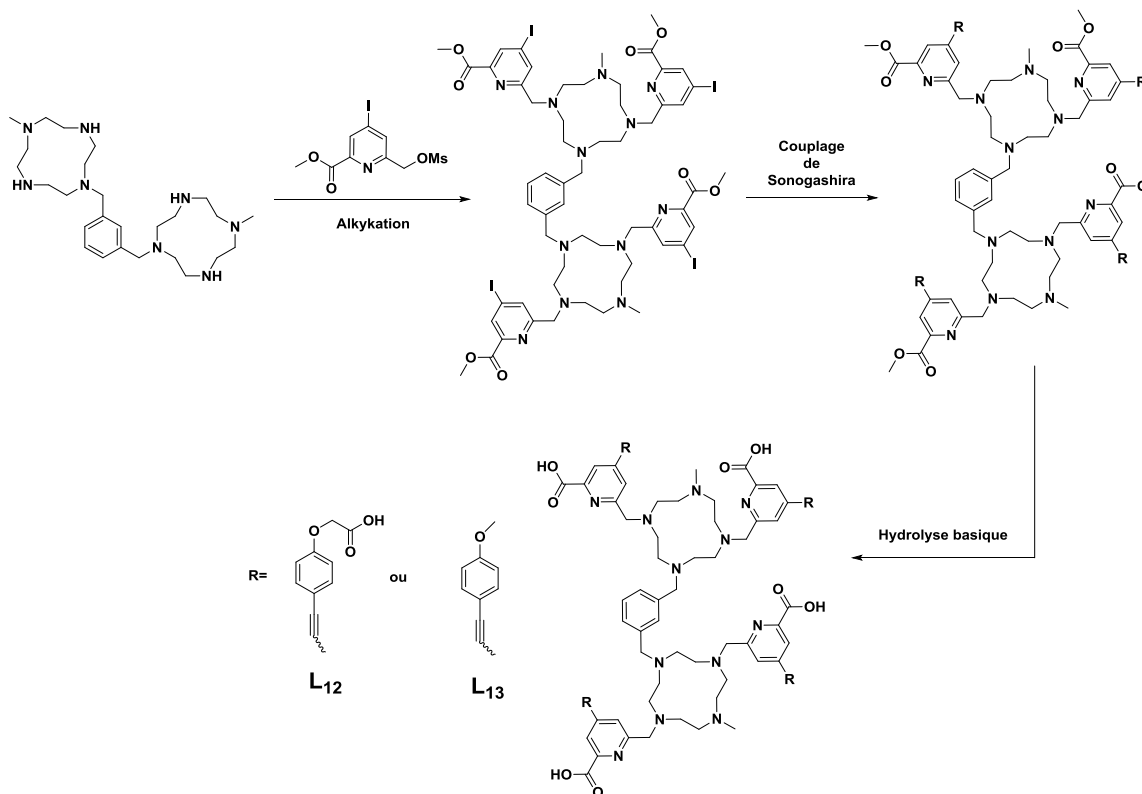
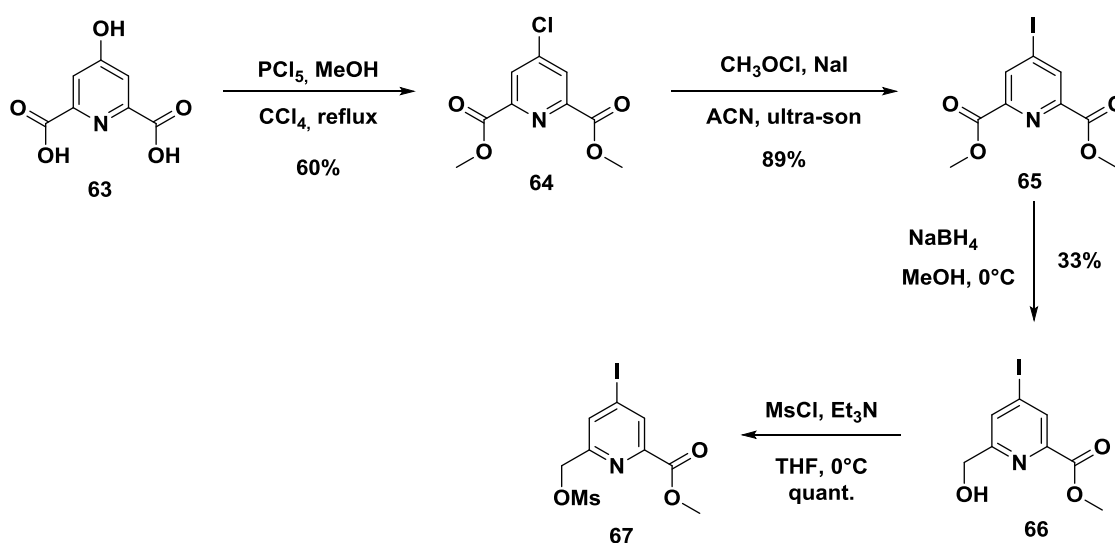


Figure 24. Schéma de synthèse des ligands **L<sub>12</sub>** et **L<sub>13</sub>** par la voie A

## 1.1 Synthèse des précurseurs

### 1.1.1 Synthèse du méthyl 4-iodo-6-(((méthylsulfonyl)oxy)méthyl)picolinate

La synthèse du ligand souhaité nécessite au préalable les synthèses des différents précurseurs **67**, **71** et **74** décrits dans la littérature (**Figure 25**).<sup>14,21,17</sup> L'acide chélidamique **63** est simultanément activé et estérifié pour obtenir le diméthyle ester 4-chloropyridine-2,6-dicarboxylate **64**. Le chlore est substitué par un iode en présence d'un large excès d'iodure de sodium et de chlorure d'acétylène. La réduction sélective d'un des deux esters permet de synthétiser le composé **67** qui est activé par un groupement mésylate nucléofuge.



**Figure 25.** Figure 23. Synthèse du méthyl 4-iodo-6-(((méthylsulfonyl)oxy)méthyl)picolinate

### 1.1.2 Synthèse des dérivés éthylnyl-benzénique

Le *tert*-bromoacetate est relié à l'iodophénol **68** par O-alkylation en présence de  $K_2CO_3$  dans le DMF (**Figure 26**). Le couplage de Sonogashira permet d'insérer le groupement acétylène en présence de palladium tétrakis-triphénylphosphine, de CuI et de TMS-acétylène. La déprotection du groupement silylé se fait en présence de fluorure de tétra-*n*-butylammonium (TBAF) afin d'obtenir le composé **71**. Le composé **74** est synthétisé selon une procédure similaire à partir de l'iodoanisole.



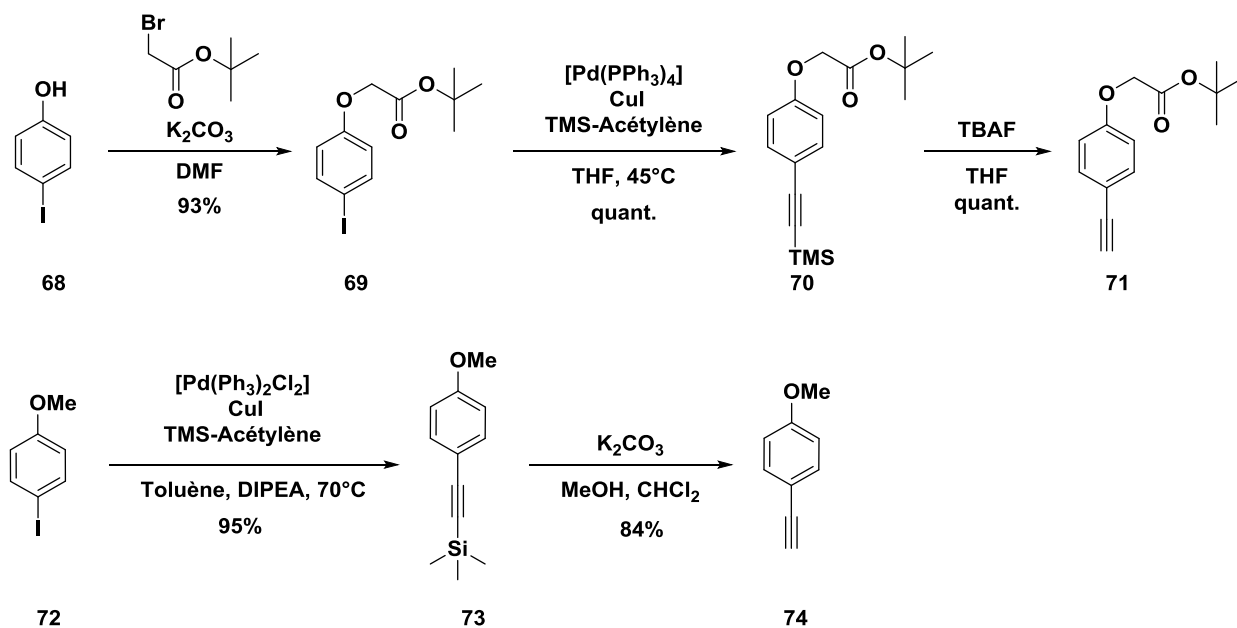


Figure 26. Synthèse des dérivés éthynyl-benzéniques

### 1.1.3 Synthèse de la plateforme iodo-picolinate

Le composé **75** est obtenu par N-fonctionnalisation du composé mésylé **67** sur le synthon **53**, en présence de carbonate de césium dans le DMF (Figure 27). Il a été purifié par chromatographie sur gel d'alumine. Ce composé a été caractérisé par LC-MS. L'analyse indique pour une longueur d'onde de 278 nm la présence majoritaire d'un seul composé chromophorique (98%). L'analyse par spectrométrie de masse de ce produit montre un pic majoritaire à 525,73 m/z qui correspond à notre composé tri-chargé ( $[M+3H]^{3+}$ ). On peut observer aussi les pic du composé tétra-chargé (394,55 m/z,  $[M+4H]^{4+}$ ) et di-chargé (788,10 m/z,  $[M+2H]^{2+}$ ) (Figure 28).

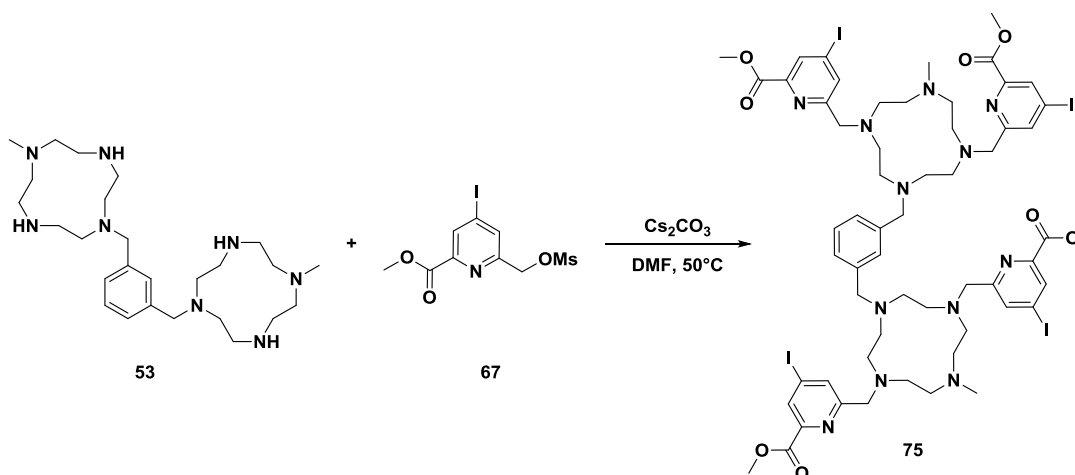


Figure 27. Synthèse du composé 75

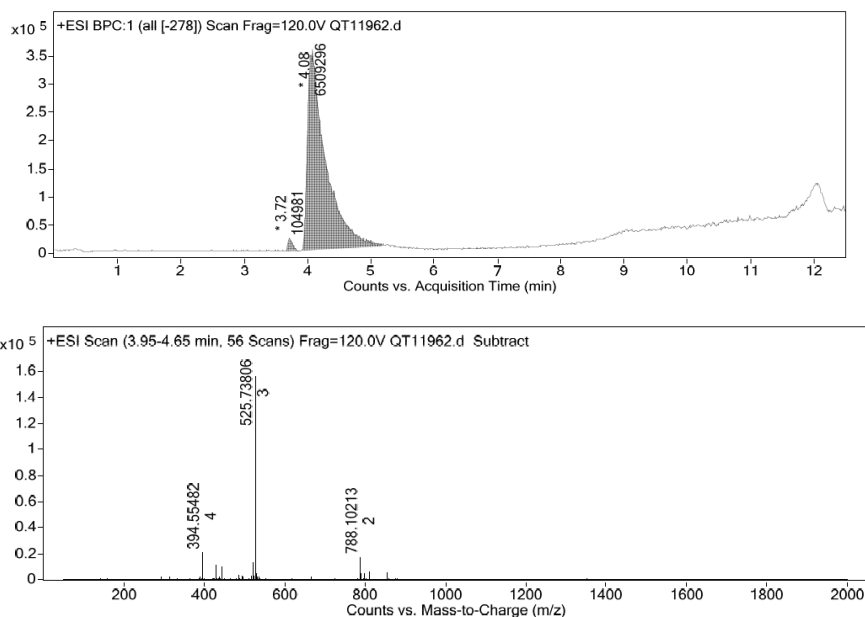


Figure 28. Analyse LC-MS du composé 75 ([ACN (+0.1%TFA) - H<sub>2</sub>O (+0.1%TFA)] : gradient pendant 12 min - 5%-95% à 100%-0%)

## 1.2 Tétra- couplage de Sonogashira

Nous avons tenté de synthétiser le composé **76** par un couplage de Sonogashira sans CuI afin d'éviter la complexation parasite du Cu(I) au sein des cyclènes, ce qui empêcherait la réaction de ne pas fonctionner.<sup>20</sup> Mais la synthèse n'a pas fonctionné donc nous avons envisagé une autre voie pour la synthèse des ligands **L<sub>11</sub>** et **L<sub>12</sub>**.

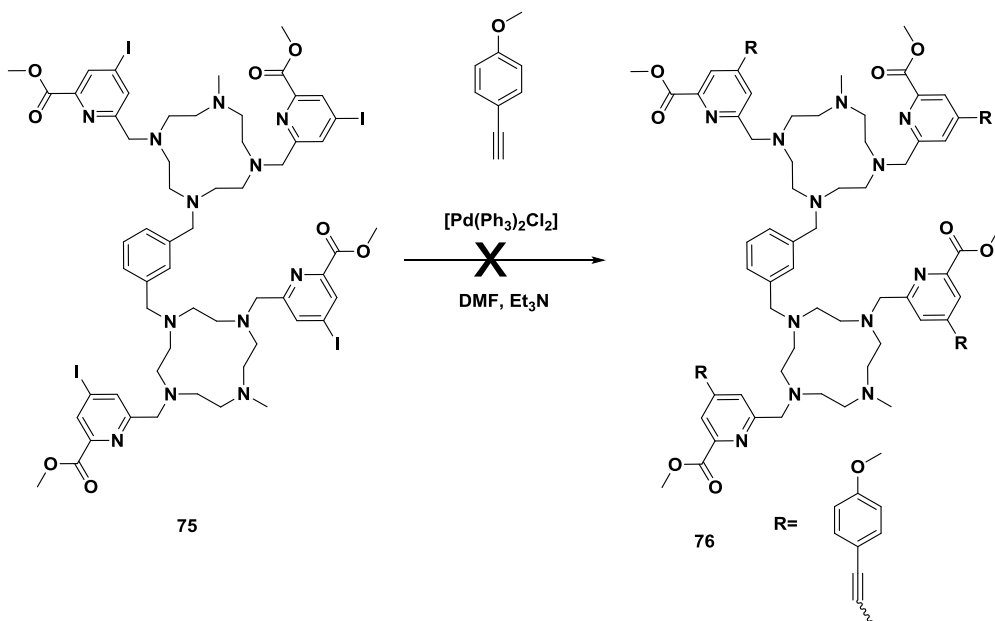


Figure 29. Synthèse du composé **76** par tétra-couplage de Sonogashira

## 2. Voie de Synthèse B

### 2.1 Synthèse des chromophores

Dans cette seconde voie de synthèse, le chromophore final est d'abord préparé avant d'être alkylé sur la plate-forme dicyclénique (**Figure 30**). Le chromophore **61** est obtenu par un couplage de Sonogashira entre les composés **67** et **74**. Il est activé par substitution nucléophile avec un groupement mésylate. Le second chromophore **78** est synthétisé selon une procédure similaire à partir des précurseurs **67** et **71**.

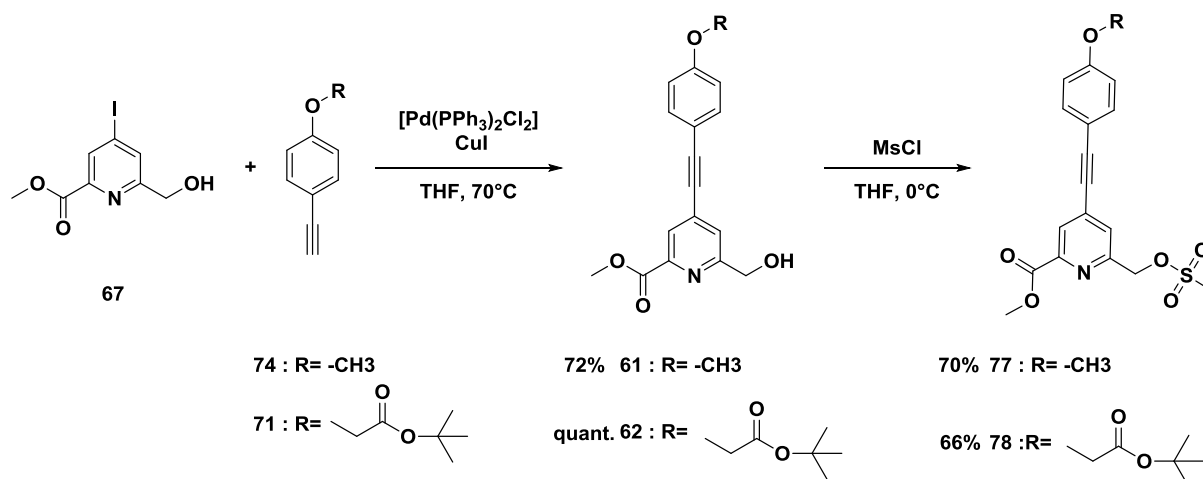


Figure 30. Synthèse des chromophores **77** et **78**

### 2.2 Synthèse des ligands L<sub>12</sub> et L<sub>13</sub>

#### 2.2.1. Synthèse du ligand L<sub>12</sub>

Nous avons tenté l'alkylation du composé **78** sur la plate-forme **55** en présence de carbonate de césium dans le DMF (**Figure 31**). Nous avons aussi eu des soucis de penta-alkylation lors de cette synthèse donc il a été impossible de purifier le composé **79** à cette étape. L'hydrolyse basique des esters a été réalisée directement. Le ligand **L<sub>12</sub>** a été purifié par chromatographie en phase inverse et caractérisé par LC-MS (**Figure 32**). L'analyse montre que le composé est pur pour un temps de rétention de 2,44 min. L'analyse spectrométrique de masse montre un pic majoritaire à 571,19 m/z qui concorde avec notre composé tri-chargé ( $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$ ).

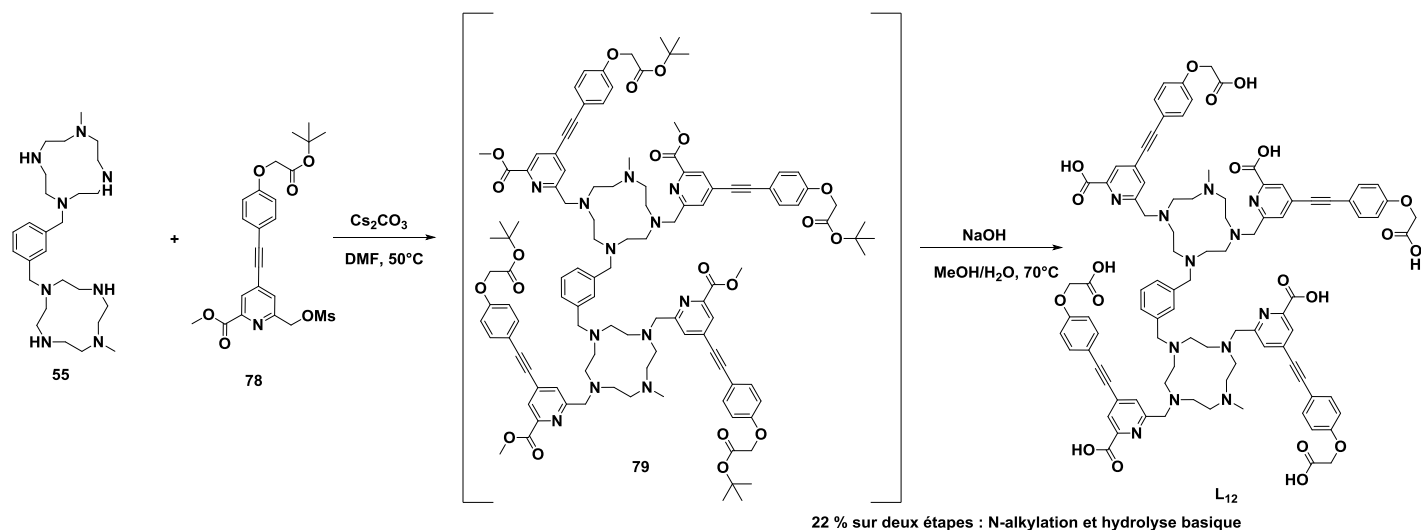


Figure 31. Synthèse du ligand  $L_{12}$

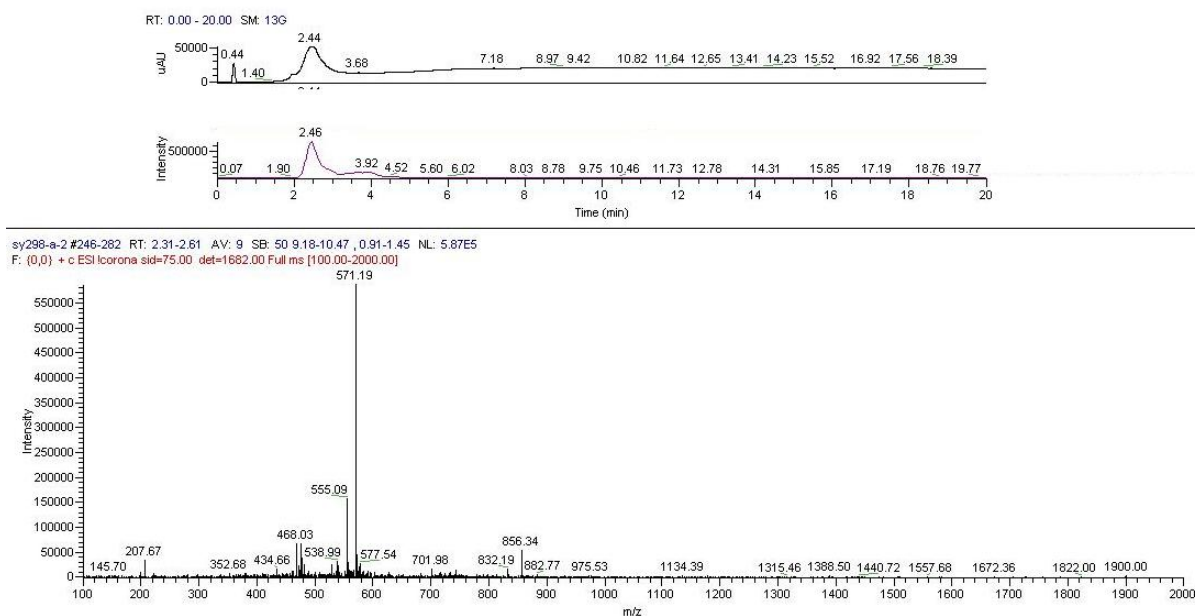


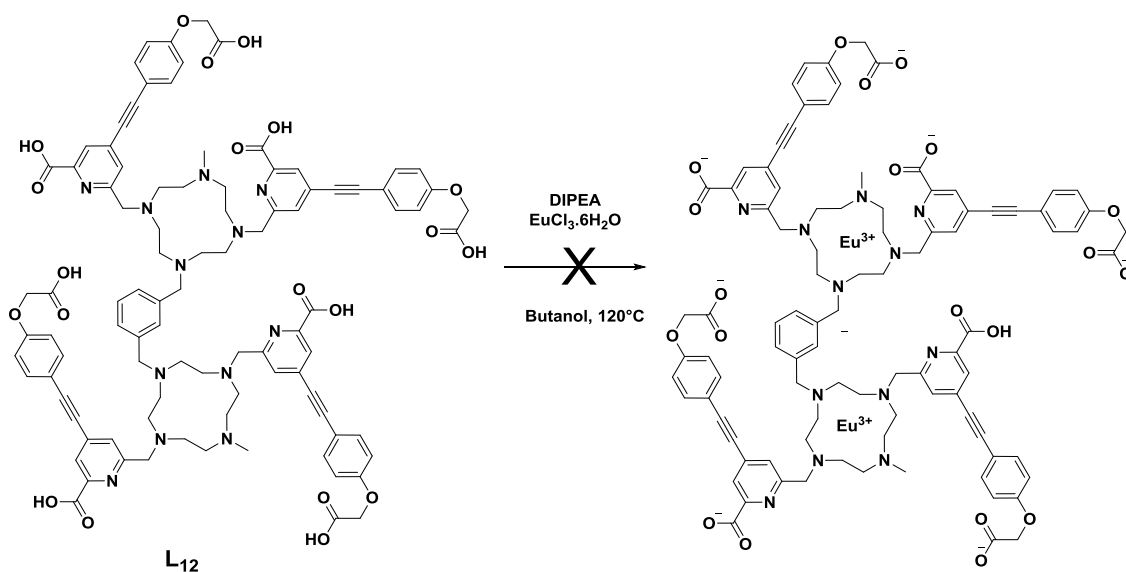
Figure 32. Analyse LC-MS du ligand  $L_{12}$  ([ACN (+0.1%TFA) -  $H_2O$  (+0.1%TFA)] : gradient pendant 20 min - 5%-95% à 100%-0%)

### 2.2.2. Synthèse du ligand $L_{13}$

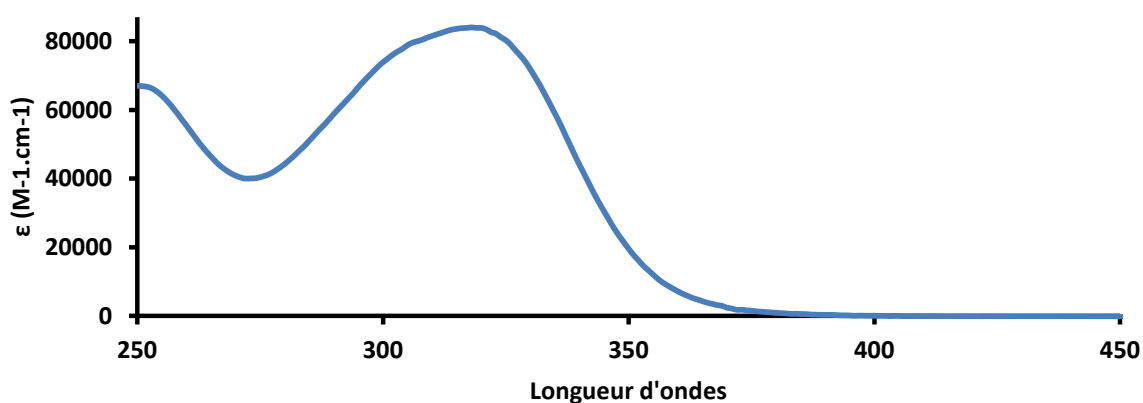
Nous avons tenté une réaction similaire afin de synthétiser le ligand  $L_{13}$  en présence du chromophore **78** mais pour l'instant la synthèse de ce composé s'est soldée par un échec. La synthèse de ce ligand nécessitera sans doute d'utiliser la voie qui nous a permis de synthétiser le ligand ditopique  $L_{10}$  (Figure 10).

### 3. Tentative de synthèse du complexe dinucléaire d'euporium de $L_{12}$

Nous avons tenté de synthétiser le complexe dinucléaire (**Figure 33**) d'euporium du ligand  $L_{12}$ . Actuellement, nous n'arrivons pas à l'isoler et à le caractériser. Nous avons pour l'instant un problème de solubilité lors de la synthèse de ce complexe di-nucléaire. La synthèse de ce complexe apparaît très intéressante dans notre objectif d'obtenir des composés très brillants car  $L_{12}$  possède un coefficient d'extinction molaire de  $83900 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  à  $320 \text{ nm}$ .



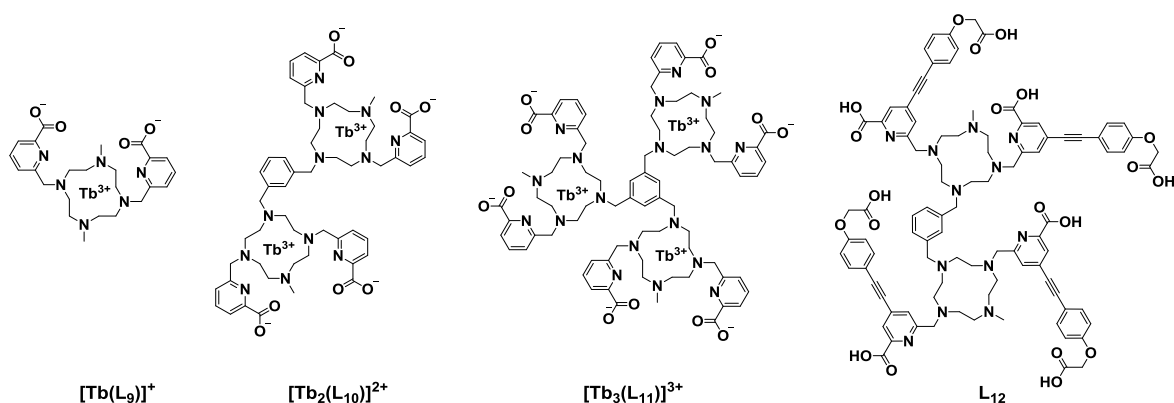
**Figure 33.** Tentative de synthèse du complexe dinucléaire d'euporium de  $L_{12}$



**Figure 34.** Spectre d'absorption du ligand  $L_{12}$  ( $\text{H}_2\text{O}/\text{Tris-HCl}$   $0.01\text{M}/\text{pH}=7,4$ )

### III. Conclusion

Nous avons synthétisé des nouveaux complexes polynucléaires luminescents de lanthanides à base de cyclène et d'acides picoliniques. Les complexes de Tb(III) des ligands **L<sub>9</sub>** et **L<sub>10</sub>** ont montré qu'ils présentaient des propriétés photophysiques très intéressantes comme un rendement quantique élevé (environ 50%) et un temps de vie de luminescence long (supérieur à 2 ms). Ces propriétés sont faibles pour les complexes de Eu(III). Quand on compare les complexes  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{10})]^{2+}$  et  $[\text{Tb}_3(\text{L}_{11})]^{3+}$  au Lumi4-Tb<sup>Ⓞ</sup>, on remarque que nous avons une brillance équivalente mais le Lumi4-Tb<sup>Ⓞ</sup> présente une longueur d'onde d'excitation avantageuse de 340 nm.<sup>22</sup>



	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	$\phi$	$\lambda_{\text{max}}$ nm	$\epsilon_{\lambda_{\text{max}}}$ $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$	Brillance ( $\phi \cdot \epsilon$ ) $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
Lumi4-Tb <sup>Ⓞ</sup>	2,60	0,59	340	26811	15818
$[\text{Tb}_2(\text{L}_{10})]^{2+}$	2,48	0,53	274	21100	11200
$[\text{Tb}_3(\text{L}_{11})]^{3+}$	2,07	0,44	274	31500	13900

Le second objectif fut la modulation des chromophores picoliniques afin d'accéder à des longueurs d'ondes d'excitation supérieur à 300 nm. Les chromophores **61** et **62** ont été choisis car ils ont montré une excellente propriété de sensibilisation pour l'ion Eu(III). Nous avons choisi de moduler le ligand dinucléaire **L<sub>10</sub>** car il permet d'insérer 4 groupements chromophoriques identiques et sa plate-forme centrale est aussi modulable. Nous avons réussi à synthétiser un premier ligand di-topique **L<sub>12</sub>** présentant des groupements chromophores capable d'absorber à 320 nm pour un coefficient d'extinction molaire de 83 900  $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Nous n'avons pas réussi pour l'instant à synthétiser le complexe dinucléaire d'euporium de **L<sub>12</sub>** car nous observons des problèmes de solubilité.

**IV. Bibliographie**

- (1) Nonat, A.; Regueiro-Figueroa, M.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. *J. Chem. - Eur. J.* **2012**, *18* (26), 8163–8173.
- (2) Rodríguez-Rodríguez, A.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Fekete, M.; Botta, M.; Tripier, R.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (4), 2509–2521.
- (3) Le Baccon, M.; Chuburu, F.; Toupet, L.; Handel, H.; Soibinet, M.; De'champs-Olivier, I.; Barbier, J.-P.; Aplincourt, M. *New J. Chem.* **2001**, *25* (9), 1168–1174.
- (4) Develay, S.; Tripier, R.; Chuburu, F.; Le Baccon, M.; Handel, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, (16), 3047–3050.
- (5) De León-Rodríguez, L. M.; Kovacs, Z.; Esqueda-Oliva, A. C.; Miranda-Olvera, A. D. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (39), 6937–6940.
- (6) Chang, C. A.; Liu, R.-S.; Bhagwat, B. V. United States Patent Application: 0140187527 - Macrocyclic Compounds And Metal Complexes For Bioimaging And Biomedical Applications. 20140187527, A1.
- (7) Renaud, F.; Piguet, C.; Bernardinelli, G.; Bünzli, J.-C. G.; Hopfgartner, G. *Chem. – Eur. J.* **1997**, *3* (10), 1646–1659.
- (8) Beeby, A.; Clarkson, I. M.; Dickins, R. S.; Faulkner, S.; Parker, D.; Royle, L.; Sousa, A. S. de; Williams, J. A. G.; Woods, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, No. 3, 493–504.
- (9) Haas, Y.; Stein, G. *J. Phys. Chem.* **1971**, *75* (24), 3668–3677.
- (10) Walton, J. W.; Carr, R.; Evans, N. H.; Funk, A. M.; Kenwright, A. M.; Parker, D.; Yufit, D. S.; Botta, M.; De Pinto, S.; Wong, K.-L. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (15), 8042–8056.
- (11) Nocton, G.; Nonat, A.; Gateau, C.; Mazzanti, M. *Helv. Chim. Acta* **2009**, *92* (11), 2257–2273.
- (12) Nonat, A.; Gateau, C.; Fries, P. H.; Mazzanti, M. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12* (27), 7133–7150.
- (13) Guanci, C.; Giovenzana, G.; Lattuada, L.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. *J. Dalton Trans* **2015**, *44* (16), 7654–7661.
- (14) Lamarque, L.; Maury, O.; Parker, D.; Zwier, J. M.; Walton, J. W.; Bourdolle, A. Nouveaux agents complexants et complexes de lanthanide correspondantsFR2978149A1.pdf. FR2012/051691.
- (15) D'Aléo, A.; Picot, A.; Beeby, A.; Gareth Williams, J. A.; Le Guennic, B.; Andraud, C.; Maury, O. *Inorg. Chem.* **2008**, *47* (22), 10258–10268.
- (16) Butler, S. J.; Delbianco, M.; Lamarque, L.; McMahon, B. K.; Neil, E. R.; Pal, R.; Parker, D.; Walton, J. W.; Zwier, J. M. *Dalton Trans.* **2015**, *44* (11), 4791–4803.



- (17) Bourdolle, A.; Allali, M.; Mulatier, J.-C.; Le Guennic, B.; Zwier, J. M.; Baldeck, P. L.; Bünzli, J.-C. G.; Andraud, C.; Lamarque, L.; Maury, O. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (11), 4987–4999.
- (18) Butler, S. J.; Lamarque, L.; Pal, R.; Parker, D. *Chem. Sci.* **2014**, *5* (5), 1750–1756.
- (19) Delbianco, M.; Lamarque, L.; Parker, D. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12* (40), 8061–8071.
- (20) Placide, V.; Pitrat, D.; Grichine, A.; Duperray, A.; Andraud, C.; Maury, O. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55* (7), 1357–1361.
- (21) Chessa, G.; Canovese, L.; Visentin, F.; Santo, C.; Seraglia, R. *Tetrahedron* **2005**, *61* (7), 1755–1763.
- (22) Xu, J.; Corneillie, T. M.; Moore, E. G.; Law, G.-L.; Butlin, N. G.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (49), 19900–19910.

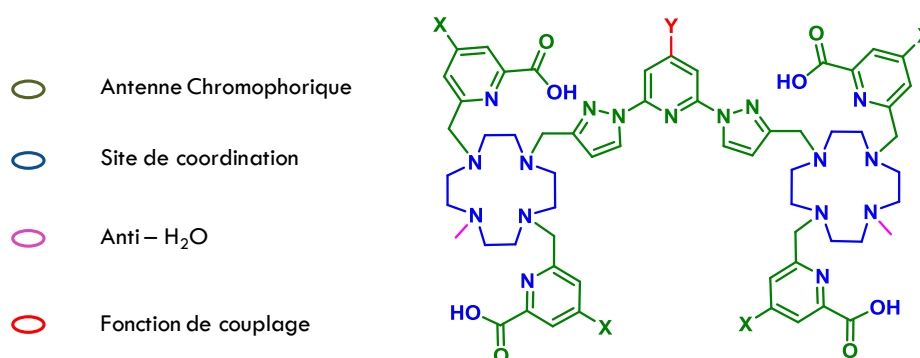


**CHAPITRE V : LIGANDS  
PYRIDINE BIS-PYRAZOLE**



## I. Synthèses des ligands et des complexes dinucléaires

Considérant l'efficacité de luminescence des complexes de lanthanide de **L<sub>9</sub>**, nous avons décidé de relier cette plateforme à une structure 2,6-di(1H-pyrazol-1-yl)pyridine connue pour être un bon sensibilisateur de lanthanides en particulier du Tb(III)<sup>1</sup>. Nous augmentons ainsi le nombre de groupements chromophoriques pour arriver à un total de sept, améliorerons ainsi le coefficient d'absorption molaire. Cette plate-forme ditopique permet aussi d'insérer une fonction de couplage (**Figure 1**).



*Figure 1. Structure du ligand bispyrazol-biscyclène*

### 1. Voie de Synthèse A – La voie du cyclène glyoxal

Le ligand **L<sub>14</sub>** est synthétisé à partir de la 2,6-bispyrazolopyridine (**Figure 2**). La N-fonctionnalisation de deux équivalents du cyclène-glyoxal méthylé suivi de la déprotection du groupement glyoxal donnera la plateforme pyridine-bispyrazole. Elle sera alkylé avec des esters éthyle 6-(chlorométhyl)picolinate. **L<sub>14</sub>** sera obtenu après hydrolyse basique.

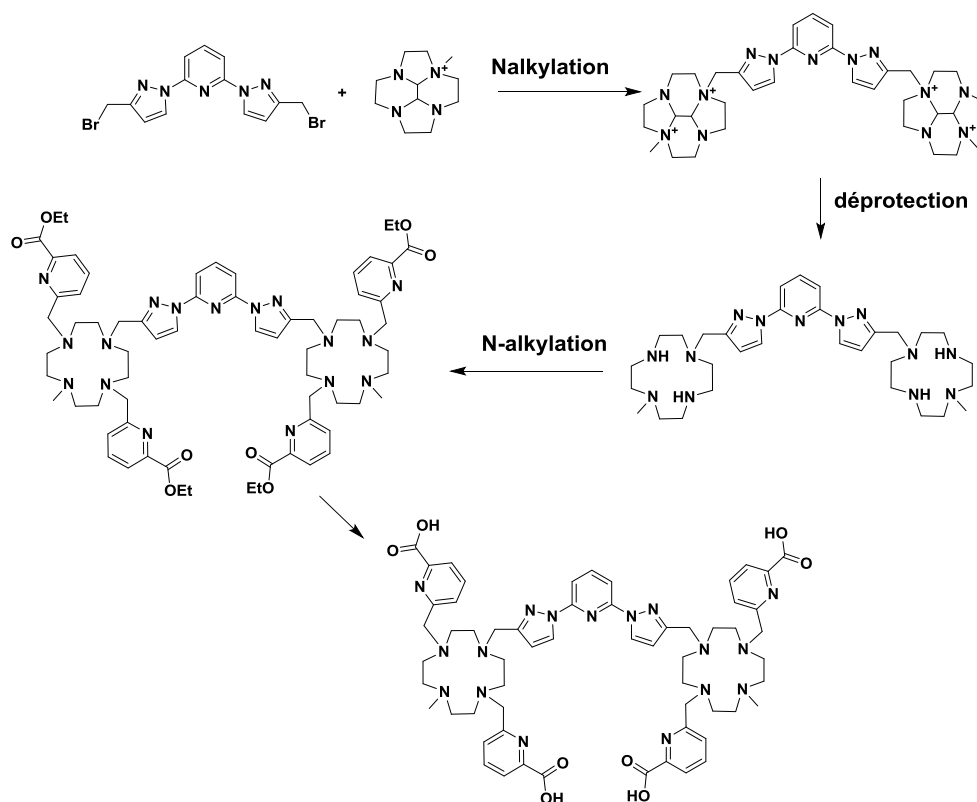


Figure 2. Voie de synthèse du ligand  $L_{14}$  à partir du cyclène glyoxal méthylyé

### 1.1. Synthèse des précurseurs pyridine-bispyrazolyliques

La synthèse des précurseurs dérivé du 2,6-bispyrazolylpyridine a été développée dans notre laboratoire à partir de la 2,4,6-trifluoropyridine (**Figure 3**). Schlösser et *al* ont travaillé sur la substitution aromatique sélective de ce composé.<sup>2</sup> Ils ont montré que la réaction de substitution nucléophile aromatique est favorisée en position 4 de la trifluoropyridine. Cette sélectivité est induite par la répulsion électronique et la gêne stérique induit par le doublet électronique libre de l'azote. Le fluor en position 4 de la pyridine a pu être substitué par un groupement hydrazine. La réaction de Sandmeyer permet de remplacer ce groupement par un brome. Le composé **84** est obtenu par substitution nucléophile aromatique en présence de **83** et de NaH dans la DMF. Les esters éthyliques sont réduits en alcool en présence de  $\text{LiAlH}_4$  à basse température pour synthétiser le composé **86**. Nous avons la formation d'un produit secondaire **85** du à la substitution du groupement bromure par un hydrure. La séparation de ces deux composés polaires étant compliquée, l'étape de bromation a été directement réalisée en présence de tribromophosphine dans la DMF. La purification par chromatographie sur gel de silice permet de séparer les plates-formes bispyrazolylpyridine **87** et **88**.

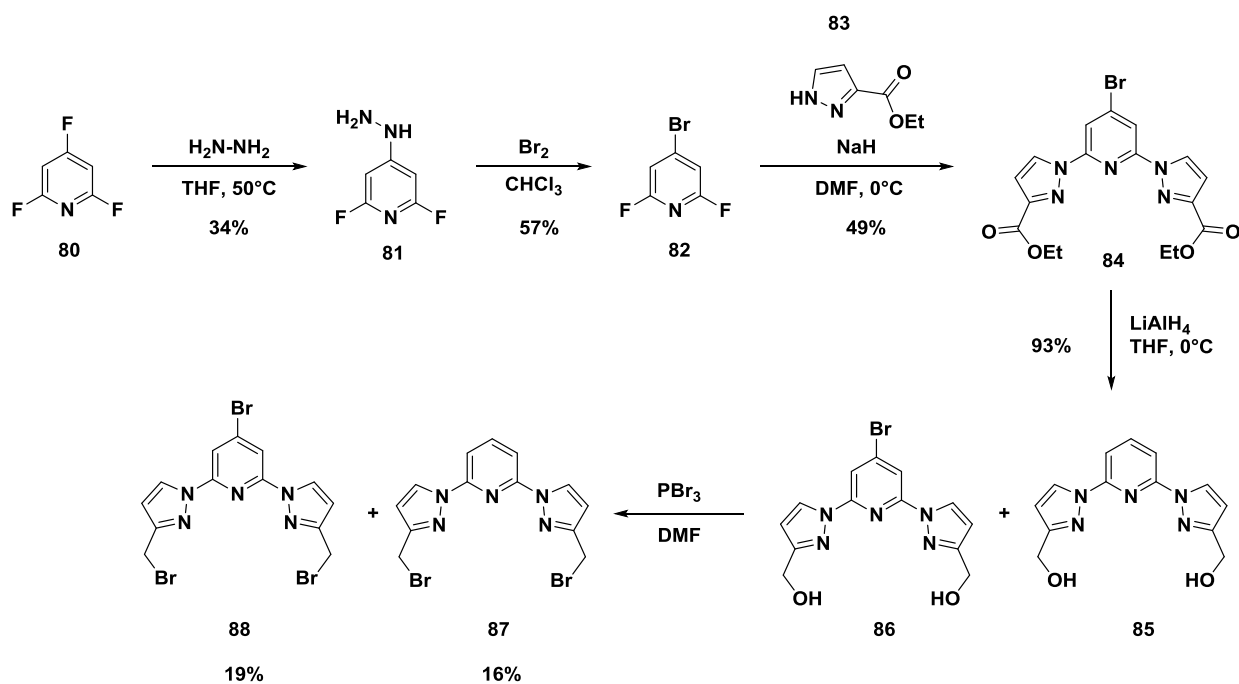


Figure 3. Synthèse des précurseurs pyridine-bispyrazolyliques

## 1.2. Synthèse de la plate-forme bis-cyclène-bispyrazolylypyridine

La N-fonctionnalisation dans l'acétonitrile de deux équivalents du cyclène-glyoxal monométhyle **53** sur le composé **87** permet d'accéder au sel **88** qui précipite en fin de réaction avec un rendement quasi quantitatif (**Figure 4**). La déprotection du groupement glyoxal a été réalisé en milieu basique dans une solution de soude. Le composé **89** étant insoluble en milieu aqueux précipite simplifiant sa purification.

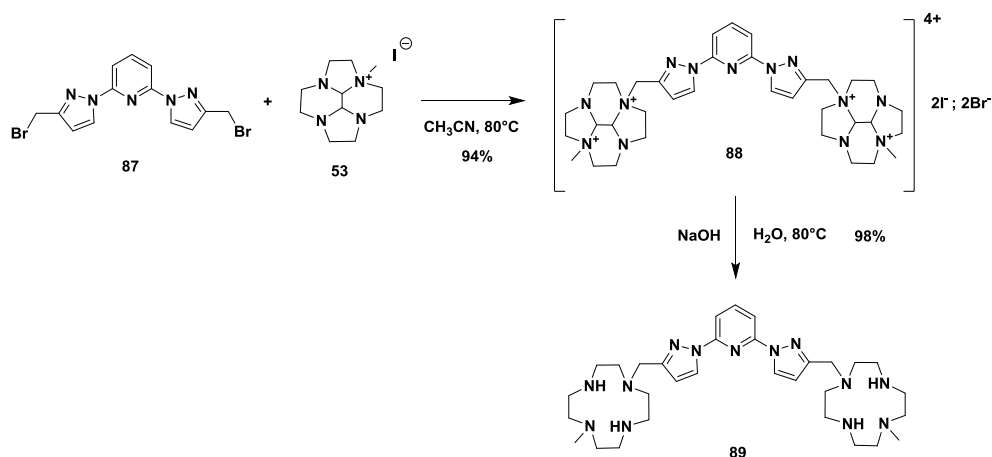
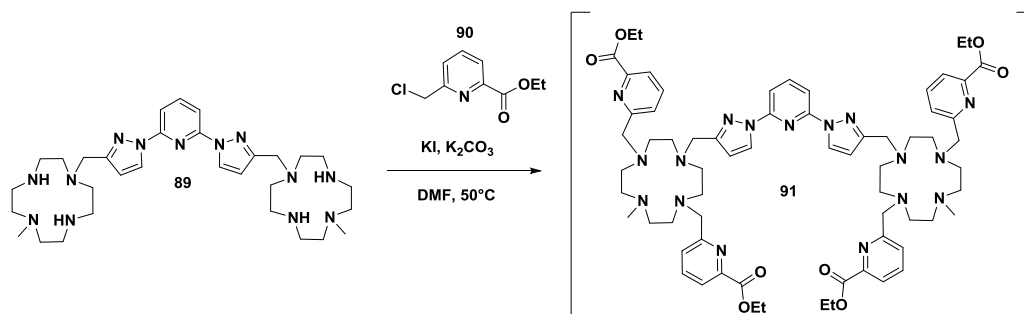
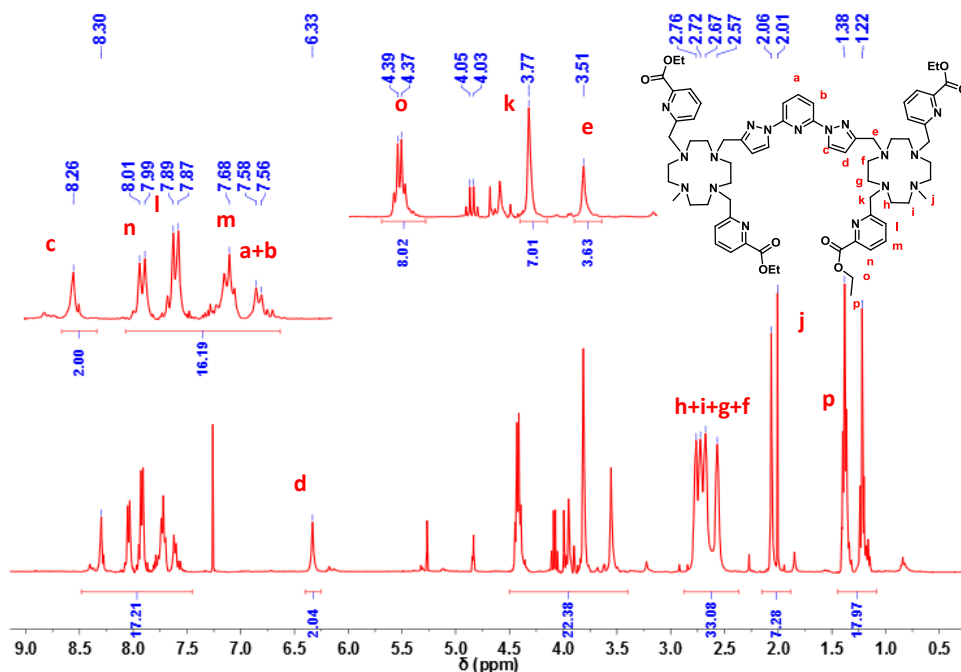


Figure 4. Synthèse de la plate-forme bis-cyclène-bispyrazolylypyridine

## 1.3. N-fonctionnalisation par des éthyle 6-(chlorométhyl)picolinate

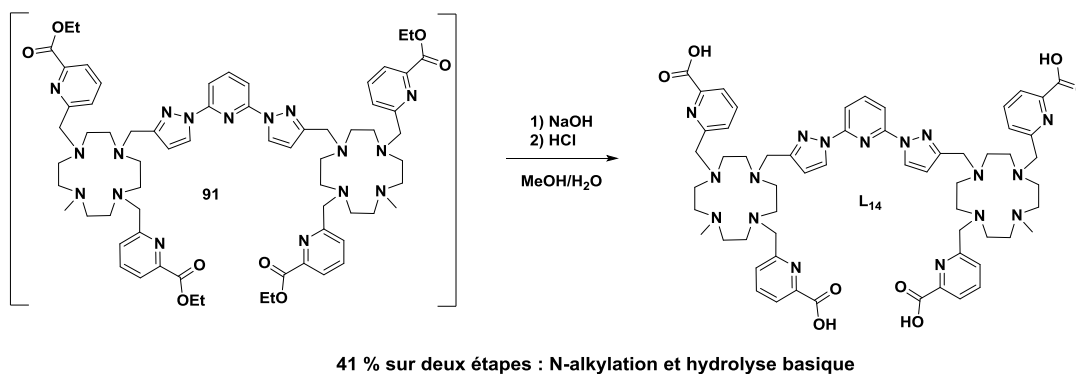
Le composé **89** est alkylé avec des esters chloroéthyle picolinique dans du DMF en présence de  $K_2CO_3$  et de KI (**Figure 5**). L'analyse RMN du brut réactionnel indique que l'alkylation a fonctionné (**Figure 6**). Quand on intègre pour 4 protons le doublet pyrazolique à 6,33 ppm, on retrouve les 16 protons aromatiques des acides picolinique au lieu de 15 et 80 protons aliphatiques au lieu de 70. Cette excès de protons est induit par la possible polyalkylation du chloro ester observée dans le chapitre précédent. On distingue les pics larges intégrant pour les 32 protons méthynéliques des deux cyclènes entre 2,57 et 2,76 ppm. Nous avons tenté de purifier le composé **91** mais sans succès.

Figure 5. Synthèse du composé **91**Figure 6. Spectre RMN ( $CDCl_3$ , 400 MHz) du brut réactionnel lors de la synthèse du composé **91**



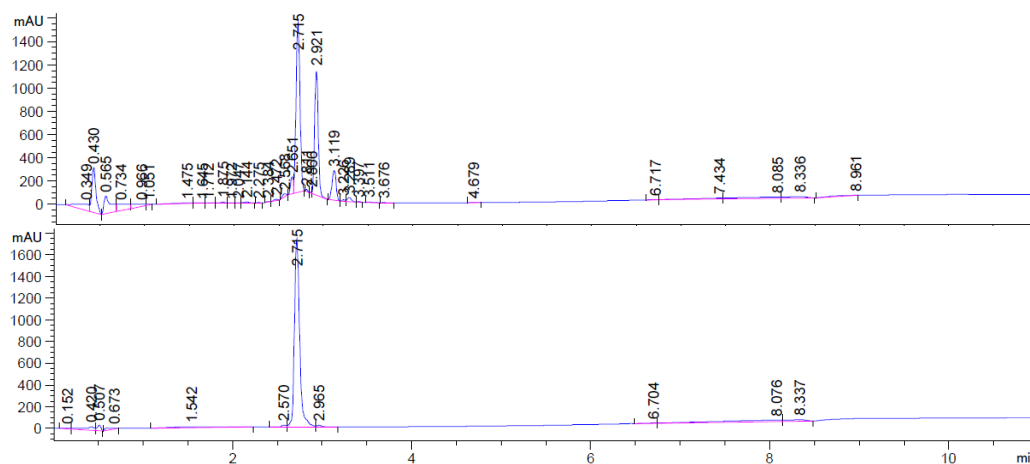
1.4. Synthèse du ligand L<sub>14</sub>

La difficulté à purifier le composé **91**, nous a conduits à l'hydrolyse basique du brut réactionnel (**Figure 7**). L'analyse sur HPLC analytique à 220 nm, nous indique la présence de trois espèces (**Figure 8**).



*Figure 7. Synthèse du ligand L<sub>10</sub>*

L'étude par LC-MS indique que le ligand L<sub>14</sub> correspond au composé avec un temps de rétention de 2,17 minutes. La purification par chromatographie en phase inverse permet d'isoler le ligand L<sub>14</sub> avec un rendement de 41% sur deux étapes. L'analyse sur HPLC après purification indique que L<sub>14</sub> est pur.



*Figure 8. Analyse HPLC du brut réactionnel (haut) et du ligand L<sub>10</sub> (bas)*

Il a été caractérisé par RMN <sup>1</sup>H (**Figure 9**). On arrive à distinguer précisément les protons méthyliques « j » à 2,71 ppm, les protons méthyléniques « h,i,g,f » des cyclènes entre 2,91 et ppm. Le système de spin AB à 4,12 ppm est attribué aux protons méthylénique « k » en alpha

des acides picoliniques indiquant une rotation bloqué du carbone sp<sup>3</sup>. Le singulet à 4,49 ppm est attribué aux protons méthyléniques « e » en alpha des pyrazoles. Les doublets à 6,63 ppm et 8,35 ppm sont attribués respectivement aux protons pyrazoliques « d » et « c ». On retrouve les protons de la pyridine centrale « b » qui forme un doublet à 7,31 ppm et le triplet du proton « a » est caché sous le multiplet à 7,80 ppm. Les protons « m, n » et « l » des acides picoliniques se trouve respectivement à 7,80 ppm et 7,40 ppm.

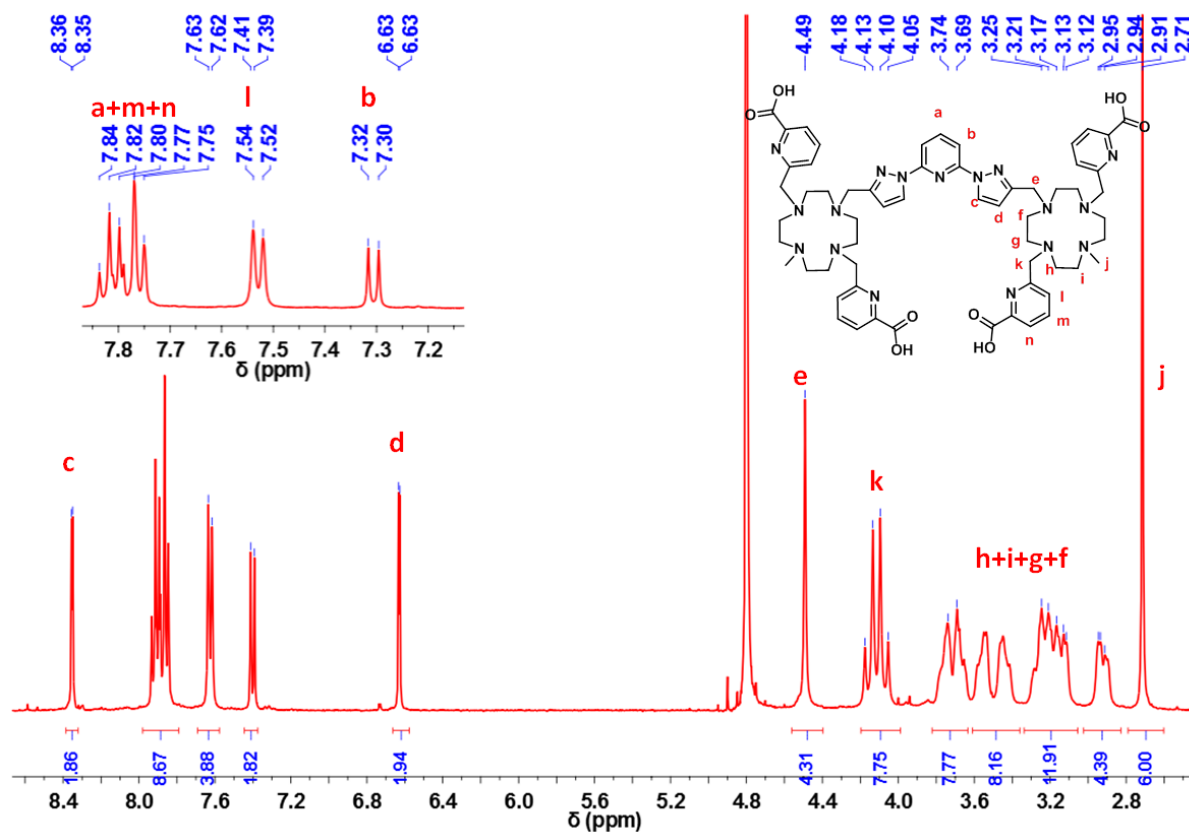


Figure 9. Analyse RMN 1H du ligand L<sub>14</sub> (D<sub>2</sub>O, 25°C, 400MHz)

## 2. Voie de Synthèse B – La voie du cyclène-Boc-O-Succinimide

Nous avons voulu synthétiser un ligand analogue de L<sub>14</sub> contenant une fonction de greffage. Nous avons opté pour la voie de synthèse du ligand L<sub>10</sub>. Les précurseurs de départ sont le cyclène diprotégé par deux groupements *tert*-butoxycarbonyle et la plateforme 4-bromo-2,6-bis(3-(bromométhyl)-1H-pyrazol-1-yl)pyridine (Figure 10).

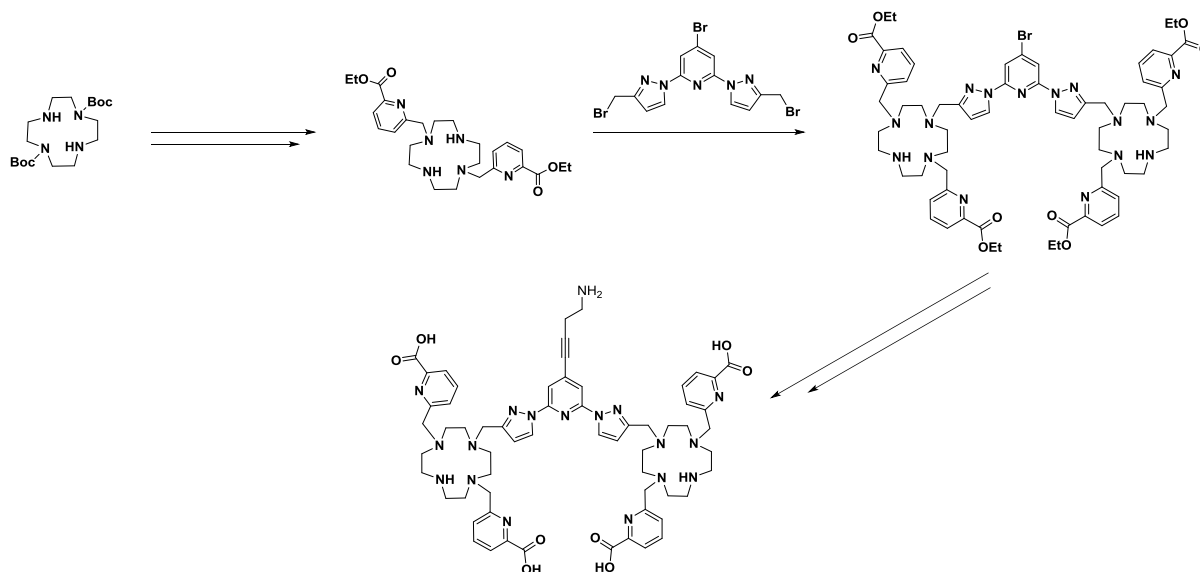


Figure 10. La voie du cyclène-Boc-O-Succinimide

### 2.1. N-fonctionnalisation sur la plateforme 4-bromo-2,6-bis(3-(bromométhyl)-1H-pyrazol-1-yl)pyridine

Le composé **91** est un analogue du composé **48** déjà décrit (cf Chapitre IV Figure 4) sauf que les esters méthyliques sont convertis en esters éthyliques. Il a été obtenu après N-fonctionnalisation de **46** par deux équivalents de l'ester éthyle 6-(chlorométhyl)picolinate commercial suivit d'une déprotection des groupements *tert*-butoxycarboxyle en présence de TFA dans le dichlorométhane (Figure 11).

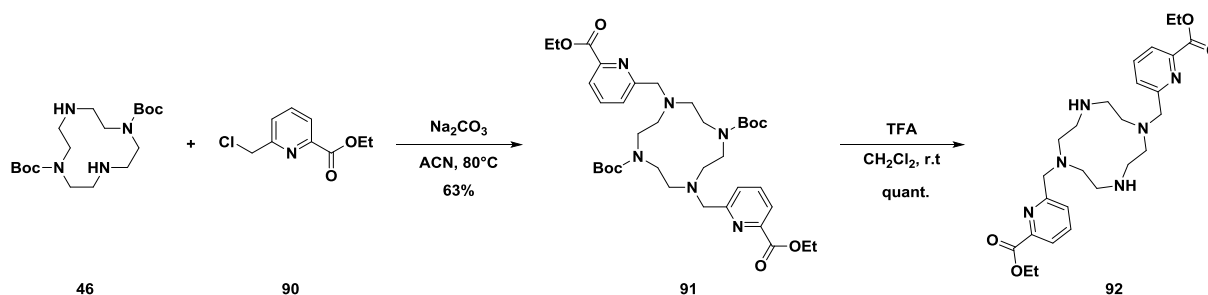


Figure 11. Synthèse du cyclène di-substitué

Le composé **93** est obtenu par N-fonctionnalisation du précurseur **88** en présence de **92**, et de carbonate de sodium dans l'acétonitrile (Figure 12). Il a été purifié par chromatographie sur gel d'alumine. L'analyse LC-MS indique la présence de notre composé sous sa forme di-chargé (656,80 m/z ;  $[M+2H]^{2+}$ ), tri-chargé (438,20 m/z ;  $[M+3H]^{3+}$ ) et tétra-chargé (328,90  $[M+4H]^{4+}$ ).

Un agrandissement sur le pic de l'espèce tri-chargé (**Figure 13**) afin d'observer la distribution montre la présence de trois espèces organiques différentes avec un décalage massique identique entre elles de 14.01 m/z correspondant à la masse d'un groupement méthylène -CH<sub>2</sub>- . Ces masses correspondraient à des composés analogue de **93** dont les esters éthylique sont remplacés par des esters méthylique. Cette transestérification a sans doute été induite durant la purification sur gel d'alumine en présence de MeOH.

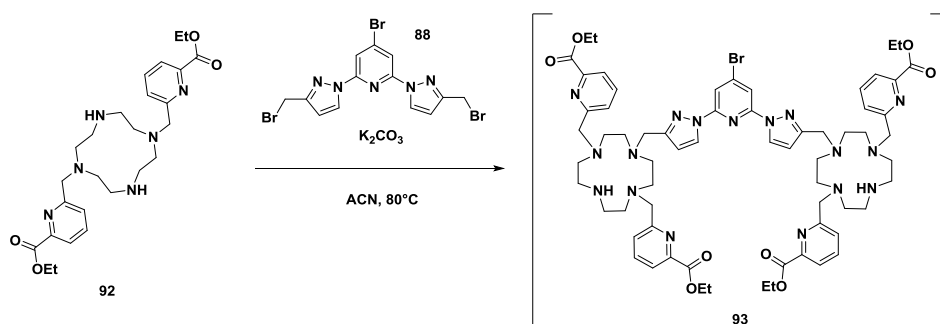


Figure 12. Synthèse du composé 93

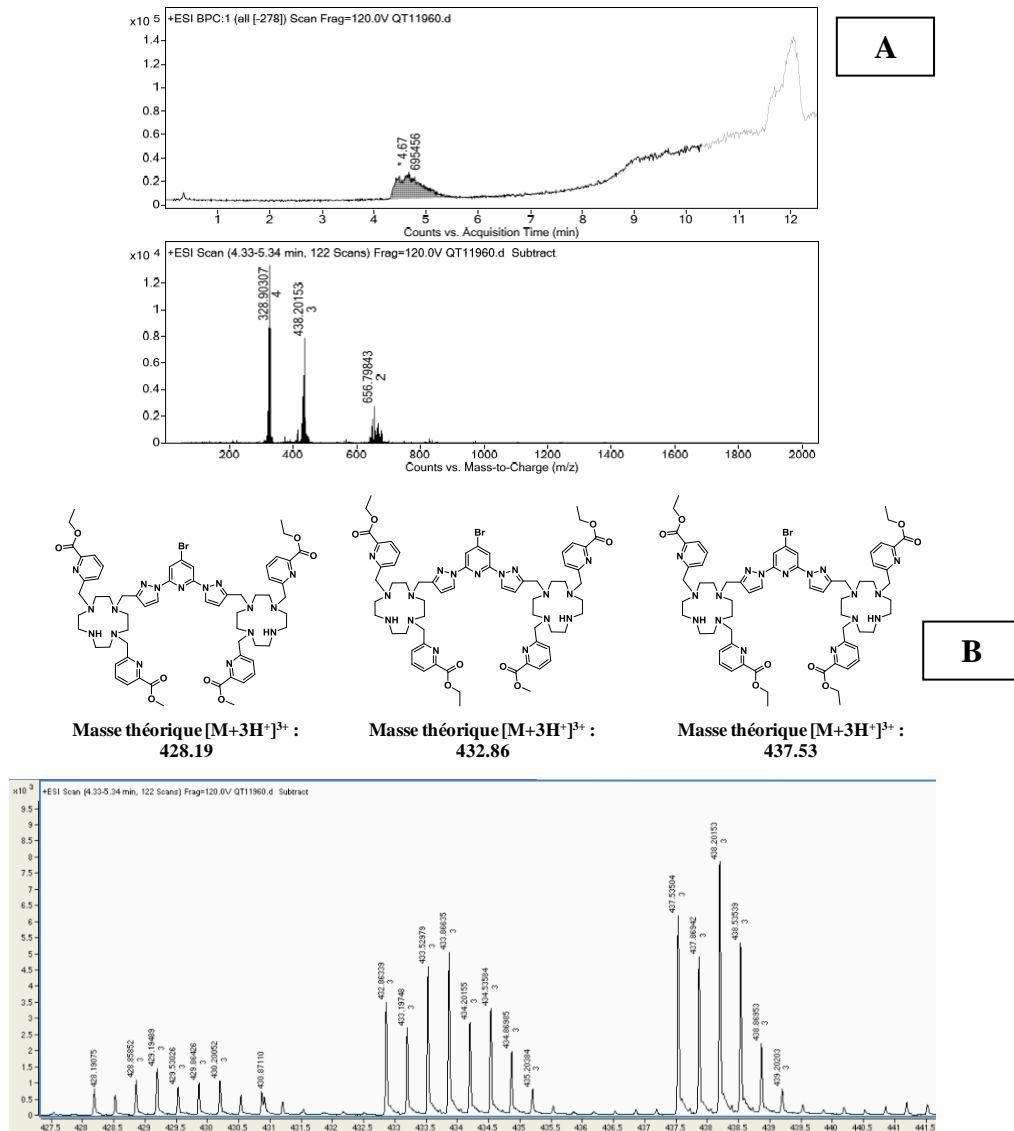
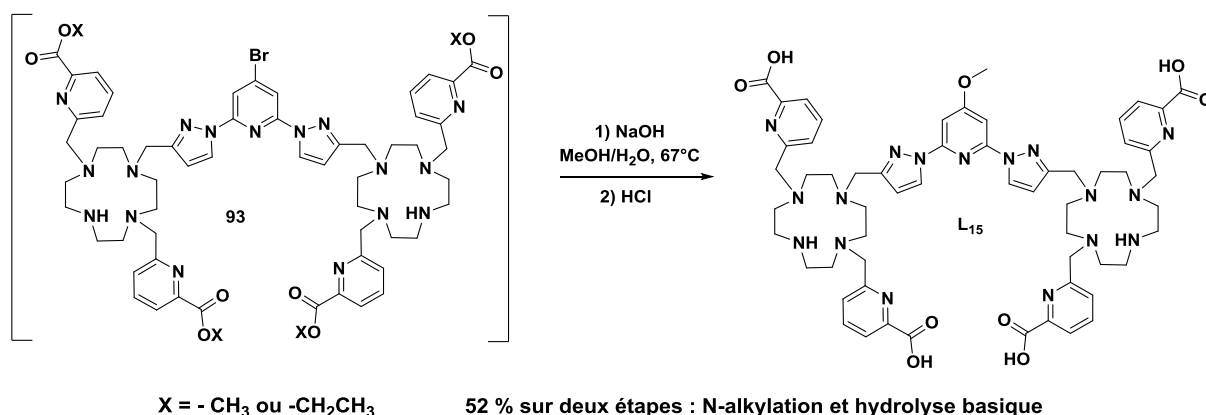


Figure 13. A : Analyse LC-MS du composé 93 ([ACN (+0.1%TFA) - H<sub>2</sub>O (+0.1%TFA)] : gradient pendant 12 min - 5%-95% à 100%-0%). B : Agrandissement du pic à 438,20 m/z

2.2. Synthèse du ligand L<sub>15</sub>Figure 14. Synthèse du ligand L<sub>15</sub>

L<sub>15</sub> est synthétisé par hydrolyse basique des composés **93** et de ces homologues transestérifié (Figure 14). C'est un analogue du ligand L<sub>14</sub> mais L<sub>15</sub> ne possède pas de groupement méthyle et possède un groupement méthoxyle en *para* de la pyridine centrale. Il a été purifié par chromatographie en phase inverse. Durant cette réaction, nous avons substitué accidentellement le brome par un groupement méthoxyle. Le spectre RMN <sup>1</sup>H (Figure 15) nous révèle le singulet à 3,70 ppm attribué aux protons du groupement méthoxyle et cette substitution est confirmée par spectrométrie de masse par ionisation électrospray. L'analyse montre un pic majoritaire de 1150,57 m/z et un pic secondaire de 575,78 m/z correspondant respectivement à l'espèce mono-chargé et di-chargé [L<sub>15</sub>+ H]<sup>+</sup> et [L<sub>15</sub> + 2H]<sup>2+</sup>.

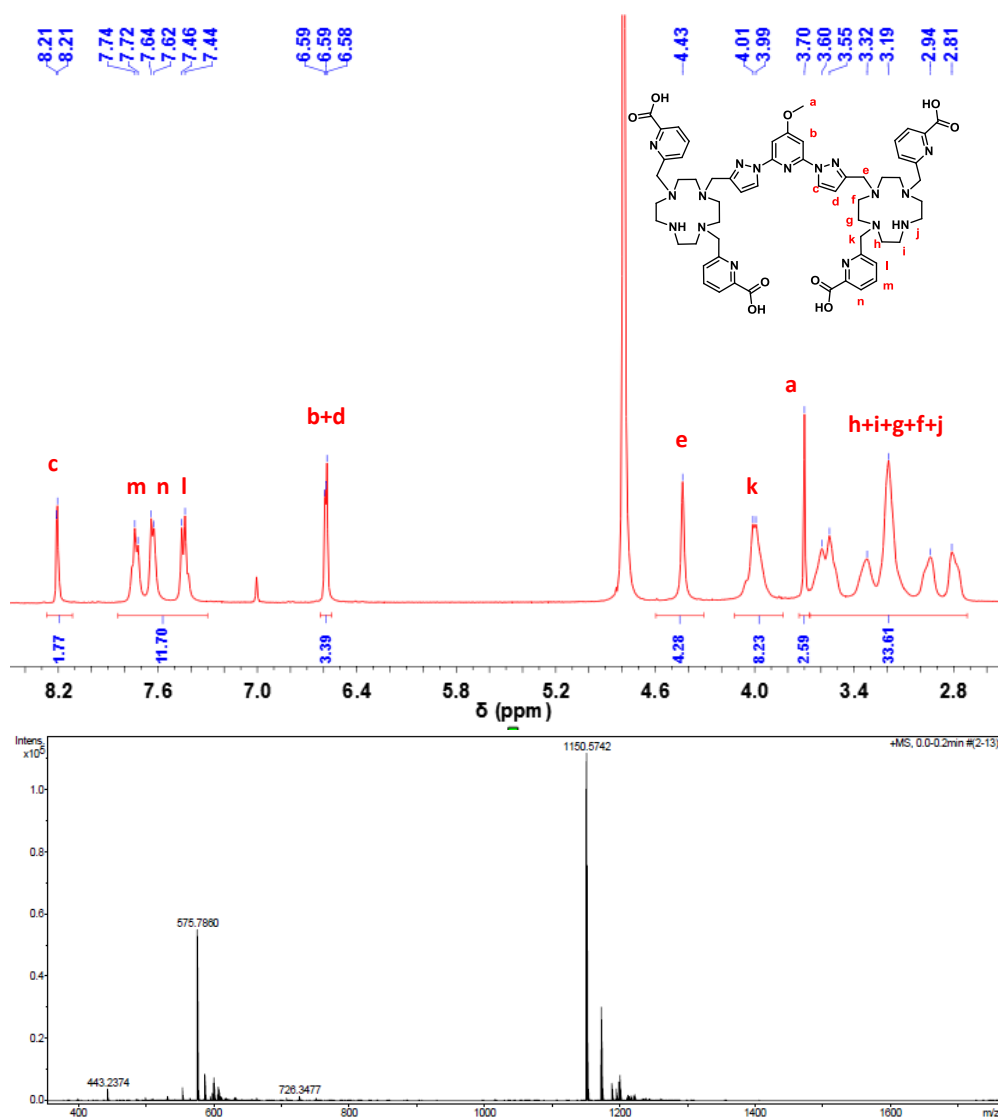


Figure 15. Analyse RMN  $^1\text{H}$  du ligand  $L_{15}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ,  $25^\circ\text{C}$ , 400MHz)

### 3. Synthèse des complexes dinucléaires

Les complexes dinucléaires d'euprium et de terbium de  $L_{14}$  et  $L_{15}$  sont synthétisés en présence de triéthylamine dans le méthanol (Figure 16). Les complexes sont isolés par précipitation.

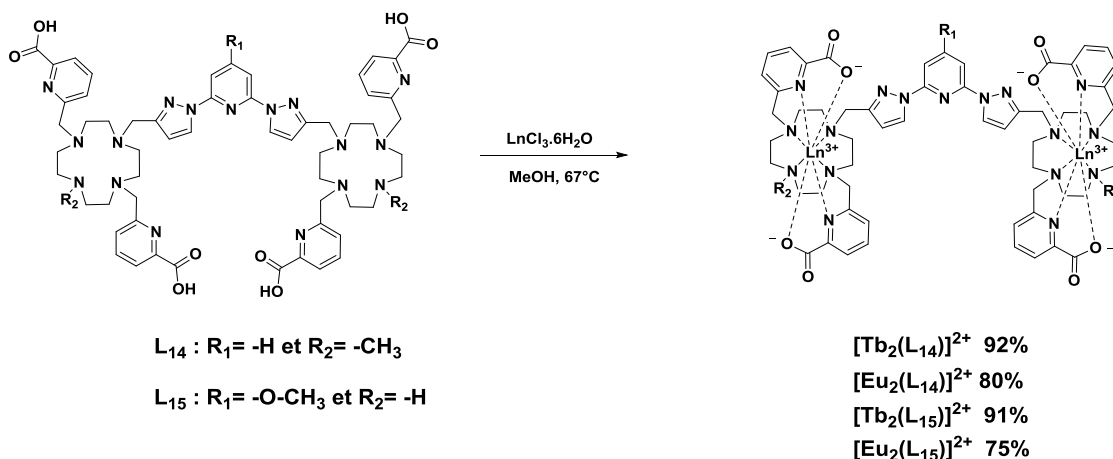
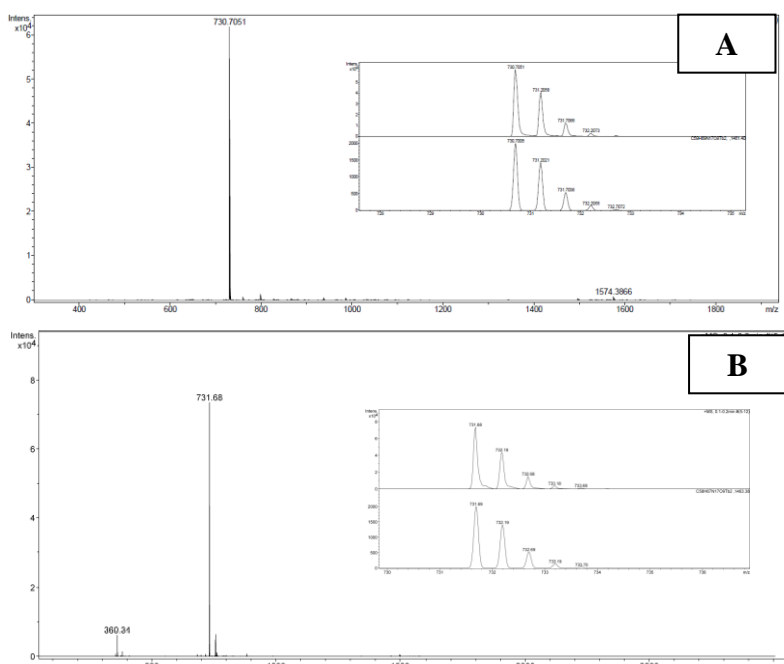


Figure 16. Synthèse des complexes dinucléaires

Les complexes sont caractérisés par spectroscopie de masse par ionisation électrospray (Figure 17). Les pics majoritaires pour  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  et  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  sont observés respectivement à 730,71 m/z et 731,68 m/z et concordent avec les valeurs théoriques de ces deux complexes cationiques ( 730,71 pour  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  et 731,68 pour  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$ ). Le pic majoritaire pour  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  est égale à 723,70 m/z qui correspond à sa valeur théorique (Figure 18). Pour le complexe analogue  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$ , la valeurs observée est de 724,69 m/z comme sa valeur théorique. Nous observons une concordance parfaite de la distribution isotopique pour l'ion  $\text{Eu}^{3+}$  lorsqu'on réalise un agrandissement sur cette région du spectre pour les deux complexes d'euprium.


 Figure 17. Analyse ESI(+) des complexes  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  (A) et  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  (B). Encart : zoom sur les pics majoritaires, spectre mesurée (haut) et spectre calculé (bas)



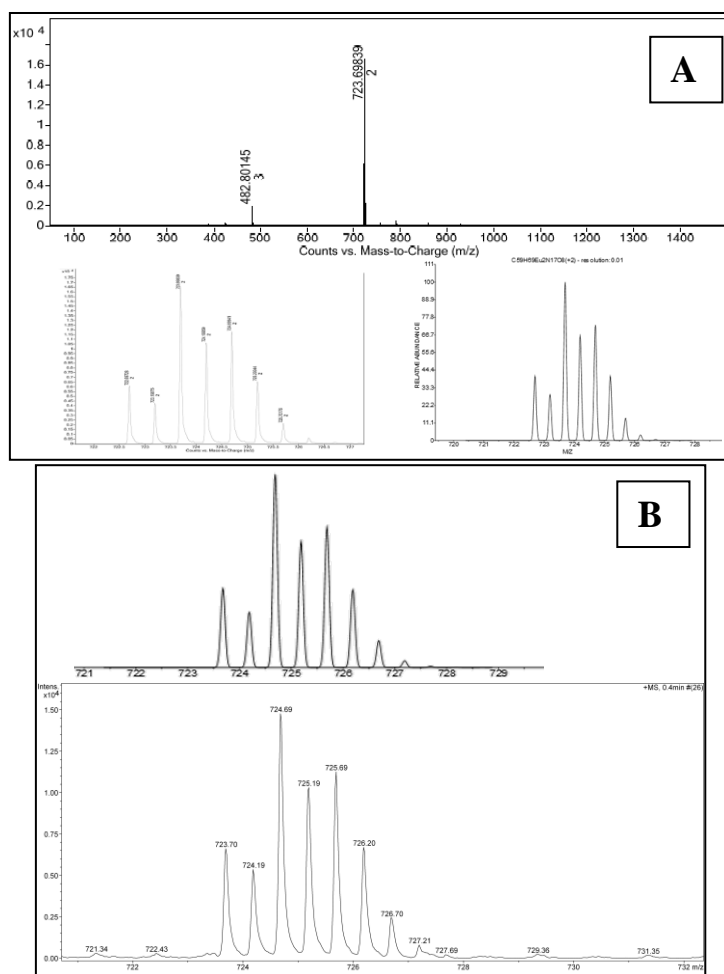


Figure 18. Analyse ESI(+) des complexes  $[Eu_2(L_{14})]^{2+}$  (A) et  $[Eu_2(L_{15})]^{2+}$  (B) et leurs spectres calculés

## II. Etudes Spectroscopiques

### 1. Complexe de terbium

#### 1.1. Spectroscopie d'absorption électronique

Le spectre d'absorption du complexe  $[Tb_2(L_{14})]^{2+}$  (**Figure 19**) montre des bandes avec des maximum à 273 nm ( $\epsilon = 29\,100\, M^{-1}.cm^{-1}$ ), 281 nm ( $\epsilon = 25\,200\, M^{-1}.cm^{-1}$ ) et 302 nm ( $\epsilon = 22\,900\, M^{-1}.cm^{-1}$ ) induites par la superposition des transitions  $\pi\pi^*$  des chromophores picolinique et pyrazolique. Ce sont des bandes caractéristiques de la plateforme bispyrazolypyridine.<sup>3</sup> On n'observe pas de déplacement de la bande à 302 nm vers les longueurs d'ondes supérieur ce qui laisse penser que la pyridine centrale ne participe pas à la coordination du métal.<sup>4</sup> Le complexe  $[Tb_2(L_{15})]^{2+}$  présente principalement une bande large à 273 nm ( $\epsilon = 29\,500\, M^{-1}.cm^{-1}$ ) et un léger épaulement à 290 nm ( $\epsilon = 29\,500\, M^{-1}.cm^{-1}$ ). L'introduction du groupement méthoxyle sur la position *para* de la pyridine centrale induit un déplacement de la bande à

302 nm vers des niveaux d'énergie plus élevés. Ce groupement électrodonneur a sans doute entraîné une contribution plus importantes pour les transitions  $n-\pi^*$ .

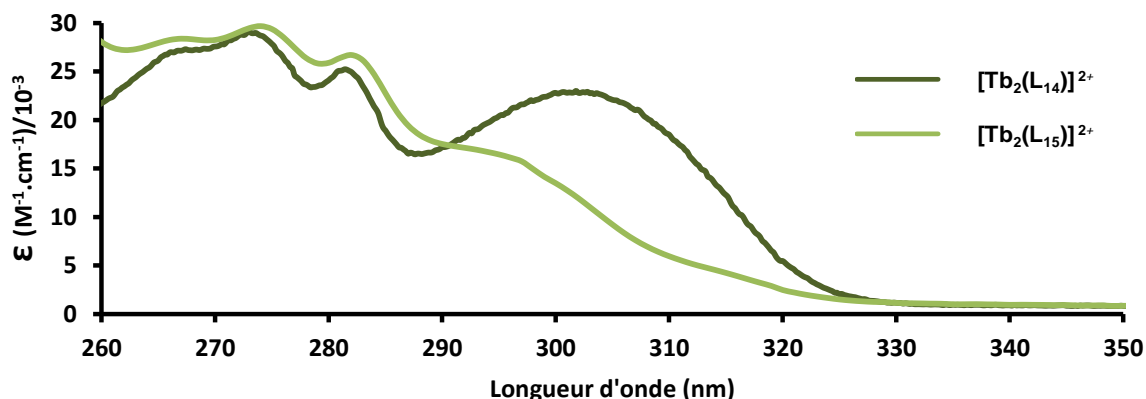


Figure 19. Spectres d'absorption des complexes  $[Tb_2(L_{14})]^{2+}$  et  $[Tb_2(L_{15})]^{2+}$  ( $H_2O/Tris-HCl$  ;  $0,01M/pH=7,0$ )

## 1.2. Spectroscopie d'émission de luminescence

Les spectre d'émission des complexes  $[Tb_2(L_{14})]^{2+}$  et  $[Tb_2(L_{15})]^{2+}$  (Figure 20 et 21) font apparaitre les bandes d'émission du cation Tb (III) pour une excitation respectives à 302 nm et 273 nm. Ces bandes ont été attribuées aux transitions  $^5D_4 \rightarrow ^7F_J (J=5,4,3,2)$  avec un maximum d'émission à 543 nm. On peut noter que les spectres d'excitation et les spectres d'absorption montrent une superposition moindre pour la partie pyridine plus éloignée du cation Tb(III).

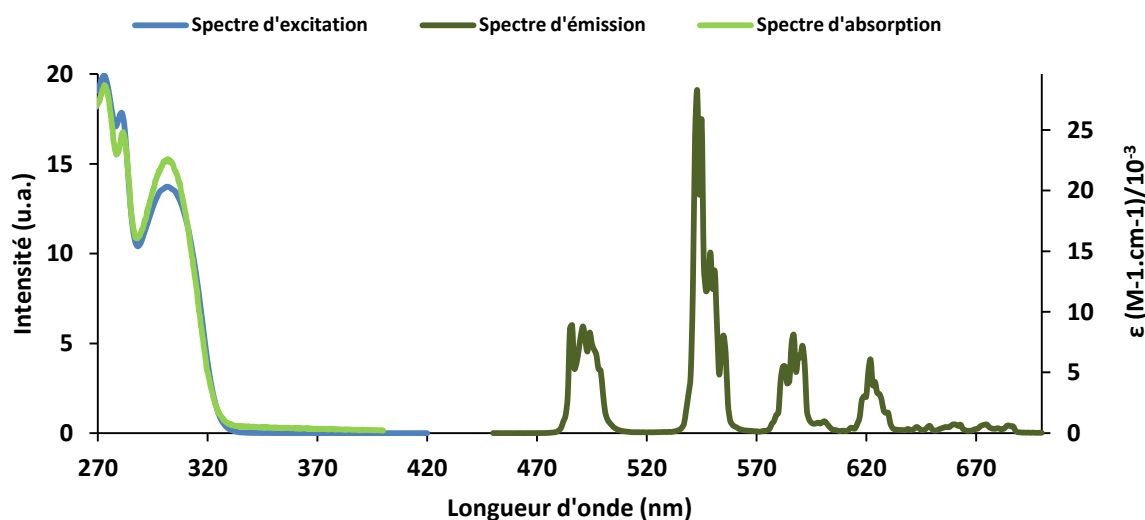


Figure 20. Spectres d'excitation ( $\lambda_{em}=545nm$ ), d'émission ( $\lambda_{exc}=302nm$ ) et spectre d'absorption du complexes  $[Tb_2(L_{14})]^{2+}$  ( $H_2O/Tris-HCl$  ;  $0,01M/pH=7,0$ )

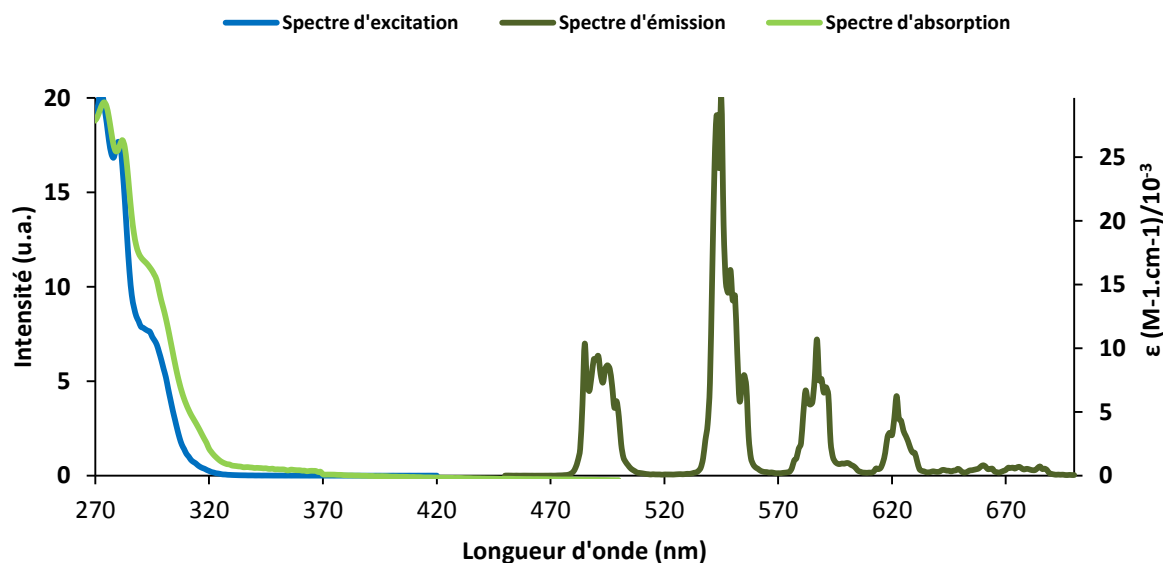


Figure 21. Spectres d'excitation ( $\lambda_{em} = 545$  nm), d'émission ( $\lambda_{exc} = 274$  nm) et spectre d'absorption du complexe  $[Tb_2(L_{15})]^{2+}$  ( $H_2O/Tris-HCl$  ;  $0,01M/pH=7,0$ )

Les temps de vie de luminescence dans l'eau pour les deux complexes sont supérieurs à 2 ms concordant avec les valeurs du complexe dinucléaire  $[Tb_2(L_{10})]^{2+}$  (Tableau 1).  $[Tb_2(L_{14})]^{2+}$  et  $[Tb_2(L_{15})]^{2+}$  ne possèdent pas de molécules d'eau dans la première sphère de coordination grâce au calcul des temps de vie de luminescence dans l'eau et dans le  $D_2O$ .<sup>6</sup> Les travaux du Dr Platas-Iglesias ont montré que la présence de groupement N-H en position 1 et 7 dans les complexes à base de cyclène di-acide picolinique présentent une molécule d'eau qui est déplacé en présence de deux groupements méthyle.<sup>7</sup> Nous avons montré que la présence d'un seul groupement alkyle suffit pour retirer cette molécule d'eau donc on peut en déduire que pour cette famille de ligand la présence du second méthyle n'est pas nécessaire (Figure 22).

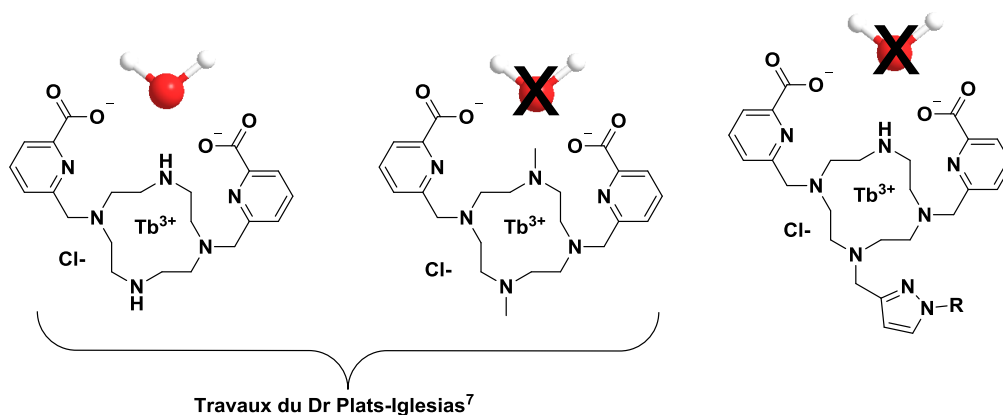


Figure 22. Schéma représentant l'importance des groupement alkyle pour les complexes à base de cyclène et di-acide picolinique

$[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  et  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  possèdent respectivement un rendement quantique dans l'eau de 0,37 et 0,31. On peut expliquer cette légère différence par la présence d'un oscillateur N-H en première sphère de coordination capable de détériorer des propriétés de luminescence des complexes.<sup>8</sup> Il y a une différence d'environ de 20% avec le rendement quantique du complexe dinucléaire  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{10})]^{2+}$ . Elle est induite en partie par une efficacité de transfert d'énergie vers le métal plus faible pour la partie pyridine et par un « quenching » dû au NH.

	$\tau_{\text{H}_2\text{O}}$ (ms)	$\tau_{\text{D}_2\text{O}}$ (ms)	q	$\phi$	$\epsilon_{\text{max}}$ $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$	Brillance ( $\phi^* \epsilon$ ) $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
$[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$	2,21	2,11	0	0,37	22900 ( $\lambda = 302\text{nm}$ )	8500
$[\text{Tb}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$	2,00	2,27	0	0,31	29500 ( $\lambda = 273\text{nm}$ )	9150
$[\text{Tb}_2(\text{L}_{10})]^{2+}$	2,48	2,50	0	0,53	21100 ( $\lambda = 273\text{nm}$ )	11200

Tableau 1. Propriétés photophysiques des complexes  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$ ,  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  et  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{10})]^{2+}$  ( $\text{H}_2\text{O}/\text{Tris-HCl}$ ; 0,01M/pH=7,0)

## 2. Complexe d'euporium

### 2.1. Spectroscopie d'absorption électronique

Le spectre d'absorption du complexe  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  (Figure 23) montre des bandes similaires à celles de  $[\text{Tb}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  avec des maximum à 273 nm ( $\epsilon = 22\,300 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) et 302 nm ( $\epsilon = 17\,950 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Le complexe  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  présente principalement une bande large à 273 nm ( $\epsilon = 29\,500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

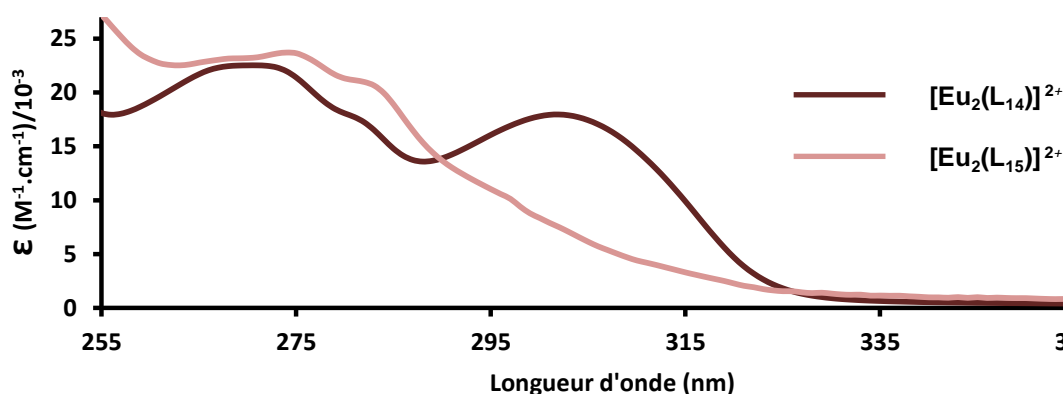
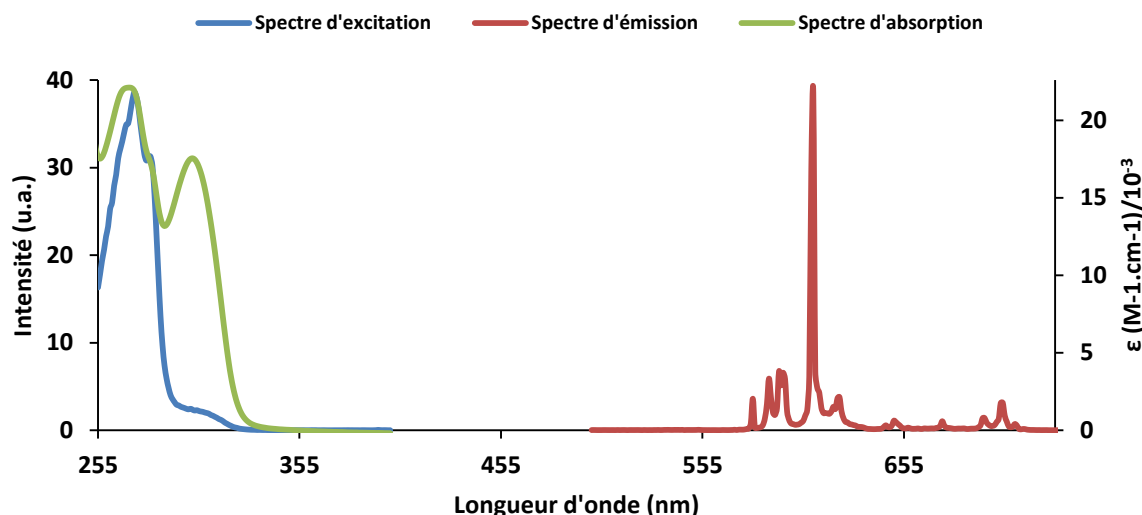


Figure 23. Spectres d'absorption des complexes  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  et  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  ( $\text{H}_2\text{O}/\text{Tris-HCl}$ ; 0,01M/pH=7,0)

## 2.2. Spectroscopie d'émission de luminescence

Les deux spectres d'émission des complexes  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  et  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  (**Figure 24**) font apparaître les bandes d'émission du cation Eu (III) pour une excitation à 273 nm. Ces bandes ont été attribuées aux transitions  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_J$  ( $J=0-4$ ) avec un maximum d'émission à 610 nm. Les bandes d'émission du complexe  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  sont logiquement superposables au complexes d'euporium des ligands  $\text{L}_9$ ,  $\text{L}_{10}$ , et  $\text{L}_{11}$ , qui présente une première sphère de coordination similaire.  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  présente au contraire une bande d'émission  ${}^5\text{D}_0 \rightarrow {}^7\text{F}_4$  plus intense. Cette transition est très sensible à son environnement.<sup>9</sup> Nous supposons que la substitution du méthyle par un proton induit ces variations. Les deux spectres d'excitation des deux complexes sont identiques. Nous remarquons que le spectre d'absorption et le spectre d'excitation de  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  ne sont pas superposables. Ce complexe a la capacité d'absorber à 302 nm mais son excitation ne peut se faire qu'à 274 nm ce qui laisse penser que l'émission de l'ion Eu (III) est induit uniquement par le transfert d'énergie des acides picoliniques. Les rendements quantiques de  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  et de  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  sont respectivement de 0,05 et 0,02 (**Tableau 1**).  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  ne possède pas de molécules d'eau dans la première sphère de coordination d'après les temps de vie de luminescence.  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{15})]^{2+}$  possède un  $q = 0,3$  qui est sans doute du à la présence des oscillateurs N-H.



**Figure 24.** Spectres d'excitation ( $\lambda_{em} = 610$  nm), d'émission ( $\lambda_{exc} = 273$  nm) et spectre d'absorption du complexes  $[\text{Eu}_2(\text{L}_{14})]^{2+}$  ( $\text{H}_2\text{O}/\text{Tris-HCl}$  ; 0,01M/pH=7,0)

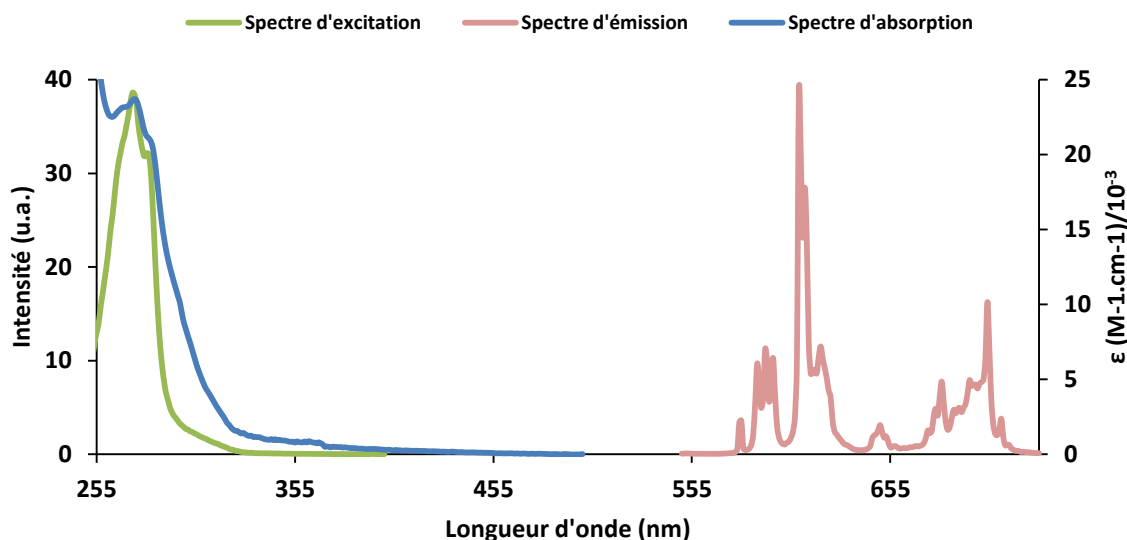


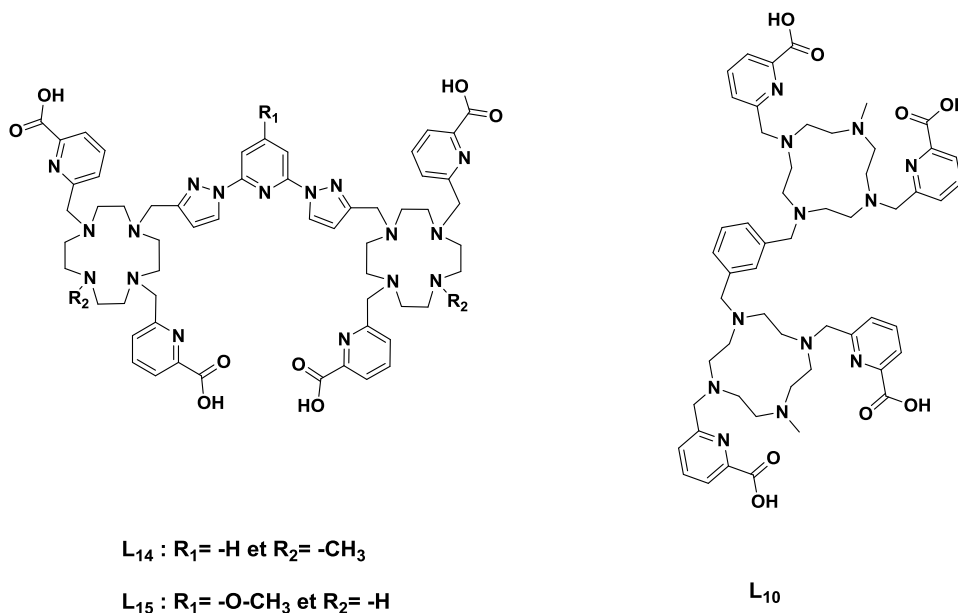
Figure 25. Spectres d'excitation ( $\lambda_{em} = 610$  nm), d'émission ( $\lambda_{exc} = 274$  nm) et spectre d'absorption du complexes  $[Eu_2(L_{15})]^{2+}$  ( $H_2O/Tris-HCl$  ;  $0,01M/pH=7,0$ )

	$\tau_{H_2O}$ (ms)	$\tau_{D_2O}$ (ms)	q	$\phi$	$\epsilon_{max}$ $M^{-1}.cm^{-1}$	Brillance ( $\phi^*\epsilon$ ) $M^{-1}.cm^{-1}$
$[Eu_2(L_{14})]^{2+}$	0,91	1,27	0	0,05	22300 ( $\lambda = 273nm$ )	1100
$[Eu_2(L_{15})]^{2+}$	0,41	0,52	0,3	0,02	23711 ( $\lambda = 274nm$ )	500

Tableau 1. Propriétés photophysiques des complexes  $[Eu_2(L_{14})]^{2+}$  et  $[Eu_2(L_{15})]^{2+}$  ( $H_2O/Tris-HCl$  ;  $0,01M/pH=7,0$ )

### III. Conclusion

Les complexes de terbium des ligands bis-cyclène-bispyrazolylpyridine présentent des propriétés photophysique intéressantes avec des rendements quantiques respectifs de 37% et 31% pour  $[\text{Tb}_2(\mathbf{L}_{14})]^{2+}$  et  $[\text{Tb}_2(\mathbf{L}_{15})]^{2+}$ . Les valeurs des complexes de terbium à base de pyridine-bis-pyrazoles varient souvent avec la modulation de la position *para* de la pyridine centrale.<sup>10,11</sup>



Les complexes d'euprium des ligands  $\mathbf{L}_{14}$  et  $\mathbf{L}_{15}$  présentent des rendements quantiques et des temps de vie luminescence faible correspondant à ce qu'on retrouve dans la littérature<sup>12,13</sup> notamment pour le complexe  $[\text{Eu}_2(\mathbf{L}_{14})]^{2+}$ . Quand on compare les complexes dinucléaires  $[\text{Tb}_2(\mathbf{L}_{10})]^{2+}$  et  $[\text{Tb}_2(\mathbf{L}_{14})]^{2+}$ , on remarque que l'augmentation du nombre chromophore de la plateforme central n'augmente pas la brillance.  $\mathbf{L}_{14}$  et  $\mathbf{L}_{15}$  ont une meilleure efficacité d'absorption mais un transfert d'énergie vers le métal plus faible car le transfert ne se réalise principalement que via les acides picoliques. Cette donnée explique pourquoi  $\mathbf{L}_{10}$  possède une brillance plus élevée que  $\mathbf{L}_{14}$  et  $\mathbf{L}_{15}$ . L'amélioration de la brillance de nos composés dinucléaires ne nécessite pas la modulation de la plateforme centrale mais des chromophores picoliniques directement reliés à l'ion Ln (III).

#### IV. Bibliographie

- (1) Kadjane, P.; Starck, M.; Camerel, F.; Hill, D.; Hildebrandt, N.; Ziessel, R.; Charbonnière, L. J. *Inorg. Chem.* **2009**, *48* (11), 4601–4603.
- (2) Schlosser, M.; Bobbio, C.; Rausis, T. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (7), 2494–2502.
- (3) Brunet, E.; Juanes, O.; Sedano, R.; Rodríguez-Ubis, J.-C. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1* (8), 613–618.
- (4) Nchimi Nono K.; Lecointre, A.; Regueiro-Figueroa, M.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. J. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (5), 1689–1697.
- (5) Regueiro-Figueroa, M.; Bensenane, B.; Ruscsák, E.; Esteban-Gómez, D.; Charbonnière, L. J.; Tircsó, G.; Tóth, I.; Blas, A. de; Rodríguez-Blas, T.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (9), 4125–4141.
- (6) Beeby, A.; Clarkson, I. M.; Dickins, R. S.; Faulkner, S.; Parker, D.; Royle, L.; Sousa, A. S. de; Williams, J. A. G.; Woods, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1999**, No. 3, 493–504.
- (7) Rodríguez-Rodríguez, A.; Esteban-Gómez, D.; de Blas, A.; Rodríguez-Blas, T.; Fekete, M.; Botta, M.; Tripier, R.; Platas-Iglesias, C. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (4), 2509–2521.
- (8) Horrocks, W. D.; Sudnick, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (2), 334–340.
- (9) Binnemans, K. *Coord. Chem. Rev.* **2015**, *295*, 1–45.
- (10) Alexandre Lecointre; Regueiro-Figueroa, M.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. J. *Inorg. Chem.* **2011**, *50* (5), 1689–1697.
- (11) Starck, M.; Kadjane, P.; Bois, E.; Darbouret, B.; Incamps, A.; Ziessel, R.; Charbonnière, L. J. *Chem. – Eur. J.* **2011**, *17* (33), 9164–9179.
- (12) Guanci, C.; Giovenzana, G.; Lattuada, L.; Platas-Iglesias, C.; Charbonnière, L. J. *Dalton Trans* **2015**, *44* (16), 7654–7661.
- (13) Nocton, G.; Nonat, A.; Gateau, C.; Mazzanti, M. *Helv. Chim. Acta* **2009**, *92* (11), 2257–2273.







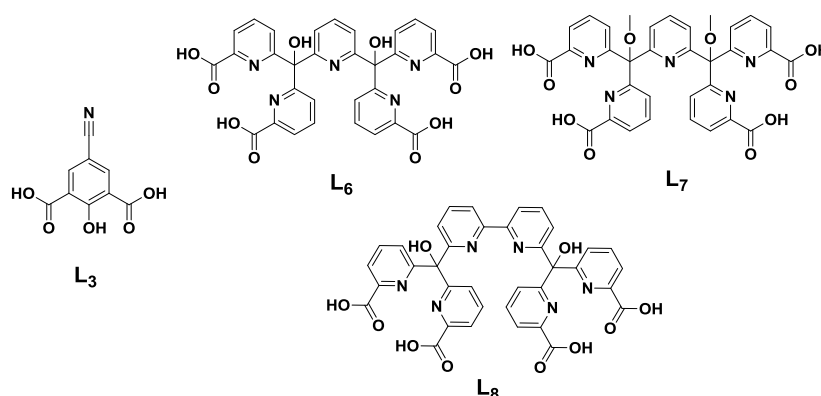
# **CHAPITRE VI :**

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**



Ce travail de thèse a porté sur la synthèse de nouveaux complexes luminescents de lanthanide afin de les utiliser dans le diagnostic du choc septique. Les complexes devaient posséder une longueur d'excitation idéale pour l'analyse biologique, un temps de vie de luminescence long et une brillance élevée. Pour ce faire, le choix s'est principalement porté sur des antennes de type picolinate, potentiellement fonctionnalisable pour adapter la longueur d'onde d'excitation. Nous avons travaillé sur plusieurs types de ligands afin de synthétiser des complexes respectant ces objectifs.

La recherche sur les ligands dérivés du cyanophénol a permis d'obtenir **L<sub>3</sub>** utilisé comme sensibilisateur de nanoparticules « ultra-brillantes ». La stabilité du ligand à la surface des NPs a permis de les introduire dans des cellules cancéreuses de type Hela24 et des expériences de localisation ont montrées leur présence dans les lysosomes. Ces travaux en collaboration avec Joan Goetz, doctorant dans notre laboratoire vont permettre de développer d'autres ligands analogues de **L<sub>3</sub>** afin d'améliorer les propriétés des nanoparticules « ultra-brillantes » qui en feront de nouveaux outils très prometteurs dans le développement de nouvelles nanotechnologies utilisable en bioanalytique.



*Figure 1. Structure des ligands L<sub>3</sub>, L<sub>6</sub>, L<sub>7</sub> et L<sub>8</sub>*

Nous avons synthétisés les ligands **L<sub>6</sub>**, **L<sub>7</sub>** et **L<sub>8</sub>**, des ligands polypyridiniques composés de 5 groupements chromophoriques qui ont l'avantage d'être synthétisés en peu d'étapes. Nous n'avons pas réussi à obtenir les complexes isolés d'Eu (III) et de Tb (III) du ligand **L<sub>7</sub>** au contraire de son analogue bipyridinique **L<sub>8</sub>**. Mais le complexe d'euporium **[Eu(L<sub>8</sub>)]** semble être un complexe non symétrique indiquant une mauvaise coordination des acides picoliniques du ligand. Il serait intéressant de protéger ou de substituer les fonctions alcool de **L<sub>8</sub>** afin de forcer la formation d'un complexe symétrique. Les perspectives pour **L<sub>8</sub>** sont très intéressantes car la modulation des acides picoliniques permettrait d'obtenir des ligands









**CHAPITRE VII :**  
**PARTIE EXPERIMENTALE**



## I. General Methods

### Solvents and reagents

Solvents and starting materials were purchased from Aldrich, Acros, Alfa Aesar and Chematech (Dijon, France). THF was distilled over benzophenone and sodium. CH<sub>3</sub>CN was dried over an alumina oxide column. DMF and Et<sub>3</sub>N were distilled over KOH under reduced pressure.

### NMR Spectroscopy

NMR spectra were recorded on a Bruker 500, 400 or 300 MHz spectrometer. Chemical shifts are reported in ppm using non deuterated residual solvents as reference. The multiplicity of signals are given for the <sup>1</sup>H NMR spectra (s: singlet, d: doublet, dd: doublet of doublet t: triplet, q: quadruplet, m: multiplet) and the coupling constants *J* are given in Hertz (Hz). The data were analysed with *MestReNova* software.

### Mass spectrometry and LC/MS Analysis:

Mass spectrometry and LC/MS Analysis were carried out by the “Service Commun d'Analyses” of the University of Strasbourg and was recorded on MicroTOF Bruker equipped with an electrospray source.

### Elemental analysis

Elemental analysis was carried out by the “Service d'analyses, de mesures physiques et de spectroscopie optique” of the University of Strasbourg. It was recorded on Flash 2000 of ThermoFisher Scientific

### Absorption and emission spectroscopy

UV/Vis absorption spectra were recorded on a Specord 205 or Perkin Elmer. Emission spectra were recorded on a Horiba Jobin Yvon Fluorolog working with a continuous 450W Xe Lamp, or on an Edinburgh Instrument spectrometer working with a continuous 450W Xe Lamp. Phosphorescence lifetimes were measured on the same instrument working in phosphorescence mode, with a 70 μs delay time using a Xenon flash lamp as the excitation source. The decays were analyzed with the software F900 from Edinburgh Instrument.

The luminescence quantum yield is between 0 and 1 and can be expressed as a percentage. The calculation of the quantum yields ( $\Phi$ ) may be performed by a method of comparing the integral of the emission spectra of the test compounds (X) to those of reference compounds ( $X_{\text{ref}}$ ), the quantum yields ( $\Phi_{\text{ref}}$ ) are known.<sup>1</sup> The absorbance of the sample (A) and those of the reference solutions ( $A_{\text{ref}}$ ), however, must be determined and quantum yields are bound by the following formula:

$$\frac{\Phi}{\Phi_{\text{ref}}} = \frac{(n)^2}{(n_{\text{ref}})^2} * \frac{1-10^{A_{\text{ref}}}}{1-10^A} * \frac{X}{X_{\text{ref}}} * \frac{I_{\lambda}}{I_{\lambda_{\text{ref}}}}$$

The index “n” represents the refractive index of the medium. When the reference and sample are dissolved in the same solvent, the removal of this report simplifies the equation. “ $I_{\lambda}$ ” represents the intensity of the light beam incident to the wavelength  $\lambda$ . When measurements are made with dilute solutions ( $A < 0.05$ ) and spectra measured under the same conditions of excitation and emission, the equation is:

$$\frac{\Phi}{\Phi_{\text{ref}}} = \frac{X}{X_{\text{ref}}} * \frac{A_{\text{ref}}}{A}$$

For the terbium complexes in water, the reference used is the Rhodamine 6G ( $\Phi = 0.76$  in  $\text{H}_2\text{O}$  for  $\lambda_{\text{ex}} = 488$  nm) and for the europium complex, the reference is the complex tris-bipyridine ruthenium chloride ( $\Phi = 0.04$  in  $\text{H}_2\text{O}$  for  $\lambda_{\text{ex}} = 450$  nm).<sup>2</sup> Estimated errors are  $\pm 15\%$ .

## II. Compounds synthesized

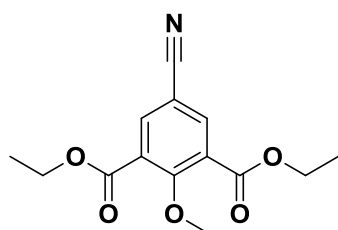
### 1. Compounds of Chapter II

#### Compound 4

**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 277.10

**Molecular Weight:** 277.28



Compound **3** (200mg, 0.52 mmol) and [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (18 mg) were dissolved in a mixture of ethanol (10 mL) and distilled Et<sub>3</sub>N (5mL). A flow of carbon monoxide was bubbled through the solution and the mixture was heated at 80°C during 3h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The

residue was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and filtered on cotton. The mother liquor was concentrated. Purification by column chromatography on silica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - AcOEt : 90% - 10%) gave a white solid. Yield (105 mg – 73%).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.17(s, 2H); 4.41(q, *J* = 7.1 Hz, 4H); 3.99 (s, 3H); 1.41(t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 163.9, 162.61, 138.1, 128.3, 116.9, 107.5, 64, 62.2, 14.2.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 300.08, calcd for ([C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub>+Na]<sup>+</sup>) 300.08 .

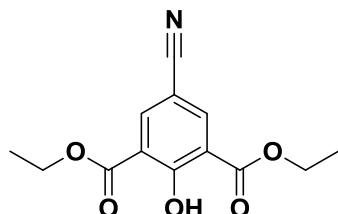
**Elem. Anal. :** Fd, C, 60.79; H, 5.56; N, 5.01%; **Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub>,** C, 60.64; H, 5.45; N 5.05%.

**Compound 6**

**Chemical Formula:** C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 263.08

**Molecular Weight:** 263.25



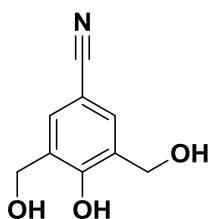
3,5-diiodo-4-hydroxybenzonitrile (200mg, 0.54 mmol) and [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (18 mg) were dissolved in a mixture of ethanol (13 mL) and distilled Et<sub>3</sub>N (5mL). A flow of carbon monoxide was bubbled through the solution and the mixture was heated at 80°C during 7h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> and filtered on cotton. The mother liquor was concentrated. Purification by column chromatography on silica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gave a white solid. Yield (132 mg - 92%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.4 (s, 1H); 8.32 (s, 2H); 4.45 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H); 1.43 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.9, 164.3, 139.4, 118.1, 117.4, 102.5, 62.4, 14.1.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 286.07, calcd for ([C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>+Na]<sup>+</sup>) 286.07.

**Elem. Anal. :** Fd, C, 59.57; H, 5.10; N, 5.24%; **Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>,** C, 59.31; H, 4.98; N, 5.32%.

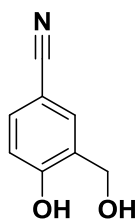


**Compound 8**

**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>

**Exact Mass:** 179.06

**Molecular Weight:** 179.18



**Compound 9**

**Chemical Formula:** C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>

**Exact Mass:** 149.05

**Molecular Weight:** 149.15

To an aqueous solution of NaOH (13 mL, 39 mmol) cooled at 0 °C, 4-hydroxybenzonitrile (2 g, 16.7 mmol) was added. An aqueous solution of formaldehyde (37%, 11.13 mL) was added and the reaction was stirred at 55 °C for 3 days. The solution was allowed to reach room

temperature and ethyl acetate (50 mL) was added. The organic layer was discarded and ethyl acetate (50 mL) and a saturated aqueous solution of  $\text{NH}_4\text{Cl}$  were added to the remaining aqueous phase. The organic phase was collected and dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent in vacuo left a residue which was purified by column chromatography on silica ( $\text{CHCl}_2$ -MeOH: 95%-5%). Affording compound **8** (381 mg – 12%) and **9** (711 mg – 28%).

### Compound 8

$^1\text{H NMR}$  (25°C, 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.52 (s, 2H); 4.71 (s, 4H).

$^{13}\text{C NMR}$  (25°C, 100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  158.7, 131.6, 130.1, 120.5, 103.2, 61.1.

**Elem. Anal.:** Fd, C, 59.94; H, 5.40; N, 7.59%; **Calcd for  $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_3$ ,** C, 60.33; H, 5.06; N, 7.82%.

**MS (ESI+, MeOH):**  $m/z$  179.06, calcd for ( $[\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_3]$ ) 179.06

### Compound 9

$^1\text{H NMR}$  (25°C, 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.66 (d, 1H,  $J = 2.1$  Hz); 7.48 (dd, 1H,  $J = 8.5$  Hz, 2.4 Hz); 6.88 (d, 1H,  $J = 8.1$  Hz); 4.64 (s, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$  (25°C, 100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  160.4, 133.7, 132.8, 131, 120.7, 116.5, 103, 59.7.

**Elem. Anal.:** Fd, C, 64.09; H, 5.06; N, 9.13; **Calcd for  $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_3$ ,** C, 64.42; H, 4.73; N, 9.39%.

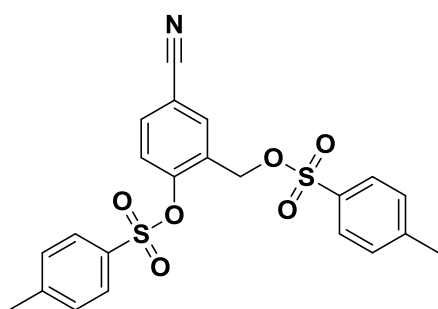
**MS (ESI+, MeOH):**  $m/z$  149.05, calcd for ( $[\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_2]$ ) 149.05

### Compound 11

**Chemical Formula:**  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{NO}_6\text{S}_2$

**Exact Mass:** 457.07

**Molecular Weight:** 457.52



To a stirred THF solution (7 mL) of **9** (100 mg, 0.67 mmol) was added 0.5 N aq. NaOH (7.4 mL) solution at 0°C. To the resulting solution was added *p*-toluenesulfonyl chloride (797 mg, 8.37 mmol) dissolved in 5 mL of THF. The reaction mixture was stirred at 0°C for 4 h then was evaporated and the residue was

partitioned between ethyl acetate and water. The organic phase was washed with water and dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent in vacuo left a residue which was purified by column chromatography on silica ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), affording compound **10** as a white solid. Yield (143 mg – 47%).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.72 (m, 4H), 7.56 (m, 2H), 7.35(m, 4H), 7.22 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 4.89 (s, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.45 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 149.1, 146.8, 145.5, 133.7, 133.6, 132.5, 131.5, 130.3, 130.1, 129.4, 128.4, 127.9, 123.5, 117.2, 111.4, 64.72, 21.85, 21.17.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 496.03, calcd for ([C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>+K]<sup>+</sup>) 496.03

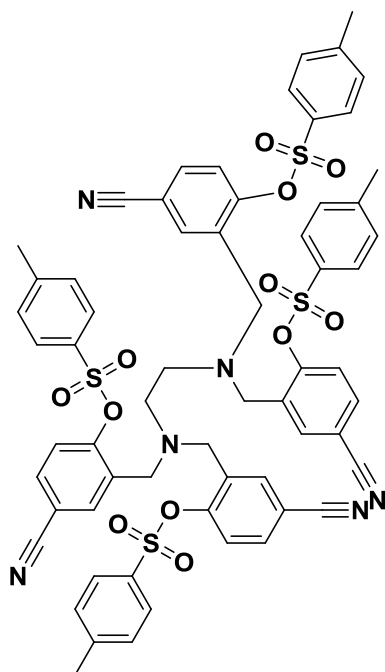
**Elem. Anal.:** Fd, C, 57.55; H, 4.27; N, 2.97%; **Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>,** C, 57.75; H, 4.19; N, 3.06%.

## Compound 12

**Chemical Formula:** C<sub>62</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>S<sub>4</sub>

**Exact Mass:** 1200.25

**Molecular Weight:** 1201.37



To a solution of **11** (426 mg, 0.93 mmol) in acetonitrile was added KI (155 mg, 0.93 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (193 mg, 1.39 mmol) and ethylenediamine (13 mg, 0.21 mmol). The reaction mixture was stirred at refluxed overnight. Insoluble inorganic salts were removed by filtration and the volatile components were evaporated. Purification by column chromatography on silica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gave **11** as white solid. Yield (180 mg – 70 %).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.76(d, *J* = 7.6 Hz, 8H); 7.59 (d, *J* = 2.3 Hz, 4H); 7.44(dd, *J* = 7.8, 2.3 Hz, 4H) ; 7.38(d, *J* = 7.6 Hz, 8H); 6.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H); 3.46 (s, 8H) ; 2.46 (s, 12H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 150.9, 146.3, 134.4, 134.1, 132.3, 132.2, 130.3, 128.5, 123.3, 117.7, 111.3, 52.7, 52.5, 21.8.

**Elem. Anal.:** Fd, C, 61.82; H, 4.44; N,6.85%; **Calcd for C<sub>62</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>S<sub>4</sub>,** C,61.98; H,4.36; N, 7.00%.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 1201.26, calcd for ([C<sub>62</sub>H<sub>53</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>S<sub>4</sub>]<sup>+</sup>) 1201.25

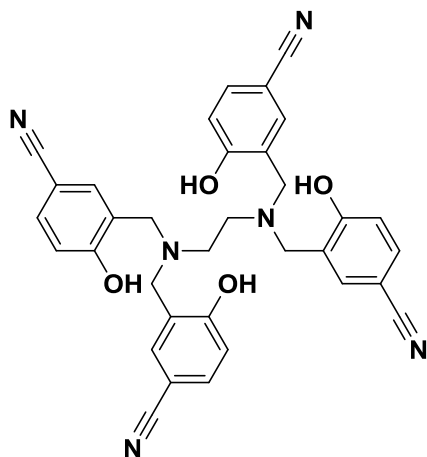


**L<sub>2</sub>**

**Chemical Formula:** C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

**Exact Mass:** 584.22

**Molecular Weight:** 584.64



Compound **12** and 4 mL of aqueous NaOH (2M) were added in 8mL of MeOH and heated at 80°C. The MeOH an evaporated. The aqueous phase was acified with an aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl. The remaining solution extracted with AcOEt (×3). The combined organic phases were dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and the solvent removed in vacuo. Purification by column chromatography on silica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - MeOH : 95 % - 5 %) gave **L<sub>2</sub>** as white solid. Yield (20 mg – 24 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, DMSO): δ 7.50 (m, 8H); 6.84 (d,

*J* = 8.1 Hz, 4H); 3.59 (s, 8H); 2.61 (s, 4H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 161.1, 134.4, 133.4, 125.34, 119.9, 116.6, 101.2, 53.5, 50.3.

**MS (ESI+, DMSO):** m/z 585.22, calcd for ([C<sub>34</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> + H]<sup>+</sup>) 585.23

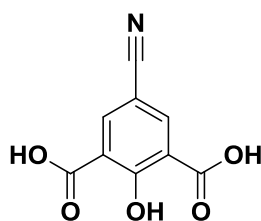
**Elem. Anal.:** Fd, C; 68.03; H, 5.22; N, 13.10%; **Calcd for C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>·MeOH,** C, 68.17; H; 5.23; N, 13.63%.

**L<sub>3</sub>**

**Chemical Formula:** C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 207.02

**Molecular Weight:** 207.14



Compound **6** (455mg, 1.73 mmol) was dissolved in MeOH (6 mL) and 1g of KOH dissolved in water (4 mL) was added. The reaction was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was evaporated to dryness. The crude product was washed with MeOH. The white solid was dissolved in water and acidified with aqueous HCl 1M

to pH 2 resulting in the formation of a precipitate. The white solid was isolated by centrifugation to give ligand **L<sub>3</sub>**. Yield (337 mg - 94 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 8.49 (s, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 170.1, 168.6, 167.3, 135.6, 121.4, 117.5.

**MS (ESI-):**  $m/z$  206.02, calcd for  $([C_9H_5NO - H]^-)$  206.02.

**Elem. Anal.:** **Fd**, C, 37.8%; H, 2.41; N, 4.09%; **Calcd for**  $C_9H_5NO_5 \cdot KCl \cdot MeOH$ , C, 38.28; H, 2.89; N, 4.46%.

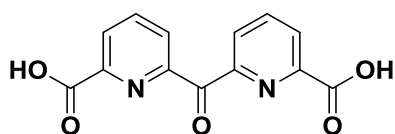
## 2. Compounds of Chapter III

### Compound 19

**Chemical Formula:**  $C_{13}H_8N_2O_5$

**Exact Mass:** 272.04

**Molecular Weight:** 272.22



**Compound 13** (100 mg, 0.471 mmol) was dissolved in  $H_2SO_4$  (5 mL) and  $CrO_3$  (282 mg, 2.82 mmol) was added slowly. The reaction was stirred rigorously at room temperature during 3 days. The mixture was diluted with 50 ml of  $H_2O$  (+0.1% TFA) at  $0^\circ C$  and was filtered on C18 silica wet with  $H_2O$  (+0.1% TFA). The silica was washed several times with  $H_2O$  (+0.1% TFA) until the filtrate was colorless. The silica was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [ $CH_3CN$  (0.1% TFA)/ $H_2O$  (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 45mn) to give **20** as a white solid. Yield (76 mg - 59%).

$^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz):  $\delta$  8.19-8.28 (m, 6H)

$^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100 MHz):  $\delta$  192.13, 165.80, 153.75, 148.28, 138.75, 127.91, 127.60.

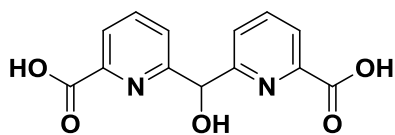
**MS (ESI+, DMSO):**  $m/z$  295.03, calcd for  $([C_{13}H_8N_2O_5Na]^+)$  295.03

### Compound 21

**Chemical Formula:**  $C_{13}H_{10}N_2O_5$

**Exact Mass:** 274.06

**Molecular Weight:** 274.23



To a suspension of **19** (180 mg, 0.66 mmol) in EtOH (3 mL) was added a first portion (33 mg) of  $NaBH_4$ . The reaction was stirred during 30 mn and a second portion of  $NaBH_4$  (33mg) then  $H_2O$  (3mL) was added. The reaction was stirred during 2 hours. The mixture solution was evaporated to dryness. The residue was dissolved with  $H_2O$  (+0.1% TFA) and was filtered on C18 silica to remove inorganic salt. The silica was washed several times with

H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA). The compound was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness to give **21** as a white solid. Yield (160 mg - 88%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, D<sub>2</sub>O + NaOD, pD > 10): δ 7.79 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H); 7.73 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H); 7.49 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); 5.93 (s, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, D<sub>2</sub>O + NaOD, pH > 10): δ 172.99, 160.51, 152.85, 138.80, 123.07, 122.86, 76.82.

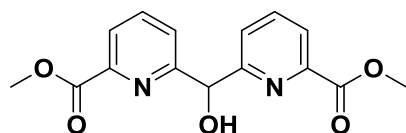
MS (ESI+, DMSO): *m/z* 275.06 (100%), calcd for ([C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>) 275.06.

### Compound 21

**Chemical Formula:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 302,09

**Molecular Weight:** 302,29



Compound **20** (287 mg, 1.05 mmol) was dissolved in MeOH (5 mL) and SOCl<sub>2</sub> (253 uL) was added at 0°C. The reaction was stirred during 2 hours at room

temperature, heated at reflux during 1h30. 100 µl of SOCl<sub>2</sub> was added slowly and heated during 1h. The mixture solution was evaporated to dryness. The crude product was partitioned between CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20mL) and aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> (5%, 20mL). The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness to give **22** as a white solid. Yield (234 mg - 75 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.98 (dd, *J* = 7.0, *J* = 1.5 Hz, 2H); 7.85 – 7.70 (m, 4H); 6.07 (s, 1H); 3.97 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.44, 160.81, 146.49, 138.06, 124.79, 124.32, 74.75, 52.89.

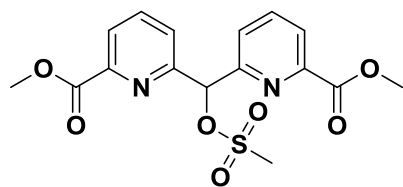
MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): *m/z* 323.07 (100%), calcd for ([C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + Na]<sup>+</sup>) 323.06

### Compound 22

**Chemical Formula:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S

**Exact Mass:** 380.07

**Molecular Weight:** 380.37



Compound **21** (100 mg, 0.33 mmol) was dissolved in THF (5 mL) and Et<sub>3</sub>N (132 μl). MsCl (76 mg, 0.66 mmol) was added at 0°C. The reaction was stirred during 2 hours. The mixture solution was evaporated to dryness and dissolved with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20ml). The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried through cotton and evaporated to dryness to give an oily compound **23** which was used in the next step without further purification. Yield (124mg - 99%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.08 (dd, *J* = 7.8, 0.9 Hz, 2H); 7.89 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H); 7.78 – 7.63 (m, 2H); 6.94 (s, 1H); 3.95 (s, 6H); 3.27 (s, 3H).

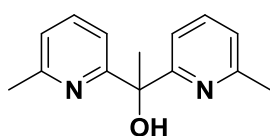
<sup>13</sup>C NMR (25°C, 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.29, 156.42, 147.82, 138.32, 125.95, 125.18, 83.71, 52.97, 39.62.

### Compound 24

**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O

**Exact Mass:** 228.13

**Molecular Weight:** 228.30



Compound **13** (1.090g, 5.13 mmol) was dissolved in THF (50 mL). Methyl lithium (1.6 M, 7.5 mL, 12 mmol) was added dropwise at -72°C. The reaction was stirred during 1 hour at -72°C. The solution was quenched with saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl. THF was evaporated. The aqueous solution was extracted with AcOEt (3 x 50 mL). The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and evaporated to dryness. Purification by column chromatography on silica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – AcOEt : 90 % - 10 %) gave **24** as an oily compound. Yield (910 mg – 77 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.57 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H); 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H); 6.96 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H); 6.74 (s, 1H); 2.54 (s, 6H); 1.94 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 163.90, 156.27, 136.89, 121.30, 117.55, 75.81, 29.78, 24.50.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 229.13 (100%), calcd for ([C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>) 229.13

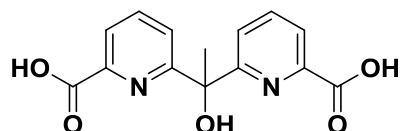
**Elem. Anal.:** Fd, C, 73.28; H, 7.01; N, 12.11%, **Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O**, C, 73.66; H; 7.06, N, 12.27%.

### Compound 25

**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 288.07

**Molecular Weight:** 288.26



Compound **24** (600 mg, 2.65 mmol) was dissolved in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10 mL) and CrO<sub>3</sub> (1.59, 15.9 mmol) was added slowly. The reaction was stirred vigorously at room temperature overnight. The mixture was diluted with 100 ml of H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) and was filtered on C18 silica. The silica was washed several times with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) until the filtrate was colorless. The silica was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 45mn) to give **25** as a white solid. Yield (400 mg - 52%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.94 (m, 6H); 1.94 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 165.24, 164.13, 145.84, 137.94, 123.54, 122.44, 76.36, 28.02.

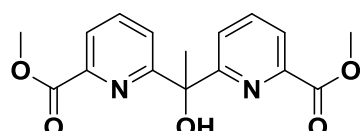
**Elem. Anal.:** Fd, C, 52.49; H, 3.55; N, 9.20%; **Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·1/2 (CF<sub>3</sub>COOH)·1/2(CH<sub>3</sub>CN)**, C, 52.53; H, 3.86; N, 9.57%.

### Compound 26

**Chemical Formula:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 316.11

**Molecular Weight:** 316.31



Compound **25** (358 mg, 1.24 mmol) was dissolved in MeOH (6 mL) and SOCl<sub>2</sub> (350 μl) was added at 0°C. The reaction was stirred during 2 hours at room temperature, heated at reflux during 1h30 then we added 100 μl of SOCl<sub>2</sub> were added slowly and heated during 1h. The mixture solution was evaporated to dryness. The crude product was dissolved with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50ml) and aqueous solution (50ml) of NaHCO<sub>3</sub> (5%). The organic phase was washed two

times with H<sub>2</sub>O, dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and evaporated to dryness to give **26** as an oily compound. Yield (290 mg - 74%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.10 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.93 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 7.78 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 3.95 (s, 6H), 1.99 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.53, 164.24, 145.90, 137.87, 124.47, 123.64, 76.22, 52.72, 30.19.

MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): *m/z* 317.12 (100%), calcd for ([C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>) 317.11

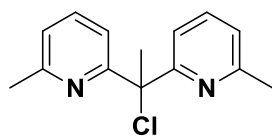
Elem. Anal.: Fd, C, 60.28; H, 5.13; N, 8.64%; Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, C, 60.75; H, 5.10, N, 8.86%.

### Compound 27

Chemical Formula: C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>

Exact Mass: 246.09

Molecular Weight: 246.74



Compound **26** (210 mg, 0.92 mmol) and Et<sub>3</sub>N (214 mg, 2.11 mmol) were dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml). SOCl<sub>2</sub> (328 mg, 2.76 mmol) was dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL) and added dropwise. The reaction was stirred during 30 mn at room temperature. The solution was quenched with saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub> at 0°C to reach pH=8. The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness. Purification by column chromatography on alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gave **27** as an oily compound. Yield (141 mg – 61%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.52 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H); 7.29 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H); 7.02 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); 2.52 (s, 6H); 2.43 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 162.26, 157.40, 136.55, 121.81, 119.20, 75.08, 30.98, 24.72.

MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): *m/z* 247.10 (100%) , calcd for ([C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>2</sub>]<sup>+</sup>) 247.10

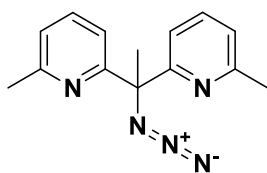
Elem. Anal.: Fd, C, 67.74; H, 6.10; N, 11.42%; Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>, C, 68.14; H, 6.13; N, 11.35%.

### Compound 29

**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>

**Exact Mass:** 253.13

**Molecular Weight:** 253.31



Compound **27** (300 mg, 1.21 mmol) was dissolved in DMF (5 mL) and NaN<sub>3</sub> (1g) was added. The reaction was stirred during 5 days at 90°C. The mixture solution was evaporated to dryness. The residue was dissolved with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and filtered on cotton. The organic phase was evaporated to dryness. Purification by column chromatography on alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) gave **29** as an oily compound. Yield (290 mg – 94 %)

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.50 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H); 7.07 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H); 7.02 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); 2.54 (s, 6H); 2.14 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 161.10, 157.76, 136.68, 121.90, 118.39, 71.03, 25.19, 24.69.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 254.14 (100%), calcd for ([C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>]<sup>+</sup>) 254.14

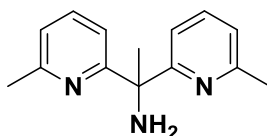
**Elem. Anal.:** Fd, C, 66.41; H, 6.02; N, 26.73%; **Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>,** C, 66.37; H, 5.97; N, 27.64%.

### Compound 30

**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>

**Exact Mass:** 227.14

**Molecular Weight:** 227.31



Compound **29** (630 mg, 2.49 mmol) was dissolved in MeOH (70 mL). The solution was degassed with H<sub>2</sub> for 10 min and to this mixture were added Pd/C (200 mg) slowly. A flow of H<sub>2</sub> was bubbled through the solvent and the mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was filtered on cotton and evaporated to dryness. Purification by column chromatography on alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH : 98 % - 2 %) gave **30** as oily compound. Yiled (510mg – 90 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.46 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H); 7.08 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H); 6.96 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); 3.44 (s, 2H); 2.50 (s, 6H); 1.89 (s, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 164.85, 157.31, 136.55, 121.14, 117.68, 61.45, 29.54, 24.69.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 228.15 (33%), calcd for ([C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>]<sup>+</sup>) 228.15

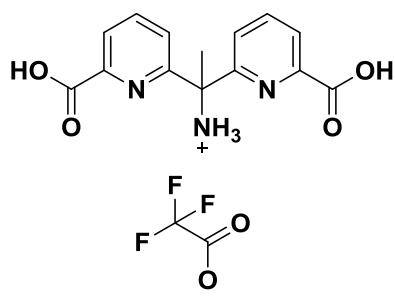
**Elem. Anal.:** Fd, C, 72.29; H, 7.45; N, 17.61%; **Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>**, C, 73.97; H, 7.54; N, 18.48%.

### Compound 31

**Chemical Formula:** C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> · CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>

**Exact Mass:** 288.10

**Molecular Weight:** 288.28



Compound **30** (510 mg, 2.24 mmol) was dissolved in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (20 mL) and CrO<sub>3</sub> (1.122 g, 11.22 mmol) was added slowly. The reaction was stirred vigorously at 50°C during 3 days. The mixture was dissolved with 500 mL of H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) at 0°C and was filtered on C18 silica wet with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA). The C18 silica was washed several times with H<sub>2</sub>O(+0.1% TFA) until the filtrate was colorless. The silica was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 60mn) to give **31** as a white solid. Yield (398 mg -61%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 9.23 (bs, 3H); 8.21 – 8.02 (m, 4H); 7.92 (dd, *J* = 7.7, 1.0 Hz, 2H); 2.12 (s, 3H).

**MS (ESI+, DMSO):** *m/z* 288.10 (33%), calcd for [(C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)<sup>+</sup>] 288.10

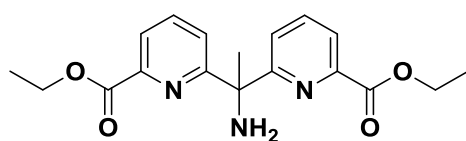
**Elem. Anal.:** Fd, C, 47.06; H, 3.53; N,9.85%; **Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>·1/2(H<sub>2</sub>O)**, C,46.84%; H, 3.69; N, 10.24%.

### Compound 32

**Chemical Formula:** C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

**Exact Mass:** 343.15

**Molecular Weight:** 343.38



Compound **31** (398 mg, 1.38 mmol) was dissolved in EtOH (100 mL) and SOCl<sub>2</sub> (410 mg, 3.45 mmol) was added at 0°C. The reaction was stirred during 2 hours at room temperature, heated at reflux during 1h30. 100 μl of SOCl<sub>2</sub> were added slowly and was heated during 1h. The mixture solution was evaporated to dryness. The crude product



was dissolved with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) and aqueous solution (50 mL) of NaHCO<sub>3</sub> (5%). The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness to give **32** as an oily compound. Yield 225 mg (225 mg- 48 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.91 (t, *J* = 4.3 Hz, 2H); 7.73 (d, *J* = 4.3 Hz, 4H); 4.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 4H); 3.09 (s, 2H); 2.01 (s, 3H); 1.40 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.84, 165.42, 147.06, 137.34, 124.59, 123.15, 61.80, 61.69, 29.98, 14.40.

MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): *m/z* 344.16 (100%), calcd for ([C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>) 344.16

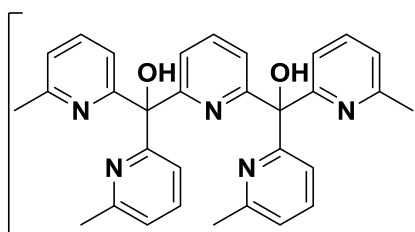
Elem. Anal.: **Fd**, C, 62.42; H, 6.20; N, 11.79%; **Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>**, C, 62.95; H, 6.16; N, 12.24%.

### Compound 37

**Chemical Formula:** C<sub>31</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

**Exact Mass:** 503.23

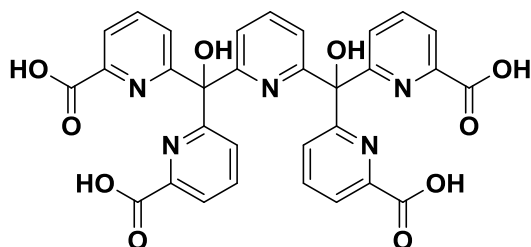
**Molecular Weight:** 503.61



Pyridine-2,6-dicarboxylic acid (700 mg, 4.19 mmol) was dissolved in dioxane (90 mL). SOCl<sub>2</sub> (1.522 mL, 21 mmol) was added drop wise. The mixture was refluxed during 4 hours. The mixture was concentrated to dryness. The excess of SOCl<sub>2</sub> was removed by

coevaporation with dichloromethane to give a quantitative yield of 2,6-pyridinedicarbonyl dichloride. A THF solution (75 mL) of 2-bromopyridine (3.61g, 21 mmol) was cooled to -78 °C and *n*-BuLi (21 mmol) was added dropwise, keeping the temperature below -60 °C. This mixture was stirred at -78 °C during 30 mn. A THF solution (10 mL) of 2,6-pyridinedicarbonyl dichloride at -78 °C was added slowly to this lithopyridine solution. The mixture was stirred at -78 °C during 1h. The solution was quenched with saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl. THF was evaporated. The aqueous solution was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 100 mL). The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and evaporated to dryness to give a brown oily compound **37** which was used in the next step without further purification.

MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): *m/z* 252.63 (100%), 504.25 (36%) ; calcd for ([C<sub>31</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) 252.62, ([C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>) 504.24.

**L<sub>6</sub>****Chemical Formula:** C<sub>31</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>**Exact Mass:** 623.13**Molecular Weight:** 623.53

Compound **37** (2.09 g, 4.16 mmol) was dissolved in concentrated H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (70 mL) and CrO<sub>3</sub> (5 g, 50 mmol) was added slowly. The reaction was stirred vigorously at 60°C during 3 days. The mixture was dissolved with 500 mL of H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) at

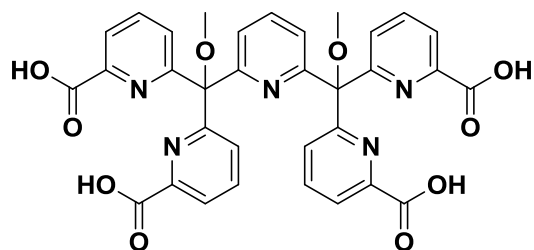
0°C and was filtered on C18 silica wet with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA). The silica was washed several times with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) until the filtrate was colorless. The silica was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness. The red crude product was dissolved in aqueous NaOH (pH=14). This solution was acidified with HCl (37 %) until pH=2 and evaporated to dryness. The crude product was washed with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) (50 mL) to have a white solid. It was recovered by centrifugation and washed two times with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) to give **L<sub>6</sub>** as a white solid. Yield two step (817 mg - 31 %).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.90 (m, 5H); 7.78 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H); 7.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H); 7.52 (d, *J* = 7.9 Hz, 4H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 165.58, 162.01, 161.80, 145.73, 138.03, 137.51, 126.67, 123.24, 120.07, 81.75.

**MS (ESI+, DMSO):** *m/z* 624.13 (100%), calcd for ([C<sub>31</sub>H<sub>22</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>]<sup>+</sup>) 624.14.

**Elem. Anal.:** **Fd**, C, 51.02; H, 3.44; N, 9.42%; **Calcd for C<sub>31</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>·2 (H<sub>2</sub>O)·(CF<sub>3</sub>COOH)**, C, 52.46; H, 3.20; N, 9.27%.

**L<sub>7</sub>****Chemical Formula:** C<sub>33</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>**Exact Mass:** 651.16**Molecular Weight:** 651.59

**L<sub>6</sub>** (200 mg, 0.320 mmol) was dissolved in DMSO (20 mL) and NaH (92 mg, 3.84 mmol) was added. The reaction was stirred vigorously at room temperature during 30 mn. Iodomethane (545 mg, 3.84 mmol) was added and the solution was stirred overnight. An aqueous solution of

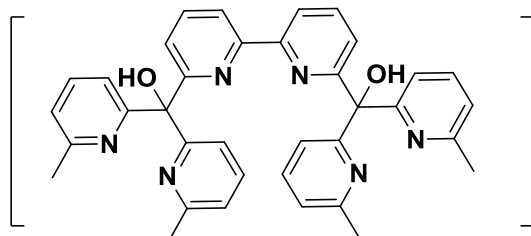
NaOH (400 mg, 5 mL) was added and the solution was stirred overnight. The mixture was acidified with HCl (37%) to get pH=2. The mixture was dissolved with 50 ml of H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) and is filtered on C18 silica wet with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) to remove DMSO. The C18 silica was washed several times with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA). The residue was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 60mn) to give **L<sub>7</sub>** as a white solid. Yield (168 mg - 81%).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 7.87 (m, 5H); 7.75 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H); 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H); 7.47 (d, *J* = 7.6 Hz, 4H); 3.15 (s, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 166.10, 160.54, 160.02, 146.68, 137.62, 136.87, 127.85, 123.31, 121.53, 87.79, 53.08.

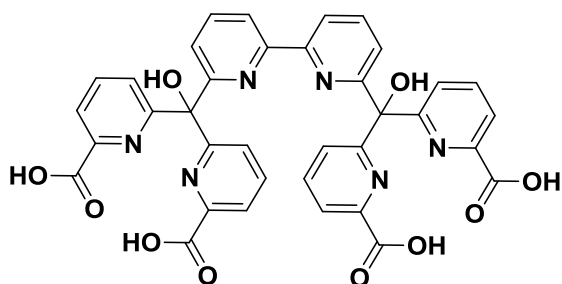
**MS (ESI+, DMSO):** *m/z* 652.17 (92%), 690.12 (100%); calcd for ([C<sub>33</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>]<sup>+</sup>) 652.17, ([C<sub>33</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub> + K]<sup>+</sup>) 690.12.

**Elem. Anal.:** Fd, C, 50.83; H, 3.44; N, 8.14%; **Calcd for C<sub>33</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>·2(CF<sub>3</sub>COOH),** C, 50.52; H, 3.09; N, 7.96%.

**Compound 40****Chemical Formula:** C<sub>36</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>**Exact Mass:** 580.26**Molecular Weight:** 580.68

2,2'-bipyridine-6,6'-dicarboxylic acid (994 mg, 4.07 mmol) was suspended in SOCl<sub>2</sub> (40 mL). The mixture was stirred at reflux overnight. The mixture was concentrated to dryness. The excess of SOCl<sub>2</sub> was removed by coevaporation with

dichloromethane to give a quantitative yield of 2,2'-bipyridine-6,6'-dicarbonyl dichloride. A THF solution (80 mL) of 2-bromopyridine (3.5g, 20 mmol) was cooled to -78 °C, and *n*-BuLi in THF (1.6 M, 20 mmol) was added dropwise while keeping the temperature below -60 °C. This mixture was stirred at -78 °C during 30 mn. A THF solution (10 mL) of 2,2'-bipyridine]-6,6'-dicarbonyl dichloride was added slowly at -78 °C to the lithopyridine solution. The mixture was stirred at -78 °C during 1h. The solution was quenched with saturated aqueous solution of NH<sub>4</sub>Cl. THF was evaporated. The aqueous solution was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 100 mL). The organic phase was washed two times with H<sub>2</sub>O, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered and evaporated to dryness to give a brown oily compound **40** which was used in the next step without further purification.

**L<sub>8</sub>****Chemical Formula:** C<sub>36</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>**Exact Mass:** 700.16**Molecular Weight:** 700.62

Compound **40** (4.07 mmol) was dissolved in concentrated H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (125 mL) and CrO<sub>3</sub> (6.1 g, 61 mmol) was added slowly. The reaction was stirred vigorously at 60°C during 3 days. The mixture was dissolved with 500 ml of H<sub>2</sub>O

(+0.1% TFA) at 0°C and was filtered on C18 silica wet with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA). The silica was washed several times with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) until the filtrate was colorless. The silica was eluted with ACN (+0.1% TFA). The acetonitrile solution was evaporated to dryness. The red crude product was dissolved in aqueous NaOH (pH=14). The solution was acidified with

HCl (37 %) to pH=2 and evaporated to dryness. The crude product was washed with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA, 50 mL) yielding a white solid. It was recovered by centrifugation and washed two times with H<sub>2</sub>O (+0.1% TFA) and to two times with acetone. The resulting white solid was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 60mn) to give **L<sub>8</sub>** as a white solid. Yield (225 mg - 8%).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, D<sub>2</sub>O+NaOD): δ 7.86 (d, *J* = 7.8 Hz, 4H), 7.80 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H), 7.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 4H), 7.58 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, D<sub>2</sub>O+NaOD): δ 172.84, 168.35, 168.20, 166.37, 153.86, 151.13, 137.88, 123.51, 123.22, 121.64, 119.03, 85.11.

**MS (ESI+, DMSO):** *m/z* 701.16 (100%), calcd for ([C<sub>36</sub>H<sub>25</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>]<sup>+</sup>) 701.16.

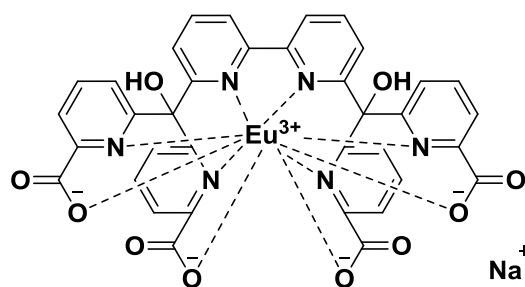
**Elem. Anal.:** Fd, C, 55.77; H, 3.09; N, 10.50%; **Calcd for C<sub>36</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>·CF<sub>3</sub>COOH,** C, 56.03; H, 3.09; N, 10.32%.

**[Eu (L<sub>8</sub>)]<sup>+</sup>**

**Chemical Formula:** C<sub>36</sub>H<sub>20</sub>EuN<sub>6</sub>NaO<sub>10</sub>

**Exact Mass:** 872.035

**Molecular Weight:** 871.542



A solution of **L<sub>8</sub>** (30 mg, 0.043 mmol) and sodium hydroxyde (7 mg, 0.17 mmol) in water (150 mL). A solution of EuCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (16 mg, 0.043 mmol) in water (150 mL) was added. The mixture was heated 3 days then was concentrated to dryness.

The crude product was dissolved in a minimum of water. The addition of EtOH resulted in the formation of white precipitate isolated by centrifugation and dried under pressure. Yield (25 mg – 67 %).

**MS (ESI-, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 849.04 (100%), calcd for ([C<sub>36</sub>H<sub>20</sub>EuN<sub>6</sub>O<sub>10</sub>]<sup>-</sup>) 849.05

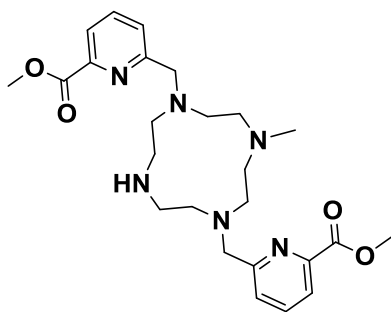
## 3. Compounds of Chapter IV

## Compound 51

Chemical Formula: C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>

Exact Mass: 484.28

Molecular Weight: 484.60



A mixture of **49** (896 mg, 1.9 mmol) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (578 mg, 4.19 mmol) in acetonitrile (150 mL) was heated at 60°C for 10 min and iodomethane (324 mg, 2.28 mmol) dissolved in acetonitrile (150 mL) was added. The mixture was heated at 60°C overnight and concentrated to dryness. The residue was diluted in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and washed with H<sub>2</sub>O (3x). The

organic phase was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and evaporated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (act III), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH : 97-3) to give **51** as a yellow oil. Yield (152 mg – 17 %).

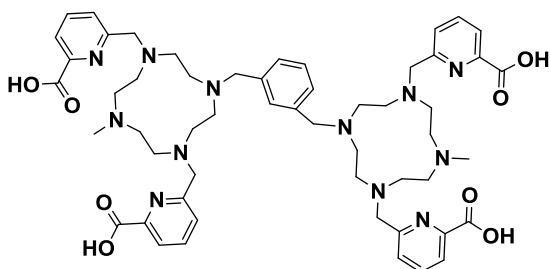
<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.99 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); 7.78 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H); 7.61 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H); 4.08 (s, 4H); 3.96 (s, 6H); 2.38-3.20 (m, 17H); 2.05 (s, 3H)

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.59, 159.34, 147.28, 137.63, 127.02, 123.91, 62.19, 56.51, 53.49, 52.88, 51.3, 49.93, 47.33.

MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): *m/z* 243.15 (100%), 485.28; calcd for ([C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>+2H]<sup>2+</sup>) 243.15 , [C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>+ H]<sup>+</sup> 485.29

L<sub>10</sub>Chemical Formula: C<sub>54</sub>H<sub>70</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>

Exact Mass: 1014.54



Molecular Weight: 1015.21

A mixture of **51** (152 mg, 0.313mmol) and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (50mg, 0.471 mmol) in acetonitrile (10 mL) was heated to reflux for 5 min then 1,3-bis(bromomethyl)benzene (38 mg, 0.142 mmol) dissolved in acetonitrile (2mL) was added. The

mixture was heated to reflux with stirring for a period of 3 days, and then concentrated to dryness. The residue was diluted in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and washed with H<sub>2</sub>O (2x) and brine (2x). The

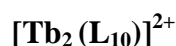
organic phase was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and evaporated to dryness. The crude product was dissolved in a minimum of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and AcOEt was added to get a yellow precipitate. The precipitate was isolated by centrifugation and was dissolved in a MeOH (2mL). NaOH (60 mg) in H<sub>2</sub>O (1mL) was added and the mixture was heated to reflux overnight. It was concentrated to dryness and dissolved in water and was acidified with aqueous HCl 1M to pH 2. The mixture was concentrated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 45mn to give **L**<sub>10</sub> as an yellow-white solid. Yield (75 mg – 52 %).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 7.83-7.90 (m, 8H); 7.48 (d, *J* = 7.48 Hz, 4H); 7.08(s, 1H); 6.68(bs, 2H); 6.13(bs, 1H); 4.16 (s, 4H); 3.86 (AB system, δ<sub>A</sub>: 3.92, δ<sub>B</sub>: 3.77, *J*<sub>AB</sub> = 16,5 Hz, 8H); 2.83-3.43 (m, 32H); 2.65 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 166.4, 157.3, 145.9, 139.4, 134.7, 131.9, 129.2, 129.1, 128.1, 124.9, 56.4, 55.9, 53, 49.6, 48.5, 48.3, 43.4.

**Elem. Anal.:** **Fd**, C, 46.15; H, 5.43; N, 9.89%; **Calcd for C<sub>54</sub>H<sub>70</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>·5(CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)·4(H<sub>2</sub>O)**, C, 46.38; H, 5.05; N, 10.14%.

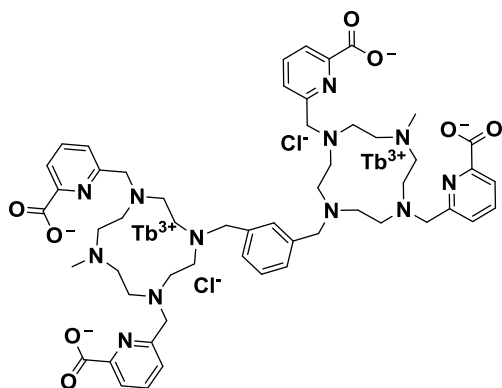
**MS (ESI+, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 508.28 (100%), 1015.55 (30%), calcd for ([C<sub>54</sub>H<sub>72</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>]<sup>2+</sup>) 508.28, ([C<sub>54</sub>H<sub>71</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>]<sup>+</sup>) 1015.55.



**Chemical Formula:**  $\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{Cl}_2\text{N}_{12}\text{O}_8\text{Tb}_2$

**Exact Mass:** 1398.30

**Molecular Weight:** 1399.95

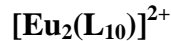


A solution of  $\text{L}_{10}$  (15.3 mg, 0.015 mmol) and diisopropylethylamine (21  $\mu\text{l}$ ) in butanol (5 mL) was heated to reflux. A solution of  $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (14 mg, 0.037 mmol) in butanol (1 mL) was added slowly. The mixture was heated 3 days at reflux. The reaction mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved in a minimum volume of water. The addition of  $\text{CH}_3\text{CN}$  resulted in the formation of a precipitate which is isolated

by centrifugation (20 mg - 95%).

**Elem. Anal.:** Fd, C, 39.97; H, 5.52; N, 9.87%; **Calcd for**  $\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_8\text{Tb}_2\text{Cl}_2 \cdot 13(\text{H}_2\text{O})$ , C, 39.69; H, 5.67; N, 10.29%.

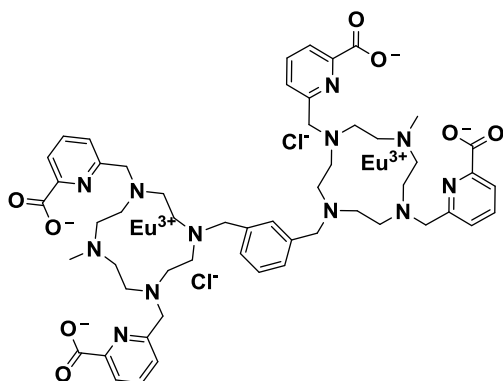
**MS (ESI+,  $\text{H}_2\text{O}$ ):**  $m/z$  664.18 (100%), calcd for  $([\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_8\text{Tb}_2]^{2+})$  664.18



**Chemical Formula:**  $\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{Cl}_2\text{Eu}_2\text{N}_{12}\text{O}_8$

**Exact Mass:** 1386,29

**Molecular Weight:** 1386,03



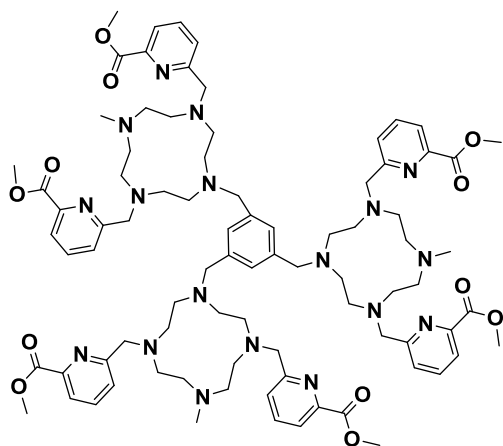
A solution of  $\text{L}_{10}$  (12.24 mg, 0.012 mmol) and diisopropylethylamine (21  $\mu\text{l}$ ) in *n*-butanol (5 mL) was heated to reflux. Then a solution of  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (14 mg, 0.037 mmol) in *n*-butanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated 3 days at reflux. The reaction mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved in a minimum volume of water. The addition of  $\text{CH}_3\text{CN}$  resulted in the

formation of a precipitate which was isolated by centrifugation (12 mg – 72 %).

**Elem. Anal.:** Fd, N (7.95%), C (33.57%), H(5.12%) ; **Calcd for**  $\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_8\text{Eu}_2 \cdot 4(\text{CF}_3\text{COOH}) \cdot 20(\text{H}_2\text{O})$ , N (7.63%), C (33.81%), H (5.03%).

**MS (ESI+,  $\text{H}_2\text{O}$ ):**  $m/z$  657.17 (100%) , calcd for  $([\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_8\text{Eu}_2]^{2+})$  657.18



**Compound 60****Chemical Formula:** C<sub>84</sub>H<sub>114</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>**Exact Mass:** 1566.89**Molecular Weight:** 1567.95

Compound **59** (0.650 g, 0.970 mmol) was dissolved in dry acetonitrile (30 mL) and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added (1.023 g, 7.404 mmol). The mixture was heated at 40 °C and a solution of methyl 6-(chloromethyl)picolinate (0.81 g, 4.36 mmol) in dry acetonitrile (30 mL) was added dropwise over a period of 24 h. The mixture was heated at 40 °C for one week, and then an additional amount of methyl 6-(chloromethyl)picolinate (0.226 g, 1.218 mmol)

was added. The mixture was heated at the same temperature for 48 hours, and then the excess of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was filtered off. The solvent was evaporated and the oily residue was portioned between equal volumes of H<sub>2</sub>O and CHCl<sub>3</sub> (25 mL). The aqueous phase was then extracted with CHCl<sub>3</sub> (3×25 mL). The combined organic extracts were dried over MgSO<sub>4</sub>, filtrated and the solvent removed in a rotary evaporator to give 1.32 g of yellowish oil that was used directly in the next step without further purification. Yield 87%.

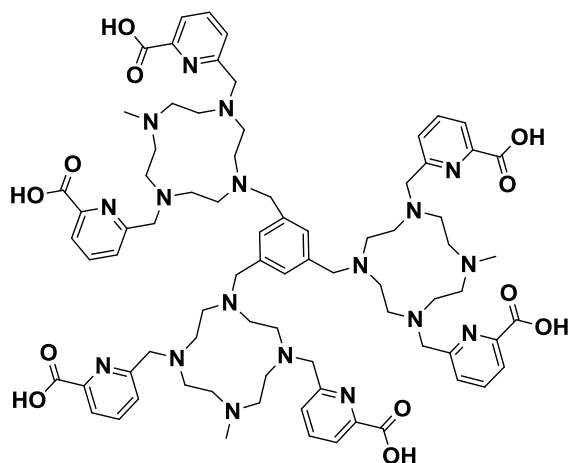
<sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz, 25 °C): δ 165.5 (CO), 161.5 (Py), 147.6 (Py), 138.8 (Ph), 136.9 (Py), 127.6 (Ph), 126.1 (Py), 123.0 (Py), 61.2 (CH<sub>2</sub>Py), 61.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 56.2, 53.3, 50.7 (CH<sub>2</sub>), 52.5 (OCH<sub>3</sub>), 43.3 (-CH<sub>3</sub>).

**L<sub>11</sub>**

**Chemical Formula:** C<sub>79</sub>H<sub>104</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>

**Exact Mass:** 1482.80

**Molecular Weight:** 1483.79



Compound **5** (0.300 g, 0.191 mmol) was dissolved in 6 M HCl (10 mL) and the resulting solution was refluxed overnight. Concentration of the solution afforded a yellowish solid that was characterized as H<sub>6</sub>L·17HCl. Yield 0.409 g, 100%.

**Elem Anal. Calcd. for C<sub>79</sub>H<sub>104</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>·17HCl:** C, 44.53; H, 5.70; N, 11.98%. **Fd:** C, 44.35; H, 5.88; N, 11.76%. <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz, 25 °C, TMS): δ 168.7 (CO), 160.4 (Py), 148.0 (Py), 142.6 (Py), 140.9 (Ph), 132.4 (Ph), 130.8 (Py), 127.7 (Py), 58.9, 55.79,

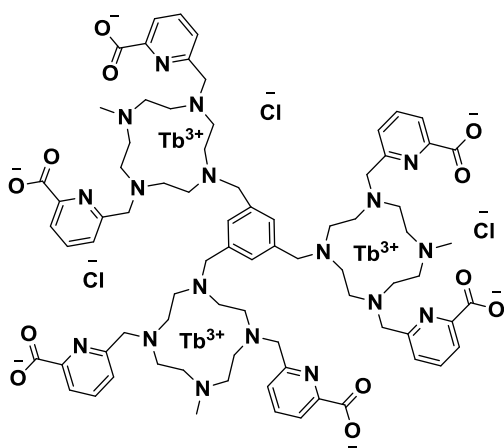
51.71 (CH<sub>2</sub>), 46.0 (-CH<sub>3</sub>).

**[Tb<sub>3</sub>(L<sub>11</sub>)]<sup>3+</sup>**

**Chemical Formula:** C<sub>78</sub>H<sub>96</sub>C<sub>13</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>Tb<sub>3</sub>

**Exact Mass:** 2058.43

**Molecular Weight:** 2060.87



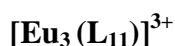
A solution of L<sub>11</sub>·17HCl (25 mg, 0.012 mmol) and diisopropylethylamine (54 µl) in butanol (2 mL) was heated to reflux. A solution of TbCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (14.4 mg, 38.7 µmol) in butanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated 2 days at reflux. The reaction mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved in a minimum volume of water. The addition of CH<sub>3</sub>CN resulted in the formation of a yellow precipitate which is isolated by centrifugation.

Yield (14 mg – 58 %).

**Elem. Anal.:** **Fd,** C, 40.19; H, 5.34; N, 10.23%; **Calcd for**

**C<sub>78</sub>H<sub>96</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>Tb<sub>3</sub>·16H<sub>2</sub>O·MeOH,** C, 39.84; H, 5.59; N, 10.58%.

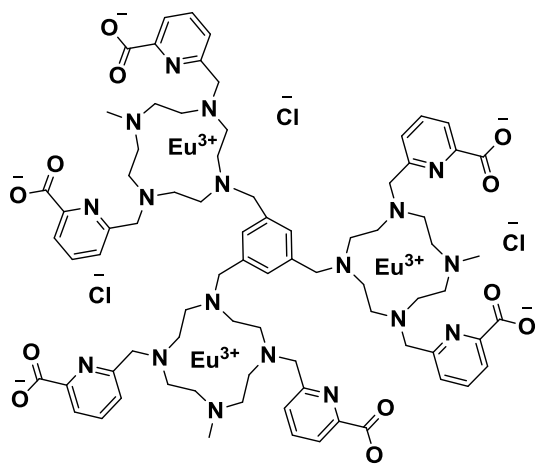
**MS (ESI+, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 651.17 (100%), calcd for ([C<sub>78</sub>H<sub>96</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>Tb<sub>3</sub>]<sup>3+</sup>) 651.17



**Chemical Formula:**  $\text{C}_{78}\text{H}_{96}\text{Cl}_3\text{Eu}_3\text{N}_{18}\text{O}_{12}$

**Exact Mass:** 2040.42

**Molecular Weight:** 2039.98



A solution of **L**<sub>11</sub> (25 mg, 0.012 mmol) and diisopropylethylamine (54  $\mu\text{l}$ ) in butanol (2 mL) was heated to reflux. A solution of  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (14.1 mg, 38.69  $\mu\text{mol}$ ) in butanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated 2 days at reflux. The reaction mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved in a minimum volume of water. The addition of  $\text{CH}_3\text{CN}$  resulted in the formation of a precipitate

which is isolated by centrifugation (15 mg – 61 %).

**Elem. Anal.:** *Found*, C, 33.21; H, 5.23; N, 8.56%; **Calcd for**  $\text{C}_{78}\text{H}_{96}\text{Cl}_3\text{N}_{18}\text{O}_{12}\text{Eu}_3 \cdot 14\text{HCl} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ , C, 33.43; H, 4.96; N, 9.00%.

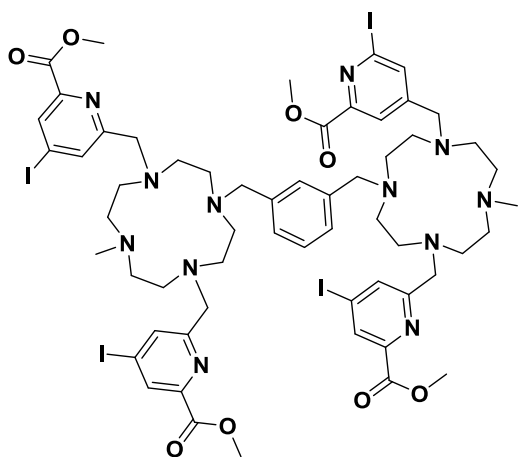
**MS (ESI+,  $\text{H}_2\text{O}$ ):** *m/z* 645.17 (100%), calcd for  $([\text{C}_{78}\text{H}_{96}\text{N}_{18}\text{O}_{12}\text{Eu}_3]^{3+})$  645.17

### Compound 75

**Chemical Formula:**  $\text{C}_{58}\text{H}_{74}\text{I}_4\text{N}_{12}\text{O}_8$

**Exact Mass:** 1574,19

**Molecular Weight:** 1574,92



Compound **53** (119 mg, 0.252 mmol) was dissolved in DMF (20 mL), and  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (337 mg, 1.03 mmol) was added. Compound **67** (384 mg, 1.034 mmol) was dissolved in DMF (20 mL) and added. The mixture was stirred at 60°C for 3 days. The mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) was washed two times with  $\text{H}_2\text{O}$ , filtered on cotton and evaporated to dryness. Purification by column chromatography on

alumina (gradient during 40 mn:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – MeOH (100 - 0 % to 95 – 5%)) gave **75** as yellow solid. (123 mg - 31%).

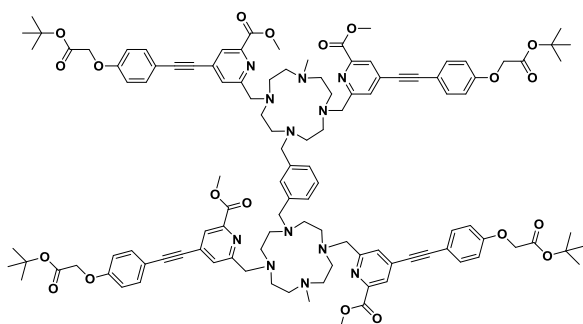
**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 788.10 (37%), 799.09 (100%), 810.09 (48%) ; calcd for ([C<sub>58</sub>H<sub>76</sub>I<sub>4</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub>]<sup>2+</sup>) 788.11, ([C<sub>58</sub>H<sub>75</sub>I<sub>4</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub> + Na]<sup>2+</sup>) 799.10, ([C<sub>58</sub>H<sub>74</sub>I<sub>4</sub>N<sub>12</sub>O<sub>8</sub> + 2Na]<sup>2+</sup>) 810.09.

### Compound 79

**Chemical Formula:** C<sub>114</sub>H<sub>134</sub>N<sub>12</sub>O<sub>20</sub>

**Exact Mass:** 1990.98

**Molecular Weight:** 1992.39



Compound **53** (127 mg, 0.267 mmol) was dissolved in DMF (20 mL), and Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (302 mg, 1.17 mmol) was added. Compound **78** (132mg, 0.633 mmol) was dissolved in DMF and added. The mixture was stirred at 40°C for 3 days. The mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved with

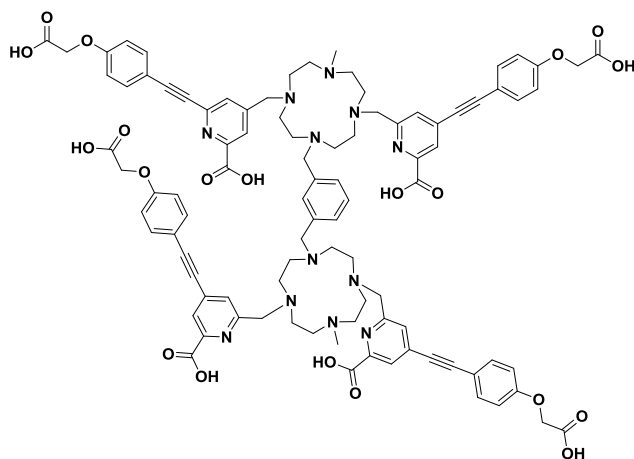
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) was washed two times with H<sub>2</sub>O, filtered on cotton and evaporated to dryness. Purification by column chromatography on alumina (gradient during 40 mn: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> – MeOH (100 - 0 % to 95 – 5%) give an orange solid which was used directly for the next step.

### L<sub>12</sub>

**Chemical Formula:** C<sub>94</sub>H<sub>94</sub>N<sub>12</sub>O<sub>20</sub>

**Exact Mass:** 1710.67

**Molecular Weight:** 1711.85



The orange solid was dissolved in a MeOH (4mL)/H<sub>2</sub>O (1 mL) mixture and NaOH (90 mg) was added. This mixture was heated at 80 °C overnight. The mixture was concentrated to dryness. The crude product was dissolved in water and was acidified with aqueous HCl 1M to pH 2. The mixture was concentrated to dryness. The resulting

residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1%

TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 100-0 in 60mn) to give **L**<sub>12</sub> as a yellow solid. Purity of the compound was established on the basis of LC-MS analysis. Yield two steps (102 mg - 22%).

**Elem. Anal.:** **Fd**, C, 52.34; H, 4.73; N, 6.51%; **Calcd for** C<sub>94</sub>H<sub>94</sub>N<sub>12</sub>O<sub>20</sub>·6(CF<sub>3</sub>COOH)·2(H<sub>2</sub>O), C, 52.35; H, 4.31; N, 6.91%.

**LC-MS (ESI+, ACN-H<sub>2</sub>O):** *m/z* 571.19 (100%), calcd for ([C<sub>94</sub>H<sub>97</sub>N<sub>12</sub>O<sub>20</sub>]<sup>3+</sup>) 571.23

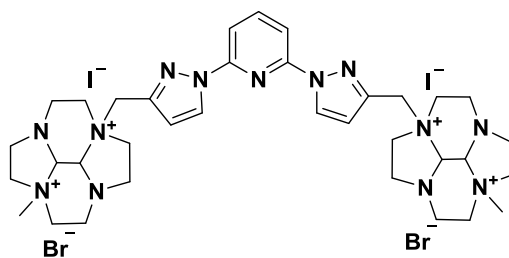
#### 4. Compounds Chapter V

##### Compound 88

**Chemical Formula:** C<sub>35</sub>H<sub>53</sub>Br<sub>2</sub>I<sub>2</sub>N<sub>13</sub>

**Exact Mass:** 1067.10

**Molecular Weight:** 1069.52



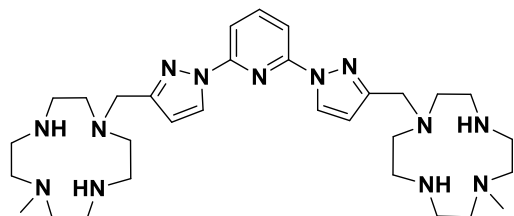
Compound **87** (130mg, 0.327 mmol ) and **53** (243mg, 0.727 mmol) were dissolved in acetonitrile (6 mL) . The reaction mixture was stirred refluxed overnight. After cooling the precipitate was filtered off, washed two times with cold acetonitrile. The residue was dried under vacuum and **88** were

obtained as a white powder. Yield (314mg - 94%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.85(d, *J* =2.7 Hz,2H) ; 8.2(t, *J* =8.2 Hz, 1H) ; 7.96(d, *J* = 8.2 Hz, 2H) ; 6.95(d, *J* = 2.7 Hz, 2H) ; 5.09(d, *J* =14.2 Hz, 2H) ; 4.95(d, *J* =14.2 Hz, 2H) ; 4.69 (dd, *J* = 16.1 Hz, *J* = 2.8 Hz, 4H) ; 4.33-4.44 (m,2H) ; 3.81-4.17 (m, 12H) ; 3.59-3.74 (m,6H) ; 3.38-3.54 (m, 12H) ; 3.13-3.25 (m,4H) ; 3.09 (q, *J* = 8.2 Hz, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 149.52, 143.33, 142.7, 131.12, 111.84, 78.63, 77.71, 65.5, 62.4, 59.6, 56.87, 54.76, 47.07, 47.02, 46.91, 43.64, 43.35, 1.47.

**Elem. Anal.:** **Fd**, C, 36.81; H, 5.32; N, 15.77%; **Calcd for** C<sub>35</sub>H<sub>53</sub>Br<sub>2</sub>I<sub>2</sub>N<sub>13</sub>·5H<sub>2</sub>O, C, 36.25; H, 5.48; N, 15.70%.

**Compound 89****Chemical Formula:** C<sub>31</sub>H<sub>53</sub>N<sub>13</sub>**Exact Mass:** 607.45**Molecular Weight:** 607.86

The salt **88** (150mg, 0.140 mmol) was treated with NaOH (2.143 g) solution in water (17 mL) for 48 h at 80°C. The reaction mixture was cooled to room temperature and extracted with dichloromethane.

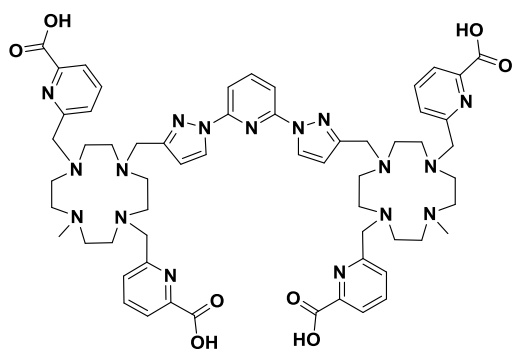
The combined organic layers were dried filtered cotton and the solvent was evaporated under vacuum. Compound **89** was obtained as a pale brown powder. Yield (84mg - 98%).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.41(d, *J* = 2.7 Hz, 2H); 7.78(t, *J* = 8.2 Hz, 1H); 7.68(d, *J* = 8.1 Hz, 2H); 6.35(d, *J* = 2.6 Hz, 2H); 3.7(s, 4H); 2.22-2.92 (m, 42H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 153.51, 149.94, 141.05, 127.97, 108.85, 107.78, 54.42, 52.51, 51.96, 45.17, 45.11, 44.16.

**Elem. Anal.:** Fd, C, 54.18; H, 8.44; N, 25.39%; **Calcd for** C<sub>31</sub>H<sub>53</sub>N<sub>13</sub>·H<sub>2</sub>O·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, C, 54.07; H, 8.08; N, 25.62%.

**MS (ESI+, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>):** *m/z* 304.73 (100%), 608.46 (59%); calcd for ([C<sub>31</sub>H<sub>53</sub>N<sub>13</sub> + H]<sup>+</sup>) 608.46, ([C<sub>31</sub>H<sub>53</sub>N<sub>13</sub> + 2H]<sup>2+</sup>) 304.73.

**L<sub>14</sub>****Chemical Formula:** C<sub>59</sub>H<sub>73</sub>N<sub>17</sub>O<sub>8</sub>**Exact Mass:** 1147.58**Molecular Weight:** 1148.34

Compound **89** (96mg, 0.158 mmol) was dissolved in DMF (5 mL), and K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (92mg, 0.666 mmol) was added. 6-chloromethylpyridine-2-carboxylic acid ethyl ester (132 mg, 0.633 mmol) was added to the former solution over. The mixture was stirred at room temperature for 13 days. The mixture was concentrated to dryness. The oily residue was

dissolved in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and washed with H<sub>2</sub>O (three times). The organic phase was dried over cotton and the solvent was evaporated to give brown oil. The brown oil was dissolved in a MeOH (7 mL)/H<sub>2</sub>O (2 mL) mixture and NaOH (25 mg, 0.674 mmol) was added. This mixture was heated at 80°C overnight then concentrated to dryness. The crude product was dissolved

in water and was acidified with aqueous HCl 1M to pH 2. The mixture was concentrated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 [CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 65-35 to give **L<sub>14</sub>** as a yellow solid. Yield (75 mg - 41% in two steps).

<sup>1</sup>H NMR (25°C, 500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.34(d, *J* = 2.7 Hz, 2H); 7.83-7.93 (m, 9H); 7.62(d, *J* = 8.2 Hz, 4H); 7.39(d, *J* = 8.2 Hz, 2H); 6.62(d, *J* = 2.7 Hz, 2H); 4.48 (s, 4H); 4.1 (q, *J* = 15.8 Hz, 8H); 2.85-3.31 (m, 32H); 2.70 (s, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (25°C, 500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 166.2, 156.7, 148.3, 146, 144.2, 142.5, 139.9, 129.8, 127.9, 124.8, 110.7, 110.5, 55.7, 53, 50.7, 50.5, 48.2, 48.1, 43.4.

**Elem. Anal.:** Fd, C, 42.85; H, 4.31; N, 12.26%; **Calcd for** C<sub>59</sub>H<sub>73</sub>N<sub>17</sub>O<sub>8</sub>·6(CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)·8(H<sub>2</sub>O), C, 43.14; H, 4.84; N, 12.05%.

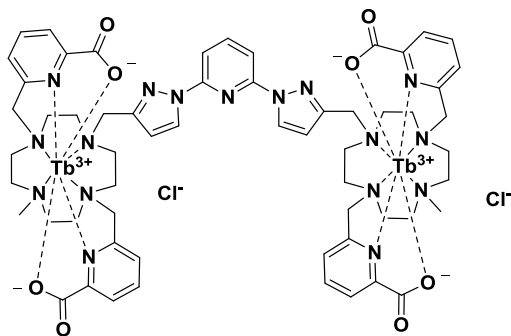
**MS (ESI+, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 574.80, calcd for ([C<sub>59</sub>H<sub>73</sub>N<sub>17</sub>O<sub>8</sub>]<sup>2+</sup>) 574.80

[Tb<sub>2</sub>(L<sub>14</sub>)]<sup>2+</sup>

**Chemical Formula:** C<sub>59</sub>H<sub>69</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>17</sub>O<sub>8</sub>Tb<sub>2</sub>

**Exact Mass:** 1531.34

**Molecular : Weight:** 1533.06

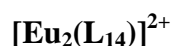


A solution of **L<sub>14</sub>** (15 mg, 0.0128 mmol) and triethylamine (19 mg, 0.196 mmol) in methanol (1 mL) was heated to reflux. A solution of TbCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (10.5 mg, 0.0281 mmol) in methanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated overnight. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature and then concentrated to

dryness. The addition of CH<sub>3</sub>CN (3 mL) resulted in the formation of a white precipitate. The mixture was stirred at room temperature for 24 h, and then the solid was isolated by filtration, washed with CH<sub>3</sub>CN and diethyl ether, and dried under vacuum. Yield (18mg – 92%).

**Elem. Anal.:** Fd, C, 37.41; H, 4.40; N, 11.47%; **Calcd for** C<sub>59</sub>H<sub>69</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>17</sub>O<sub>8</sub>Tb<sub>2</sub>·11H<sub>2</sub>O·3CF<sub>3</sub>COOH, C, 37.65; H, 4.57; N, 11.48%.

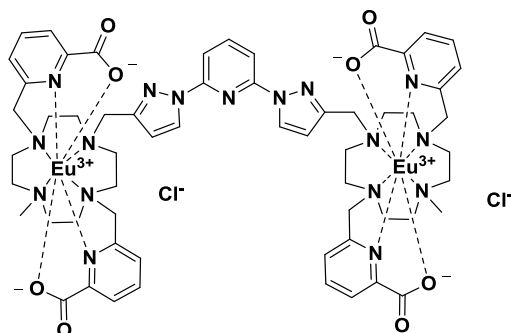
**MS (ESI+, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 730.71 (100%), calcd for ([C<sub>59</sub>H<sub>69</sub>N<sub>17</sub>O<sub>8</sub>Tb<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) 730.70



**Chemical Formula:**  $\text{C}_{59}\text{H}_{69}\text{Cl}_2\text{Eu}_2\text{N}_{17}\text{O}_8$

**Exact Mass:** 1519.33

**Molecular Weight:** 1519.14



A solution of **L**<sub>14</sub> (6 mg, 0.005 mmol) and triethylamine (8 mg, 0.082 mmol) in methanol (1 mL) was heated to reflux. A solution of  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (4.2 mg, 0.0115 mmol) in methanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated overnight. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature and then concentrated to

dryness. The addition of  $\text{CH}_3\text{CN}$  (3 mL) resulted in the formation of a white precipitate. The mixture was stirred at room temperature for 24 h, and then the solid was isolated by filtration, washed with  $\text{CH}_3\text{CN}$  and diethyl ether, and dried under vacuum. Yield (6 mg – 80%).

**Elem. Anal.:** Fd, N, 11.95; C, 37.85; H, 4.82; **Calcd for**  $\text{C}_{59}\text{H}_{69}\text{Cl}_2\text{N}_{17}\text{O}_8\text{Eu}_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{CF}_3\text{COOH}$ , N, 11.66; C, 38.24; H, 4.54%.

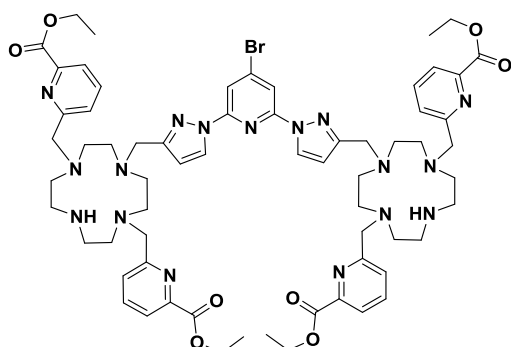
**MS (ESI+,  $\text{H}_2\text{O}$ ):**  $m/z$  723.70 (100%), calcd for  $([\text{C}_{59}\text{H}_{69}\text{N}_{17}\text{O}_8\text{Eu}_2]^{2+})$  723.70

### Compound 93

**Chemical Formula:**  $\text{C}_{65}\text{H}_{84}\text{BrN}_{17}\text{O}_8$

**Exact Mass:** 1309,59

**Molecular Weight:** 1311,40



To a solution of **92** (308 mg, 0.618 mmol) in acetonitrile,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (725 mg, 5.3 mmol) was added and was stirred at refluxed 10 mn. Then 4-bromo-2,6-bis(3-(bromomethyl)-1H-pyrazol-1-yl)pyridine **88** (98 mg, 0.26 mmol) was added and the mixture was stirred at reflux overnight. The reaction

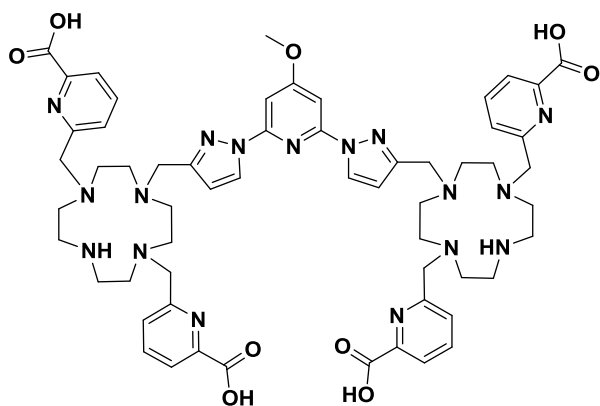
mixture, insoluble inorganic salts were removed by filtration and all the volatile components were evaporated under vacuum. Purification by column chromatography on silica ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH) gave yellow-brown oil (110 mg).



**LC-MS (ESI+, ACN-H<sub>2</sub>O):** *m/z* 328.90 (100%), 438.20 (57%), 656.80 (23%) ; calcd for ([C<sub>65</sub>H<sub>88</sub> BrN<sub>17</sub>O<sub>8</sub>]<sup>4+</sup>) 328.90, ([C<sub>65</sub>H<sub>87</sub> BrN<sub>17</sub>O<sub>8</sub>]<sup>3+</sup>) 438.20, ([C<sub>65</sub>H<sub>86</sub> BrN<sub>17</sub>O<sub>8</sub>]<sup>2+</sup>) 656.80.

**L<sub>15</sub>**

**Chemical Formula:** C<sub>58</sub>H<sub>71</sub>N<sub>17</sub>O<sub>9</sub>



**Exact Mass:** 1149.56

**Molecular Weight:** 1150.32

The yellow-brown oil was dissolved in a mixture of MeOH (5 mL)/H<sub>2</sub>O (2 mL) and NaOH (50 mg) was added. This mixture was heated at 80°C overnight then concentrated to dryness. The crude product was dissolved in

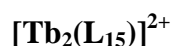
water and was acidified with aqueous HCl 1M to pH 2. The mixture was concentrated to dryness. The resulting residue was purified by column chromatography on reversed phase C18 ([CH<sub>3</sub>CN (0.1% TFA)/H<sub>2</sub>O (0.1% TFA)]: 5-95 to 65-35) to give **L<sub>15</sub>** as a white solid. Yield (35 mg - 52% for the two steps).

**<sup>1</sup>H NMR** (25°C, 400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 8.21 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H); 7.87 – 7.29 (m, 12H); 6.66 – 6.49 (m, 4H); 4.43 (s, 4H); 4.00 (d, *J* = 7.0 Hz, 14H); 3.70 (s, 3H); 3.67 – 2.68 (m, 32H).

**<sup>13</sup>C NMR** (25°C, 100 MHz, D<sub>2</sub>O): δ 169.48, 166.72, 157.31, 149.46, 145.95, 144.07, 138.61, 129.74, 127.17, 124.17, 110.79, 96.12, 56.00, 55.84, 50.67, 50.40, 48.72, 42.21, 30.21.

**MS (ESI+, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 1150.57 (100%), calcd for ([C<sub>58</sub>H<sub>72</sub>N<sub>17</sub>O<sub>9</sub>]<sup>+</sup>) 1150.57

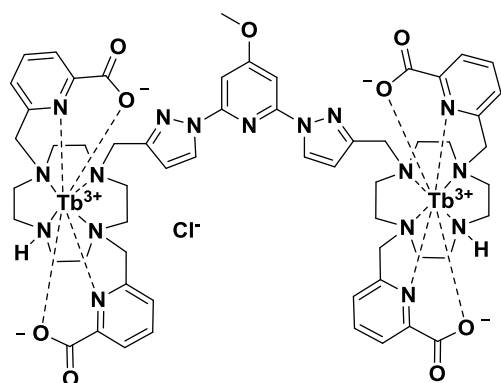
**Elem. Anal.:** **Fd**, N (13.06%), C (44.88%), H(4.49%) ; **Calcd for** C<sub>58</sub>H<sub>71</sub>N<sub>17</sub>O<sub>9</sub>·6(CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)·2(H<sub>2</sub>O), N(12.73%), C(44.95%), H(4.37%).



**Chemical Formula:**  $\text{C}_{58}\text{H}_{67}\text{Cl}_2\text{N}_{17}\text{O}_9\text{Tb}_2$

**Exact Mass:** 1531.30

**Molecular Weight:** 1533.02

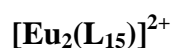


A solution of  $\text{L}_{15}$  (7.8 mg, 0.0042 mmol) and triethylamine (5 mg, 0.046 mmol) in methanol (1 mL) was heated to reflux. A solution of  $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (3.6 mg, 0.0096 mmol) in methanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated overnight. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature and then concentrated to dryness.

The addition of  $\text{CH}_3\text{CN}$  (3 mL) resulted in the formation of a white precipitate. The solid was isolated by filtration and dried under vacuum. Yield (6mg – 91%)

**Elem. Anal.:** *Found*, C, 37.80; H, 4.56; N, 11.62%; **Calcd for  $\text{C}_{58}\text{H}_{65}\text{Cl}_2\text{N}_{17}\text{O}_9\text{Tb}_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O} \cdot 3\text{CF}_3\text{COOH}$** , C, 37.40; H, 4.32; N, 11.59%.

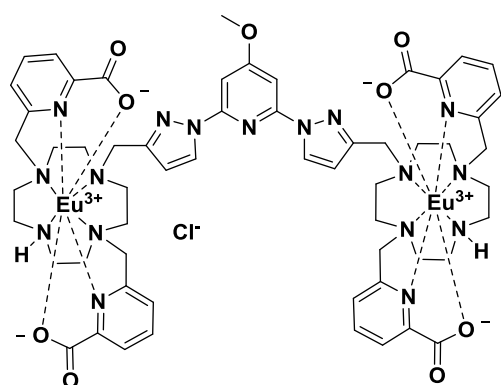
**MS (ESI+,  $\text{H}_2\text{O}$ ):** *m/z* 731.68 (100%), calcd for  $([\text{C}_{58}\text{H}_{67}\text{N}_{17}\text{O}_9\text{Tb}_2]^{2+})$  731.69



**Chemical Formula:**  $\text{C}_{58}\text{H}_{67}\text{Cl}_2\text{Eu}_2\text{N}_{17}\text{O}_9$

**Exact Mass:** 1521.31

**Molecular Weight:** 1521.11



A solution of  $\text{L}_{15}$  (7.3 mg, 0.0039 mmol) and triethylamine (5 mg, 0.046 mmol) in methanol (1 mL) was heated to reflux. A solution of  $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (3.3 mg, 0.009 mmol) in methanol (1 mL) was slowly added. The mixture was heated overnight. The reaction mixture was allowed to cool to room temperature and then concentrated to dryness. The addition of

$\text{CH}_3\text{CN}$  (3 mL) resulted in the formation of a white precipitate. The solid was isolated by filtration and dried under vacuum. Yield (4.4 mg – 75%)

**Elem. Anal.:** Fd, C, 37.40; H, 4.28; N, 11.46%; **Calcd for**  $C_{58}H_{67}Cl_2Eu_2N_{17}O_9 \cdot 10H_2O \cdot 3CF_3COOH$ , C, 37.62; H, 4.44; N, 11.65%.

**MS (ESI+, H<sub>2</sub>O):** *m/z* 724.69, calcd for  $([C_{58}H_{67}N_{17}O_9Eu_2]^{2+})$  724.69

### III. Bibliographie

- (1) Haas, Y.; Stein, G. *J. Phys. Chem.* **1971**, 75 (24), 3668–3677.
- (2) Olmsted, J. *J. Phys. Chem.* **1979**, 83 (20), 2581–2584.



## Abréviations

ACN	Acétonitrile
Ac	Anticorps
Ag	Antigène
AMP	Adénosine monophosphate
ANR	Agence Nationale de Recherche
CLR	Récepteurs lectine de type C
CIP	Ciproflaxine
CIS	Croisement Inter-Système
DELFA	Dissociation-enhanced ligand fluorescence
DIAD	Diisopropyl azodicarboxylate
DFT	Density Functional Theory
DIPEA	Diisopropyléthylamine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthyl sulfoxide
ESI	Electron Spray Ionization
FRET	Förster resonance energy transfer
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HTRF	Homogeneous Time Resolved Fluorescence
IPHC	Institut Pluri-Disciplinaire Hubert-Curien
IVD	Injection intraveineuse directe
Ln	Lanthanides
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
MR-pro-ADM	Midregional fragment of proadrenomedullin
NPs	Nanoparticules
PAM	Proadrénomédulline
PCT	Procalcitonine
QD	Quantum Dots
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
TFA	Acide Trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TLR	Récepteurs de type Toll
TRACE	Time-Resolved Amplified Cryptate Emission
Tris	Trishydroxyméthylaminométhane
UV	Ultraviolet

## Conférences et Publications

### Conférences

---

- 15/04/2013 European F-Element Network (EUFEN 2 f-Block - CMST COST Action CM1006) – Dublin  
☞ Présentation d'un poster  
“*Complexes Luminescent de Tb (III)*”
- 30/01/2015 Les Journées de Chimie de Coordination de la Société Chimique de France  
☞ Présentation d'un poster  
“*Synthèses de complexes dinucléaire luminescents de lanthanides*”
- 09/04/2015 European F-Element Network (EUFEN 4 f-Block - CMST COST Action CM1006) – Lisbonne  
☞ Présentation Orale  
“*Luminescent Lanthanides (III) complex for time-resolved fluoroimmunoassays*”

### Publications

---

- (1) *Chemical library screening and structure-function relationship studies identify bisacodyl as a potent and selective cytotoxic agent towards quiescent human glioblastoma tumor stem-like cells*  
Zeniou, M.; Fève, M.; Mameri, S.; Dong, J.; Salomé, C.; Chen, W.; El-Habr, E. A.; Bousson, F.; Sy, M.; Obszynski, J.; Boh, A.; Villa, P.; Assad Kahn, S.; Didier, B.; Bagnard, D.; Junier, M.-P.; Chneiweiss, H.; Haiech, J.; Hibert, M.; Kilhoffer, M.-C. *PLOS ONE* **2015**, 10 (8), e0134793
- (2) *Importance of outer-sphere and aggregation phenomena in the relaxation properties of phosphonated gadolinium complexes with potential applications as mri contrast agents*  
Elhabiri, M.; Abada, S.; Sy, M.; Nonat, A.; Choquet, P.; Esteban-Gómez, D.; Cassino, C.; Platas-Iglesias, C.; Botta, M.; Charbonnière, L. J. *Chem. - Eur. J.* **2015**, 21 (17), 6535–6546.
- (3) *Ultrabright lanthanide nanoparticles*  
Goetz, J.; Nonat, A.; Diallo, A.; Sy, M.; Sera, I.; Lecointre, A.; Lefevre, C.; Chan, C. F.; Wong, K.-L.; Charbonnière, L. J. *ChemPlusChem* **2016**, n/a – n/a.
- (4) *Lanthanide-based luminescence biolabelling*  
Sy, M.; Nonat, A.; Hildebrandt, N.; Charbonnière, L. J. *Chem. Commun.* **2016**

Mohamadou SY

# Développement de nouveaux complexes luminescents de lanthanides

## **Résumé :**

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du projet « NanoFret », financé par L'Agence Nationale de Recherche (ANR). Elle visait à développer de nouveaux complexes luminescents de lanthanides dans le but de les utiliser dans le diagnostic du choc septique. Le complexe idéal devait posséder une longueur d'onde d'excitation élevée, un temps de vie de luminescence long et une brillance élevée. Nos complexes devaient présenter un nombre important de groupements chromophoriques. Nous avons travaillé sur plusieurs types de ligands afin d'améliorer ces propriétés. La recherche sur les ligands dérivés du cyanophénol a permis d'obtenir un ligand qui est utilisé comme sensibilisateur des nanoparticules « ultra-brillantes ». Les ligands poly-picolinates sont des ligands très intéressants mais nécessite encore d'être perfectionnés afin d'obtenir la géométrie de complexation souhaitée. Les complexes des ligands benzyle-cyclène et pyridine-bispyrazole sont de bonnes plateformes pour la synthèse de complexes luminescents de lanthanides. Les perspectives de ces travaux concernent l'optimisation des chromophores afin d'atteindre des longueurs d'ondes d'excitation supérieures.

**Mots-clés :** lanthanide (III), luminescence, choc septique, acide picolinique

## **Abstract:**

This work is part of the "NanoFret" project, funded by the "Agence National de Recherche" (ANR). It aimed to develop new luminescent lanthanide complexes for their use in the diagnosis of septic shock. The ideal complex should have a high excitation wavelength, a long luminescence lifetime and high brightness. The complexes should then present a significant number of chromophoric groups. We worked on several types of ligands to improve these properties. Research on derivatives of cyanophenol ligands allowed to get a ligand used as a sensitizer for "ultra-bright" Ln(III) nanoparticles. Poly-picolinates ligands are very interesting ligands but still needs to be improved in order to obtain the desired complexing geometry. Complexes of benzyl-cyclen ligands and pyridine-bispyrazole ligands are good platforms for the synthesis of luminescent lanthanide complexes. The perspectives of these works concern the optimization of chromophores to achieve higher excitation wavelengths.

**Keywords:** lanthanide (III), luminescence, septic shock, picolinic acid