

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUIMICA

ELODIE GUIHEUX

**Synthèse et caractérisation de molécules
organiques qui émettent dans la région
du rouge**

Porto Alegre, Julho de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUIMICA

ELODIE GUIHEUX

Synthèse et caractérisation de molécules organiques qui émettent dans la région du rouge

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado junto à Disciplina de Estágio
QUI 99998 do Curso de Química, como requisito parcial
para a obtenção do grau de Bacharel em Química

Dr. Fabiano Severo Rodembusch
Orientador

Porto Alegre, Julho de 2010

Remerciements

Après avoir passé trois mois au sein du laboratoire LNMO « Laboratoire de Nouveaux Matériels Organiques » de l'institut de chimie de l'Universidade Federal do Rio Grande do Sul, je tiens à remercier le Dr. Valter Stefani, directeur de cette équipe, pour m'avoir accueilli dans le cadre de mon stage de Master 1.

Je remercie tout particulièrement le Docteur Fabiano Severo Rodembusch, responsable de mon stage, de m'avoir accueilli dans son équipe de recherche et d'avoir dirigé mon travail pour le bon déroulement de mon stage. Je tiens également à le remercier, pour m'avoir intégrée rapidement au sein du laboratoire, pour m'avoir accordé toute sa confiance et pour le temps qu'il m'a consacré tout au long de cette période.

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes côtoyées pour cette expérience professionnelle. Leur convivialité m'a permis d'évoluer dans un climat favorable et propice à ma formation.

Résumé

Lors de ce projet il a été synthétisé et caractérisé photophysiquement des dérivés de colorant fluorescent des cyanines Cy5, symétriques et asymétriques, qui ont l'absorption et l'émission dans le rouge. Ces molécules ont été obtenues en 3 étapes, à savoir : la synthèse du dérivé propylidène (étape 1), quaternisation d'indole (étape 2) et le couplage du produit quaternisé avec le propylidène (étape 3). Pour la molécule asymétrique l'étape 2 a été faite deux fois afin d'obtenir un dérivé quaternaire différent. Les produits ont été obtenus avec un rendement faible mais en accord avec la littérature.

Pour la molécule obtenue à la fin de l'étape 1, une absorption maximale peut être observée autour de 358 nm avec une émission de fluorescence localisée à 463 nm. Une molécule plus conjuguée, comme celle obtenue dans l'étape 2, présente une absorption maximale localisée à 550 nm avec une émission de fluorescence à 570 nm. Enfin, comme prévu, la molécule finale présente une bande d'absorption et d'émission localisées respectivement à 645 et 655 nm. Toutes les molécules synthétisées présentent un coefficient d'extinction molaire caractéristique de la transition π - π^* . Il peut être observé aussi que la conjugaison joue un rôle fondamental pour la localisation du maximal d'absorption et d'émission. Le produit final présente une absorption dans la région d'intérêt.

Les molécules vont par la suite être greffées sur des co-polymères à blocs de polystyrène fonctionnalisés par Polymérisation Radicalaire Contrôlée afin de les utiliser dans les domaines de l'immunofluorescence.

Mots Clés : cyanine, fluorescence, synthèse organique, immunofluorescence.

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
OBJECTIF DU TRAVAIL.....	2
1. SYNTHÈSES ET RESULTATS.....	3
1.1. Les dérivés de cyanines.....	3
1.2. Les dérivés d'indoles.....	4
1.3. Synthèses effectuées au laboratoire.....	5
1.3.1. Première partie: synthèses des dérivés de cyanines symétriques.....	5
1.3.2. Deuxième partie: synthèses de dérivés de cyanines asymétriques.....	6
1.3.3. Troisième partie: synthèse de précurseurs de la famille des benzazoles.....	8
1.4. Caractérisation photophysique.....	9
CONCLUSION.....	10
PERSPECTIVES.....	10
2. ANNEXES.....	11
2.1. Mode opératoires et caractérisations pour la préparation des cyanines.....	11
2.1.1. Préparation du [3-(phenylamino)-2-propen-1-ilydene]-benzenamine.....	11
2.1.2. Préparation du 1-(5-carboxypentyl)-2,3,3-triméthyl-3H-indoline bromide..	12
2.1.3. Préparation de la 2-[5-[1-(5-Carboxipentil)-1,3-diidro-3,3-diméthyl-2H-indol-2-ilidene]-1,3-pentadienil]-1,3,3-triméthyl-3H-indoline bromide.....	13
2.1.4. Préparation de la 1-octanyl-2,3,3-triméthyl-3H-indoline iodide.....	15
2.1.5. Préparation de l'étape 3.....	16
2.1.6. Préparation des précurseurs de la famille des benzazoles.....	18
2.2. Mode opératoire et caractérisation pour la préparation des précurseurs qui émettent dans l'infrarouge.....	20
2.2.1. Préparation de sel de diazonium de l'acide 1-naphthylamine-5-sulfonique	20
2.2.2. Préparation de la 1,1,2-triméthyl-1H-benzo[e]indol-6-sulfonate de potassium.....	20
REFERENCES.....	22

Schémas

<u>Schéma 1.</u> Méthode générale de la synthèse de cyanine, où R est allyle ou alkyle.	3
<u>Schéma 2.</u> Rétrosynthèse de la molécule de cyanine symétrique.	3
<u>Schéma 3.</u> Rétrosynthèse de la molécule de cyanine asymétrique.....	4
<u>Schéma 4.</u> Méthode générale pour obtenir les précurseurs de type benzazole (16-18).....	4
<u>Schéma 5.</u> Méthode générale pour obtenir le précurseur (3).....	5
<u>Schéma 6.</u> Méthode générale pour obtenir le précurseur (6).....	5
<u>Schéma 7.</u> Méthode générale pour obtenir le colorant Cy5 symétrique (9).	6
<u>Schéma 8.</u> Méthode générale pour obtenir le précurseur (8).....	7
<u>Schéma 9.</u> Méthode générale pour obtenir le colorant Cy5 asymétrique (10).	7
<u>Schéma 10.</u> Méthode générale pour obtenir les précurseurs (16-18).	8

Figures

<u>Figure 1.</u> (a) Structure de la molécule Cy5, (b) dérivé de Cy5, où R1 et R2 sont alkyle et/ou allyle.....	2
<u>Figure 2.</u> Etapes de préparation des boules de polystyrène pour des essais d'immunofluorescence.....	2
<u>Figure 3.</u> Spectres d'absorption UV-VIS et d'émission de fluorescence normalisés des molécules obtenues : (A) étape 1, (B) étape 2 et (C) étape3.....	9

Introduction

Dans le cadre de ma formation de master chimie, j'ai effectué un stage de treize semaines au sein du laboratoire LNMO « Laboratoire de Nouveaux Matériaux Organiques » de l'Institut de Chimie de l'*Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. Le travail dirigé par le professeur Fabiano Severo Rodembusch, étudie les molécules photoactives. Les différents axes de recherche sont centrés sur la synthèse de ces dernières, leurs caractérisations spectroscopiques et photophysiques.

Les colorants de cyanine font partie de ce type de molécules. Elles furent à l'origine utilisées, et le sont toujours, pour augmenter la gamme des absorptions de photons. Selon la structure, elles couvrent un spectre allant de l'UV à l'IR. Au laboratoire, les dérivés de cyanine sont synthétisés afin d'être couplés avec des copolymères à blocs qui sont préparés par polymérisation radicalaire contrôlée. Depuis longtemps, la synthèse de polymères avec des compositions, des architectures et des fonctionnalités bien définies sont d'un grand intérêt en chimie des polymères.¹⁻⁴ Un intérêt particulier a été récemment montré dans les polymères photoactifs, qui sont des matériaux peu coûteux et facilement synthétisables.^{5,6} Ces macromolécules fonctionnelles présentes à grande échelle des applications dans les domaines des senseurs chimiques fluorescentes, des thermomètres moléculaires fluorescents, en imagerie fluorescente, pour les transporteurs de délivrance de médicaments et pour les sondes fluorescentes.⁷

La plupart des recherches académiques et industrielles sur la polymérisation vivante ont été axées sur la polymérisation anionique, cationique, la coordination et la polymérisation par ouverture de cycle. Parmi toutes ces méthodes, la polymérisation radicalaire contrôlée (PRC) s'est faite une place de choix lors des ces quinze dernières années. En effet, les différentes méthodes de PRC ont conduit à de très grandes avancées dans le domaine de la synthèse macromoléculaire en autorisant l'élaboration d'une variété d'architecture nouvelle, et parfois complexe, avec une haute maîtrise des différentes étapes de la polymérisation. Ces aspects sont combinés à tous les avantages que procurent la polymérisation radicalaire classique, en particulier la diversité des monomères pouvant être polymérisés et la liberté qu'elle offre en termes de procédés et de conditions expérimentales. Parmi ces polymérisations radicalaires contrôlées, l'Atom Transfert Radical Polymerization (ATRP)⁴ et La Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT)⁸⁻¹¹ sont devenues les méthodes les plus populaires en raison de leur adaptabilité à un large éventail de monomères fonctionnels et de leurs conditions expérimentales moins sévères (température et pression moins élevées). Ces techniques permettent la synthèse d'homopolymères et de copolymères à blocs avec des architectures bien définies et des poids moléculaires contrôlés.^{12,13} Ces systèmes trouvent des

applications dans l'encapsulation et la délivrance de principes actifs, le renforcement des polymères, ou encore, les supports de molécules biologiques ou photoactives pour le diagnostic médical qui est le principal objectif de ce travail.

Objectif du travail

L'objectif affiché du groupe est de développer de nouvelles synthèses, par des techniques bien définies trouvées dans la littérature, pour obtenir des molécules fluorescentes. Il m'a été confié la synthèse et la caractérisation de dérivés de colorants fluorescents des cyanines Cy5, symétriques et asymétriques qui ont l'absorption dans le rouge (635 nm) et des émissions dans le proche infrarouge (721nm) et rouge (650nm) (Schéma 1).

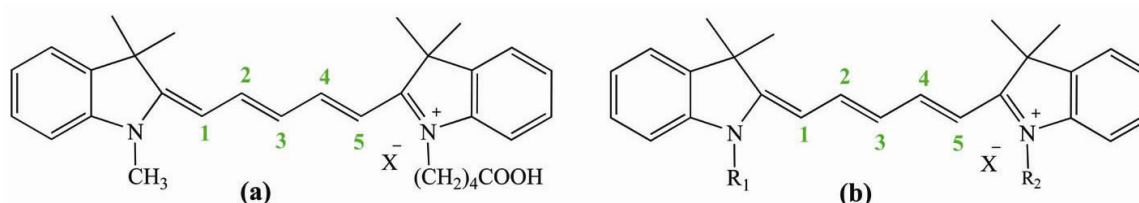


Figure 1. (a) Structure de la molécule Cy5, (b) dérivé de Cy5, où R_1 et R_2 sont alkyle et/ou allyle.

Par la suite, elles interagissent chimiquement, pour faire la liaison avec des copolymères à blocs de polystyrène fonctionnalisés par PRC, ce qui servira, plus tard, dans le domaine médical (Figure 1). Cette dernière explique les différentes étapes de préparation des boules de polystyrène pour des essais d'immunofluorescence: (1) Un mélange de microsphères couplées avec des anticorps spécifique est distribué dans chaque échantillon; (2) Lors d'une première incubation, les analytes ciblés sont capturés par les billes en suspension; (3) Après lavage, un cocktail d'anticorps de détection couplé à la biotine est ajouté à chaque puits; (4) Le réactif journaliste (phycoérythrine-streptavidine) est ajouté à chaque puits; (5) Les billes diluées dans la gaine sont excitées par le laser rouge (635 nm). Cela permet la classification de celles-ci grâce aux deux colorants fluorescents ancrés qui émettent à différentes longueurs d'onde: 657 nm et 730 nm. La phycoérythrine est excitée à 532 nm par le laser vert et émet à 580 nm. Cela permet la détection ou non des analytes.¹⁴

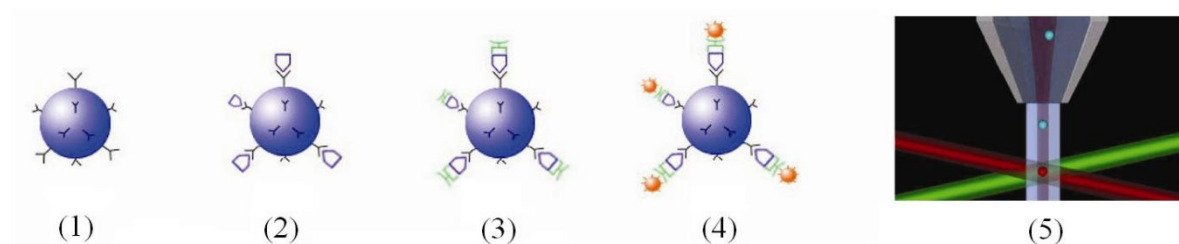


Figure 2. Etapes de préparation des boules de polystyrène pour des essais d'immunofluorescence.

1. Synthèses et résultats

1.1 Les dérivés de cyanines

Les dérivés de cyanine sont généralement synthétisés par réaction de dérivés polyènes sur des dérivés indoles fonctionnalisés (Schéma 2). Ces molécules sont utilisées dans une grande variété d'applications biologiques, et sont également utilisées pour marquer les protéines et les acides nucléiques pour les diverses études.¹⁵

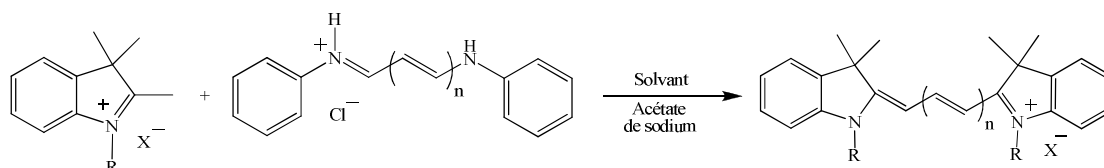


Schéma 1. Méthode générale de la synthèse de cyanine, où R est allyle ou alkyle.

Parmi les différentes structures présentées dans la littérature¹⁶⁻²⁶ et également à partir des longueurs d'onde d'excitation obtenues avec l'appareil Luminex 100[®],* différentes cyanines avec l'absorption dans le rouge et l'émission dans le proche infrarouge et les régions du rouge ont été choisies.

La méthodologie de synthèse présentée dans les publications nous a permis de proposer des rétrosynthèses pour deux molécules ciblées, symétrique et asymétrique respectivement (Schéma 3 et Schéma 4).

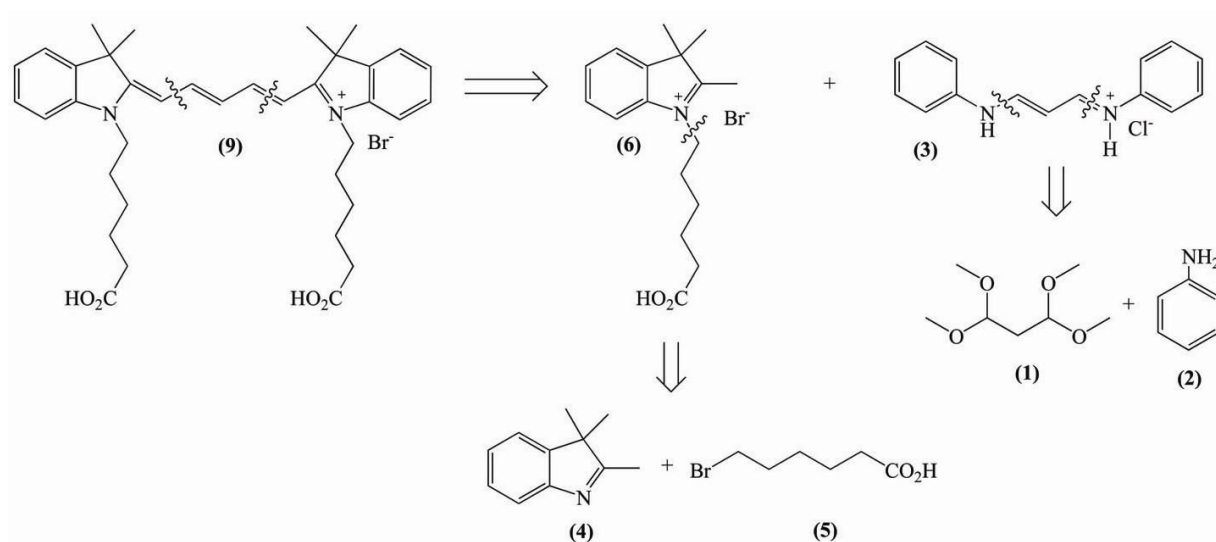


Schéma 2. Rétrosynthèse de la molécule de cyanine symétrique.

La synthèse des cyanines symétriques est convergente. Elle est mise au point en trois étapes: Tout d'abord, en présence de chlorure d'hydrogène concentré, il y a réaction entre

* Appareil utilisé pour sélectionner les polymères dopés avec les cyanines, par couleur d'émission, rouge, infra-rouge.

l'acétal **(1)** et l'aniline **(2)** pour donner le dérivé propylidène **(3)**. Puis, le dérivé d'azote quaternaire **(6)** est obtenu par réaction du 2,3,3-triméthylindolenine **(4)** avec le dérivé bromé d'un acide carboxylique **(5)**. Enfin, le dérivé de la cyanine Cy5 **(9)** est préparé par réaction entre un équivalent de précurseur propylidène **(3)** et deux équivalents du précurseur d'azote quaternaire **(6)**, synthétisés préalablement.

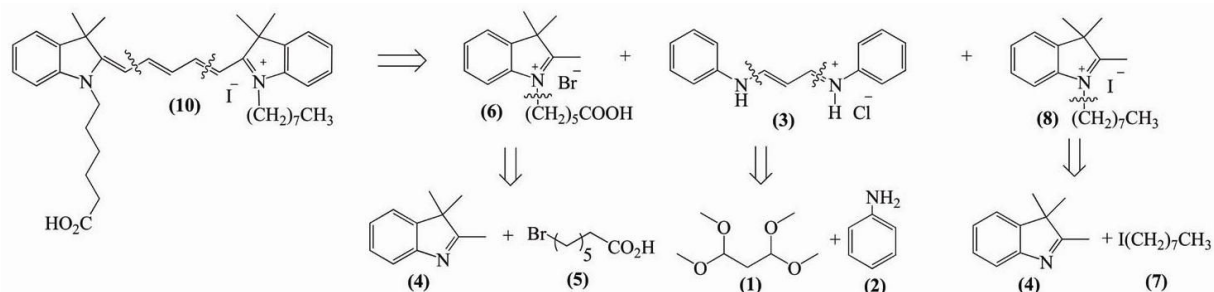


Schéma 3. Rétrosynthèse de la molécule de cyanine asymétrique.

L'obtention des dérivés des cyanines asymétriques est également une synthèse convergente, mais celle-ci, est établit en quatre étapes. La première et la seconde étape sont les même que celles décrite précédemment pour obtenir le dérivé propylidène **(3)** et le précurseur d'azote quaternaire **(6)**. Lors de la troisième étape, le dérivé d'azote quaternaire **(8)** est obtenu par réaction du 2,3,3-triméthylindolenine **(4)** avec le dérivé iodé qui contient huit carbones **(7)**. Enfin, le dérivé de la cyanine Cy5 **(10)** est préparé, à l'équivalence, par réaction entre le précurseur propylidène **(3)**, préparé préalablement, le précurseur d'azote quaternaire **(8)** et le précurseur d'azote quaternaire **(6)**. Ce dernier contient un groupement carboxylique.

1.2 Les dérivés d'indoles.

Pour avoir un large choix dans la synthèse de cyanines, des précurseurs d'indoles de type benzazole on été mis au point (Schéma 5).

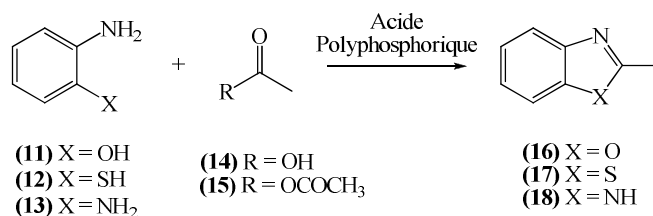


Schéma 4. Méthode générale pour obtenir les précurseurs de type benzazole **(16-18)**.

Les dérivés d'indoles sont obtenus par réaction entre une ortho amine substituée sur l'acide ou l'anhydride acétique, en présence d'acide polyphosphorique.

1.3.1.3 Troisième étape:

- Synthèse de la 2-[5-[1-(5-Carboxipentyl)-1,3-dihydro-3,3-diméthyl-2*H*-indol-2-ilidène]-1,3-pentadiényl]-1-(5-Carboxipentyl)-3,3-diméthyl-3*H*-indoline bromide (**9**) (Schéma 8, Tableau 1).

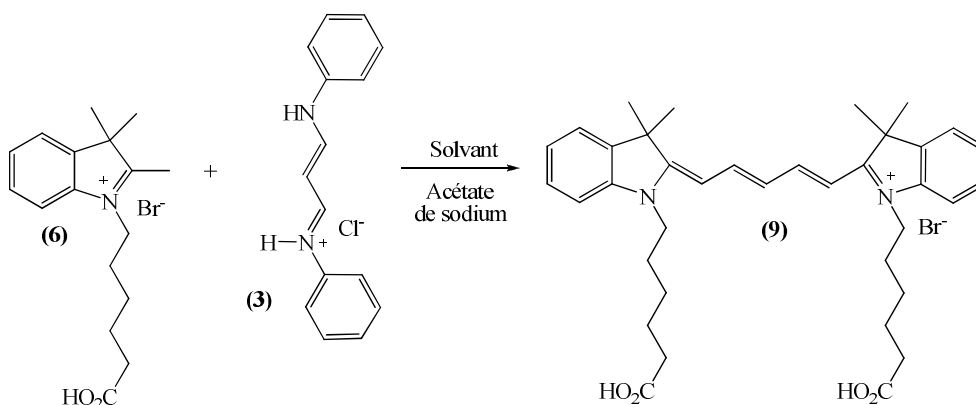


Schéma 7. Méthode générale pour obtenir le colorant Cy5 symétrique (**9**).

Dans une réaction typique, le produit attendu (**9**) a été obtenu, sous reflux, à partir d'une réaction entre le précurseur du bromure (**6**) et le propylidène (**3**). Quatre essais ont été effectués. Un seul des quatre essais a donné le produit désiré en fin de réaction. Le rendement obtenu est de 8%.

Solvant	Conditions
Ethanol	Reflux, 15h
Anhydride acétique	110°C, 4h
Anhydride acétique	110°C, 4h
Anhydride acétique	110°C, 4h

Tableau 1

Remarques: Avec l'utilisation de l'éthanol comme solvant, le produit désiré à la fin de la réaction n'est pas obtenu. Le choix du solvant n'a donc pas été judicieux. Avec l'utilisation de l'anhydride acétique comme solvant, le produit désiré à la fin de la réaction est obtenu. Mais, lors de la micro-distillation, ou lors des 4 heures de chauffage la température a dépassée 110°C, les résultats de la RMN nous montrent que le produit s'est décomposé.

1.3.2 Deuxième partie: synthèses de dérivés de cyanines asymétriques

A mon arrivée au laboratoire, une méthode de synthèse de dérivés de cyanine asymétriques avait été aussi mise au point (schéma 4). Le deuxième objectif de ma formation a été d'enrichir la banque de composés dérivés en synthétisant des molécules Cy5 asymétriques.

1.3.2.1 Première étape:

- Synthèse de la -[3-(phenylamino)-2-propèn-1-ilydène]-benzenamine (**3**).

La synthèse de cette molécule est la même que celle abordée lors de la première étape des cyanines Cy5 symétriques. Les rendements obtenus vont de 12 à 27%.

1.3.2.2 Deuxième étape:

- Synthèse de la 1-octanyl-2,3,3-triméthyl-3H-indoline iodide (**8**). (Schéma 9).

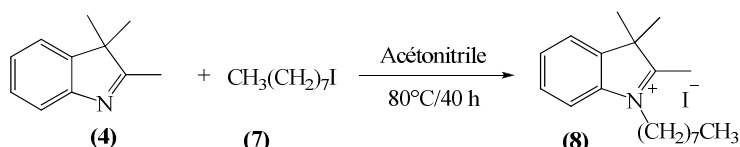


Schéma 8. Méthode générale pour obtenir le précurseur (**8**).

Dans une réaction typique, le dérivé de cyanine (**8**) a été obtenu par la réaction du 2,3,3-triméthylindolenine (**4**) sur l'iodooctane (**7**), sous reflux pendant 40 heures, avec l'utilisation de l'acétonitrile comme solvant.²⁷ Un essai a été effectué. Le rendement obtenu est de 83%. Le produit a été purifié avec une solution d'ether.

Remarque : Un bon rendement a été obtenu.

1.3.2.3 Troisième étape:

- Synthèse de la 2-[5-[1-(5-Carboxypentyl)-1,3-dihydro-3,3-diméthyl-2H-indol-2-ylidène]-penta-1,3-dienyl]-1-octanyl-3,3-diméthyl-3H-indolium bromide (Schéma 10).

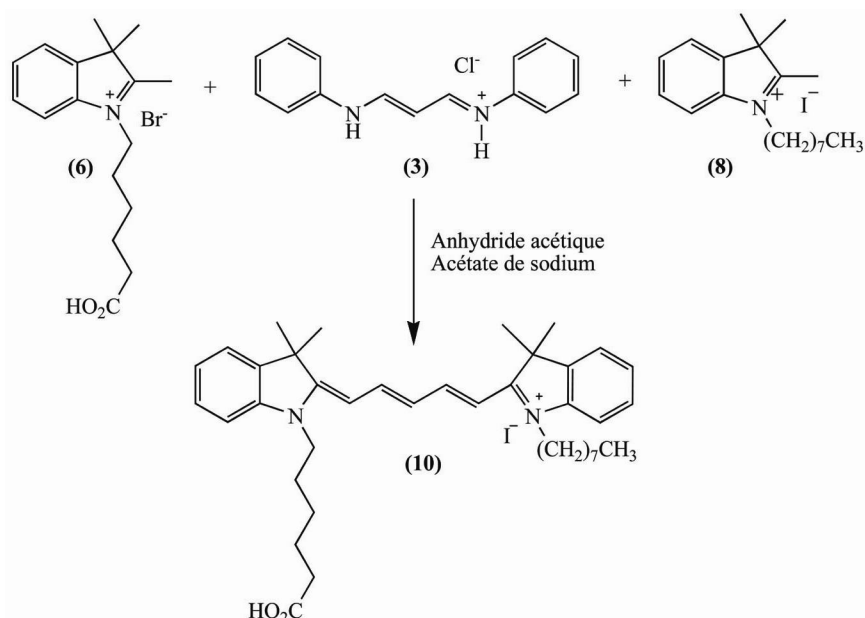


Schéma 9. Méthode générale pour obtenir le colorant Cy5 asymétrique (**10**).

Dans une réaction typique, le produit attendu (**10**) a été obtenu à partir d'une réaction entre le précurseur du bromure (**6**), le propylidène (**3**) et le précurseur iodure (**8**), sous reflux,

pendant 4 heures, avec l'utilisation de l'anhydride acétique comme solvant. Un essai a été effectué. Le rendement obtenu est supérieur au rendement maximum théorique.

Remarque: On obtient un rendement supérieur au rendement maximum théorique car le solvant est difficile à éliminer sans que le produit se dégrade ($T_{\max}=110^{\circ}\text{C}$).

1.3.3 *Troisième partie: synthèse de précurseurs de la famille des benzazoles.*

Après l'obtention de dérivés de cyanine, il a été décidé de changer les précurseurs indoles en utilisant des précurseurs benzazoles (schéma 11, Tableau 2).

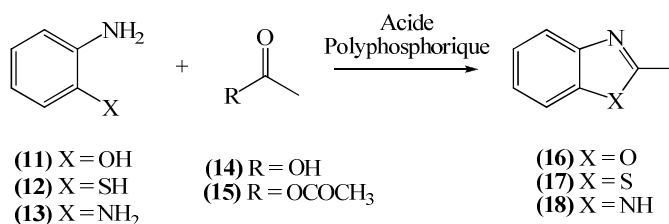


Schéma 10. Méthode générale pour obtenir les précurseurs (16-18).

La synthèse consiste à une réaction entre une aniline substituée et un dérivé d'acide carboxylique, le tout en milieu acide. Par manque de temps, seulement trois manipulations ont été réalisées. Trois essais ont été effectués. Un seul d'entre eux a donné le produit désiré. Le rendement obtenu est de 80%.

Réactif	Aniline substituée	Molécule d'arrivée
Acide acétique glacial/		
Anhydride acétique		
Acide acétique glacial		

Tableau 2

Remarque: Avec X=OH, que l'on utilise l'acide acétique glacial ou l'anhydride acétique, l'extraction du produit dans l'eau n'a pas été possible. Le précurseur utilisé n'est donc pas bon.

1.4. Caractérisation photophysique

Dans la figure 2 on trouve respectivement les spectres d'absorption UV-vis normalisés et les spectres d'émission de fluorescence, des molécules obtenues lors des trois étapes lors de la synthèse de la molécule symétrique.

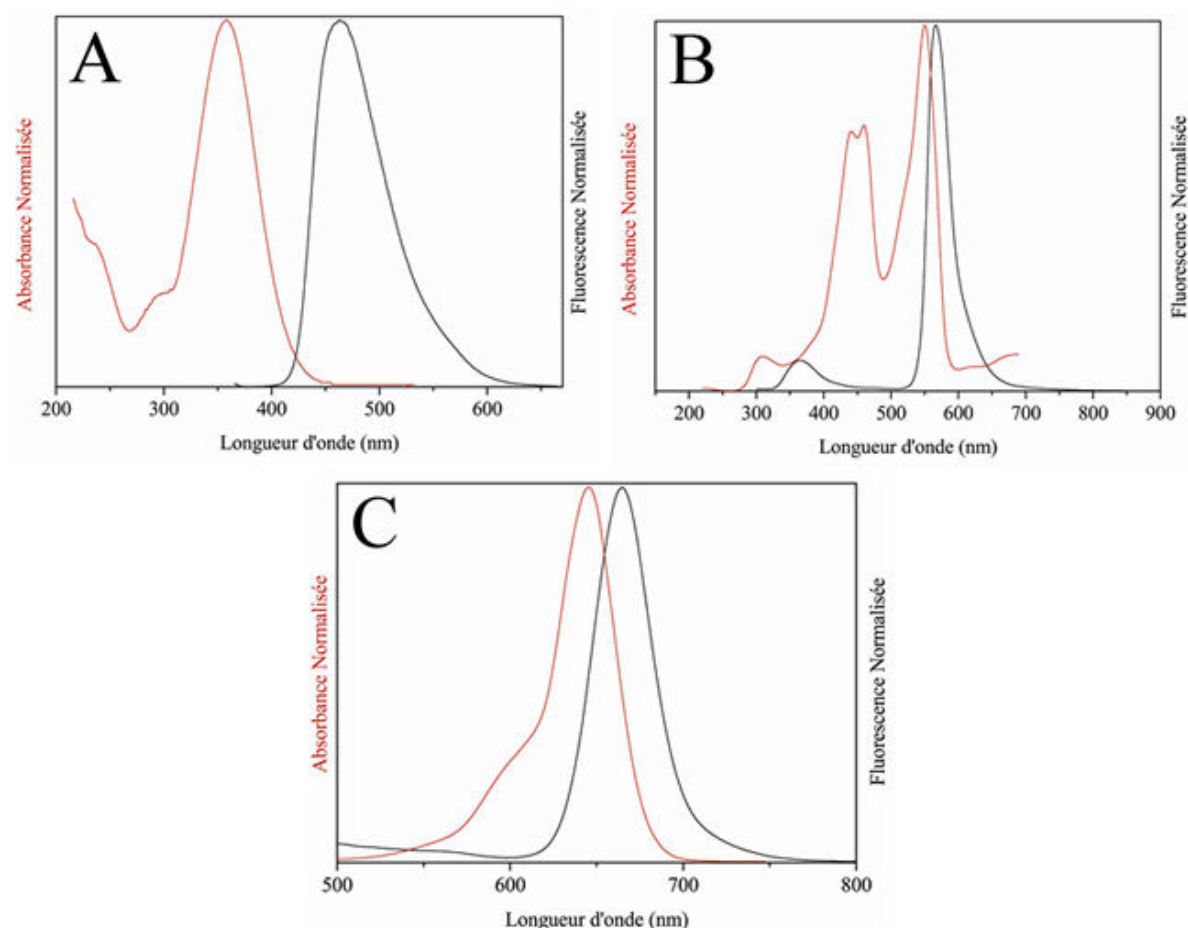


Figure 3. Spectres d'absorption UV-VIS et d'émission de fluorescence normalisés des molécules obtenues : (A) étape 1, (B) étape 2 et (C) étape 3.

Pour la molécule obtenue à la fin de l'étape 1, une absorption maximale peut être observée autour de 358 nm avec une émission de fluorescence localisée à 463 nm (figure 2A). Une molécule plus conjuguée, comme celle obtenue dans l'étape 2, présente une absorption maximale localisée à 550 nm avec une émission de fluorescence à 570 nm (figure 2B). Enfin, comme prévu, la molécule finale présente une bande d'absorption et d'émission localisées respectivement à 645 et 655 nm (figure 2C). Toutes les molécules synthétisées présentent un coefficient d'extinction molaire caractéristique de la transition $\pi-\pi^*$. Il peut être observé aussi que la conjugaison joue un rôle fondamental pour la localisation du maximal d'absorption et d'émission. Le produit final présente une absorption dans la région d'intérêt, le rouge, mais uniquement avec l'utilisation du Luminex 100[®]. Le produit obtenu nous donne les meilleurs résultats concernant l'intensité et la longueur d'onde d'émission.

CONCLUSION

Les dérivés de cyanine symétriques et asymétriques ont été synthétisés avec succès. De faibles rendements ont été obtenus mais ils restent en accord avec ceux des publications trouvées dans la littérature. Ces molécules présentent une absorption et une émission dans le domaine du rouge.

PERSPECTIVES

Les molécules vont par la suite être greffées sur des co-polymères à blocs de polystyrène fonctionnalisés par Polymérisation Radicalaire Contrôlée pour les utiliser dans les domaines de l'immunofluorescence.

2. Annexes

Solvants et réactifs - Tous les solvants et réactifs sont utilisés comme reçus.

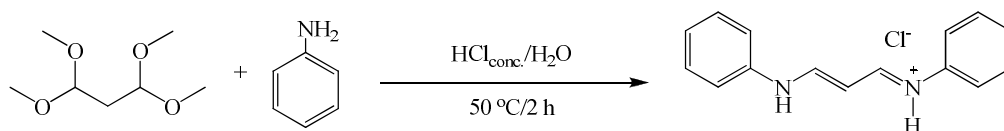
Techniques analytiques - Les spectroscopies de résonance magnétique nucléaire du proton ^1H sont enregistrées sur un appareil Varian Inova YH300 ($B_0=7,0\text{T}$), dans le CDCl_3 , DMSO ou D_2O . Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm, les couplages en hertz et la multiplicité des signaux est symbolisée comme suit : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), sext (sextuplet), m (multiplet), sl (signal large).

Pour les mesures photophysiques d'absorption dans l'UV-vis, a été utilisé un appareil Shimadzu UV-2450PC et pour les mesures d'émission de fluorescence, a été utilisé un spectrofluoromètre Shimadzu RF5301. Les mesures ont été réalisées à température ambiante pour une concentration de 10^{-6} M dans l'éthanol. Pour les analyses infrarouges (FTIR), a été utilisé un appareil Shimadzu Prestige-21.

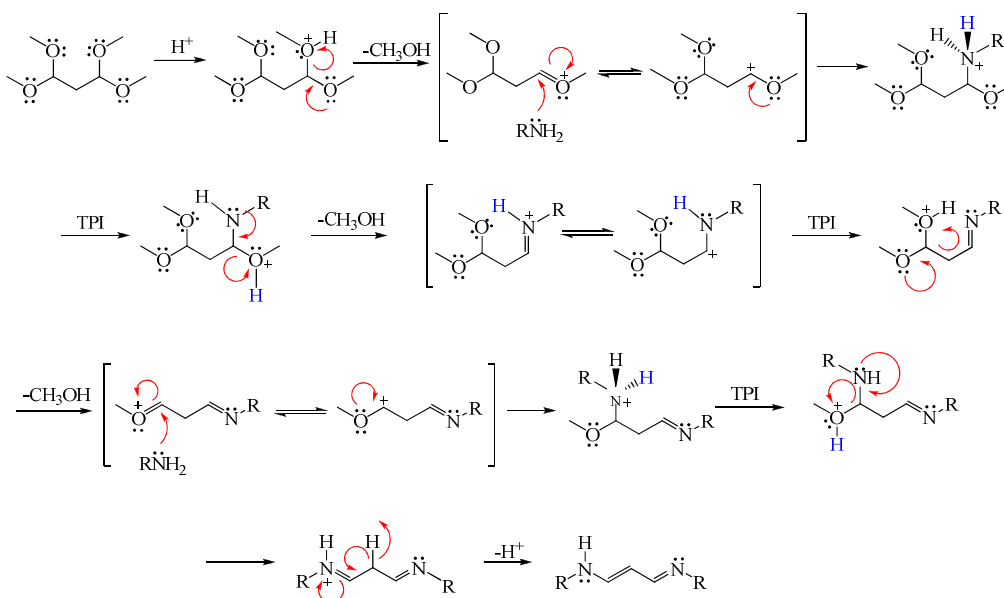
2.1. Mode opératoires et caractérisations pour la préparation des cyanines.

2.1.1. Préparation du [3-(phenylamino)-2-propen-1-ilydene]-benzenamine

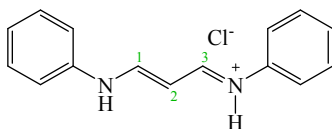
2.1.1.1. Equation bilan



2.1.1.2. Mécanisme



Dans le mécanisme, TPI correspond au Transfert de Proton Intramolécuaire.

2.1.1.3. Mode opératoire pour la manipulation 1

A une solution chauffée (température du bain : 50°C) de 7 mL (42 mmol) de malonaldehyde bis(diméthyl)actétal préalablement dissout dans 115 mL d'eau distillée et acidifiée par 6 mL d'acide chlorhydrique est ajouté lentement une solution de 5 mL d'aniline (55 mmol) dissout dans 95 mL d'eau distillée et acidifiée par 7 mL d'acide chlorhydrique. La solution obtenue est refroidit puis filtrée sur Büchner pour donner 1,10 g d'un solide de couleur orange. Le rendement est de 12%. Le même mode opératoire a été appliqué à l'autre composé synthétisé.

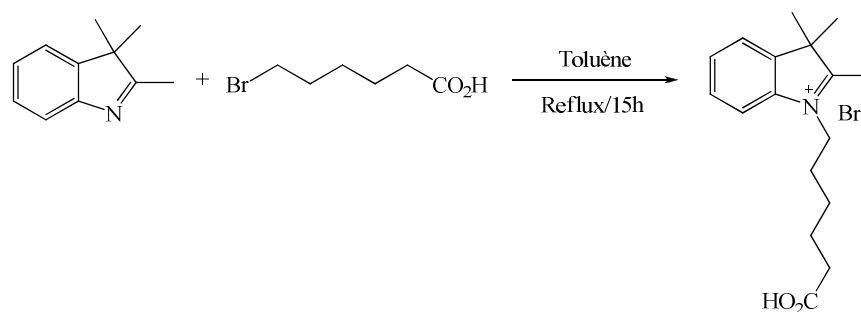
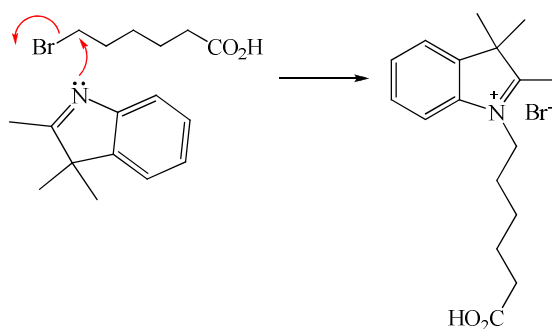
2.1.1.4. Analyses du composé

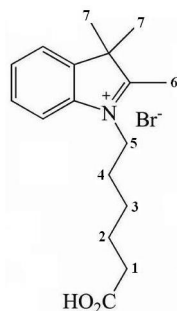
RMN ¹H: (300 MHz, DMSO): δ ppm 12,7 (s, 1H, NH); 12,0 (s, 1H, ⁺NH); 8,9 (t, 1H, J = 12,4 Hz, C₃); 7,4-7,6 (m, 10H, Ph); 7,2 (t, 1H, J = 9 Hz, C₁); 6,5 (t, 1H, J = 11,5 Hz, C₂).

IR: (Nujol, cm⁻¹): 3366 (v NH); 3024 (v =CH); 1628 (v C=N); 1578 (v C=C).

UV-VIS absorption: $\lambda_{max}^{abs} = 359$ nm.

Fluorescence émission: $\lambda_{max}^{em} = 465$ nm. *Déplacement de Stokes*: $\Delta\lambda_{ST} = 106$ nm.

2.1.2. Préparation du 1-(5-carboxypentyl)-2,3,3-triméthyl-3H-indoline bromide2.1.2.1. Equation bilan2.1.2.2. Mécanisme

2.1.2.3. Mode opératoire pour la manipulation 2

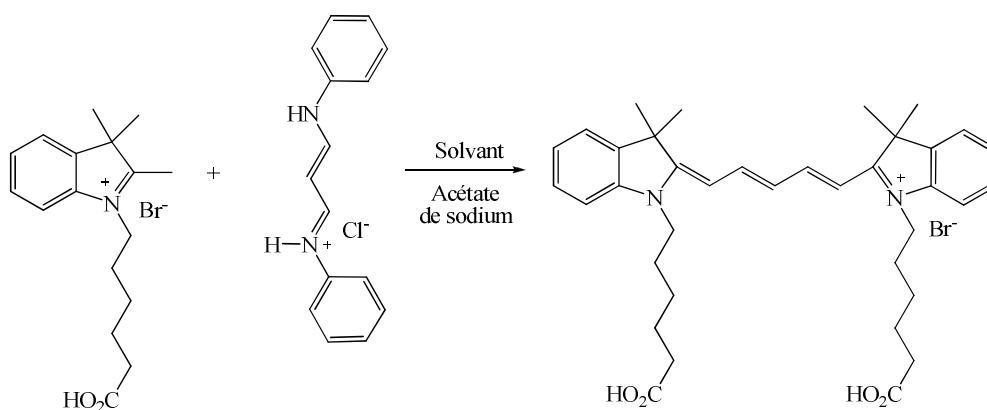
A une solution de 0,57 g (2,9 mmol) de 6-bromohexanoïque préalablement dissout dans 4 mL de toluène est ajouté 0,6 mL (3,7 mmol) de 2,3,3-triméthylindolénine. Le mélange réactionnel est porté à reflux (température du bain : 110°C) pendant 15 heures, sous agitation. Après retour à température ambiante, la phase aqueuse est alors extraite 3 fois par 15 mL de chloroforme. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ puis concentrées à sec sous pression réduite pour donner 1,33 g d'une huile de couleur noir. Le rendement est de 54%. Le même mode opératoire a été appliqué à l'autre composé synthétisé.

2.1.2.4. Analyses du composé

RMN ¹H: (300 MHz, DMSO): δppm 7,6 (s, 1H, OH); 3,4 (t, 2H, J = 6,8Hz, C₅); 2,4 (t, 2H, J = 4,0 Hz, C₁); 2,3 (s, 3H, C₆); 1,9 (q, 2H, J = 8,3 Hz, C₂); 1,7 (q, 2H, J = 8,3 Hz, C₄); 1,5 (q, 2H, J = 8,8 Hz, C₃); 1,3 (6H, C₇).

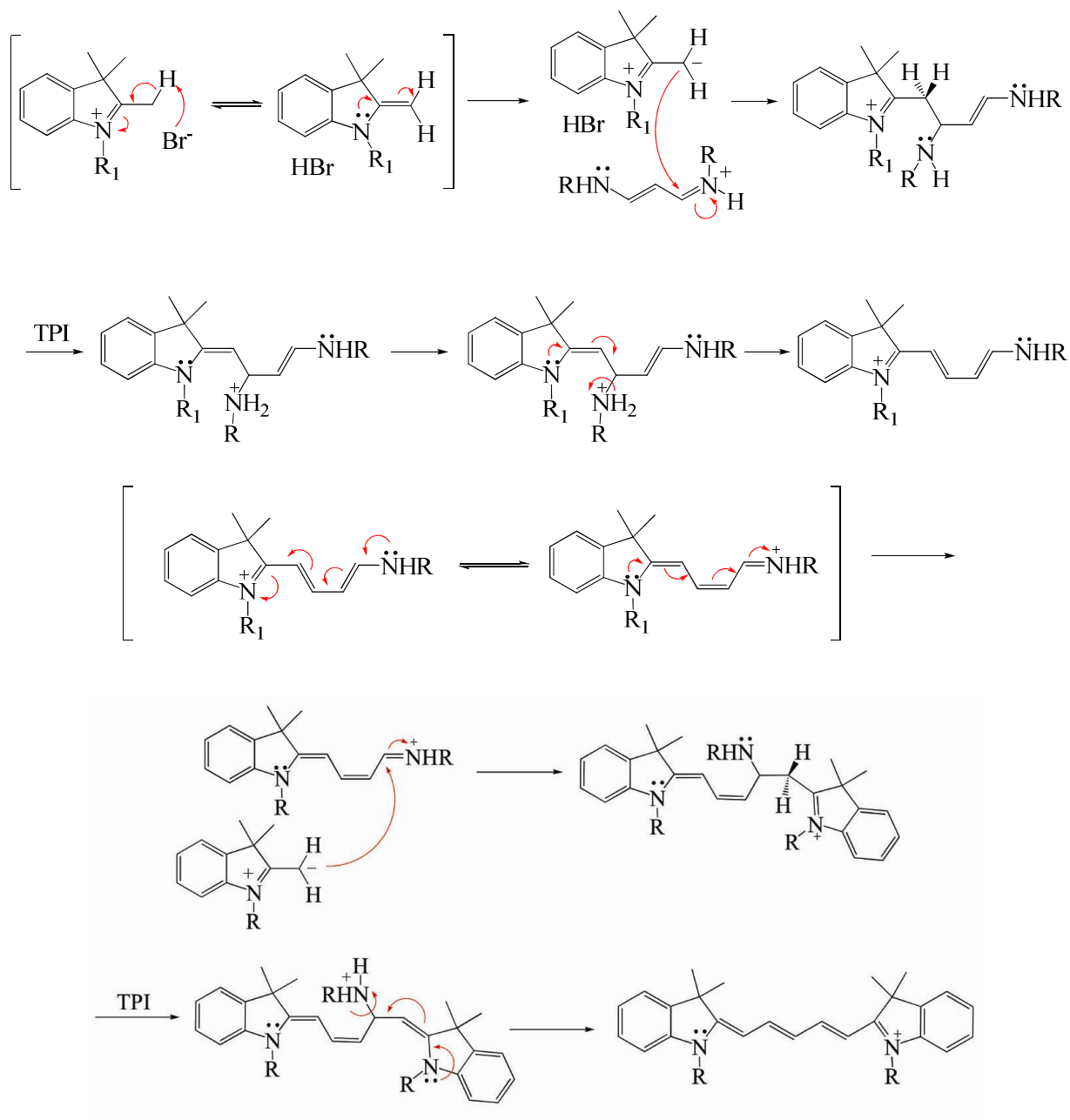
UV-VIS absorption: λ_{max}^{abs} = 551 nm.

Fluorescence émission: λ_{max}^{em} = 566 nm. Déplacement de Stokes: Δλ_{ST} = 15 nm.

2.1.3. Préparation de la 2-[5-[1-(5-Carboxipentil)-1,3-diidro-3,3-diméthyl-2H-indol-2-ylidène]-1,3-pentadienil]-1,3,3-triméthyl-3H-indoline bromide2.1.3.1. Equation bilan

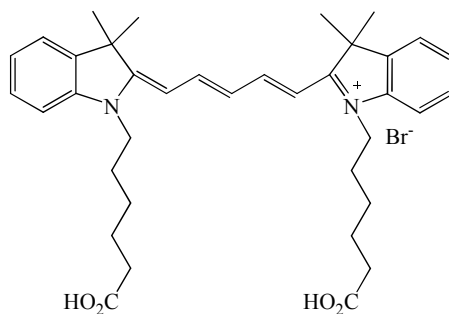
2.1.3.2. *Mécanisme*

Pour simplifier le mécanisme $R_1=(CH_2)_5-COOH$



Dans le mécanisme, TPI correspond au Transfert de Proton Intramoléculaire.

2.1.3.3. *Mode opératoire pour la Manipulation 17*



A une solution de 1,09 g (3,1 mmol) du dérivé du bromure préalablement dissout dans 7 mL d'anhydride acétique est ajouté 0,34 g (1,5 mmol) de propylidène et 0,33 g (2,4 mmol) d'acétate de sodium. Le mélange réactionnel est porté à reflux (température du bain : 110°C) pendant 4 heures, sous agitation. Après retour à température ambiante, l'anhydride acétique est extrait par micro-distillation, pour donner 0,043 g d'une huile de couleur verte. Le rendement est de 8%.

Remarque : Cette synthèse a aussi été réalisée dans l'éthanol, sous reflux pendant 15 heures, mais le choix de ce solvant n'était pas judicieux. Le produit désiré n'a pas été obtenu.

2.1.3.4. Analyses du composé

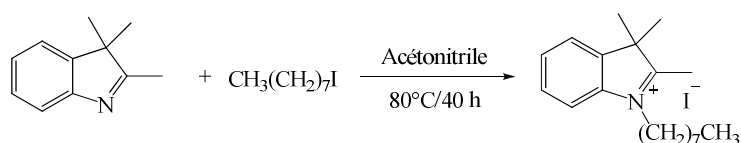
RMN ¹H: (300 MHz, DMSO): δppm 7,0-7,6 (m, 13H, H_{aro}+H_{olefine}); 4,06 (t, 4H, J = 6,6 Hz); 3,4 (t, 4H, J = 6,6 Hz); 1,65 (s, 12H, CH₃); 1,2-2,4 (m, 12H, CH₂).

UV-VIS absorption: λ_{max}^{abs} = 646 nm.

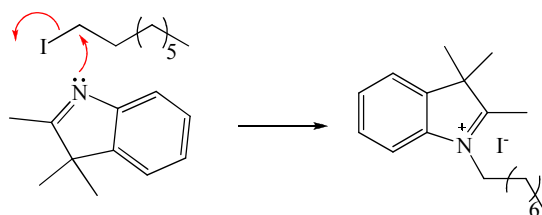
Fluorescence émission: λ_{max}^{em} = 665 nm. Déplacement de Stokes: Δλ_{ST}=19 nm.

2.1.4. Préparation de la 1-octanyl-2,3,3-triméthyl-3H-indoline iodide.

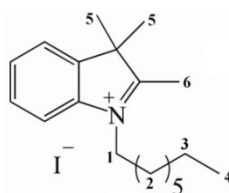
2.1.4.1. Equation bilan



2.1.4.2. Mécanisme



2.1.4.3. Mode opératoire pour la manipulation 4



A une solution de 45 mL (0,25 mol) de iodoctane en présence de 13 mL d'acétonitrile est ajouté 8 mL (0,05 mol) de 2,3,3-triméthylindolenine. Le mélange réactionnel est porté à reflux (température du bain : 80°C) pendant 40 heures, sous agitation.

Après retour à température ambiante, le produit obtenu est lavé dans l'éther pour donner 16,63 g d'huile de couleur noir. Le rendement est de 83%.

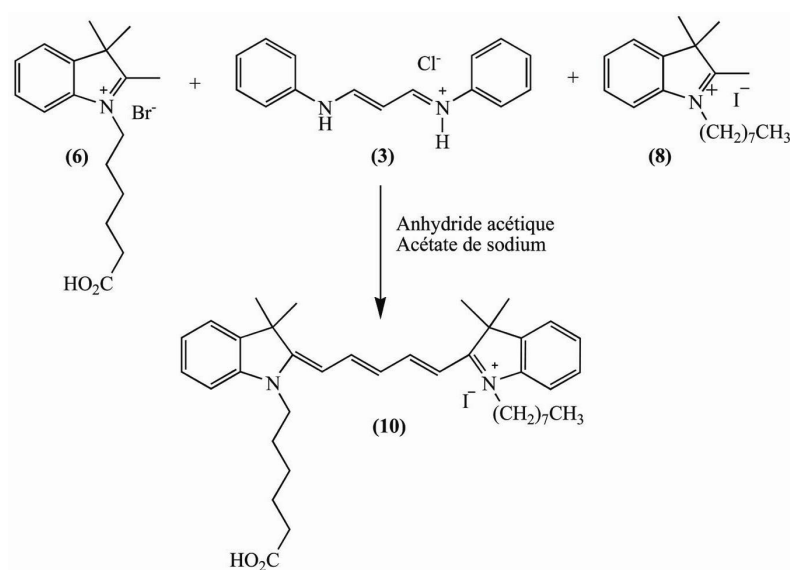
2.1.4.4. Analyses du composé

RMN ¹H: (300 MHz, DMSO): δppm 7,6-7,2 (m, 4H, Ph); 4,5 (t, 2H, J = 7,7 Hz, H₁); 3,0 (s, 3H, H₆); 1,8 (q, , 2H, J = 7,2 Hz, H₃); 1,6 (s, 6H, H₅); 1,2 (m, 8H, H₂); 0,8 (t, 3H, J = 3,9 Hz, H₄).

IR: (Nujol, cm⁻¹): 2926 (ν CH₃); 2854 (ν CH₂); 1624 (ν C=N).

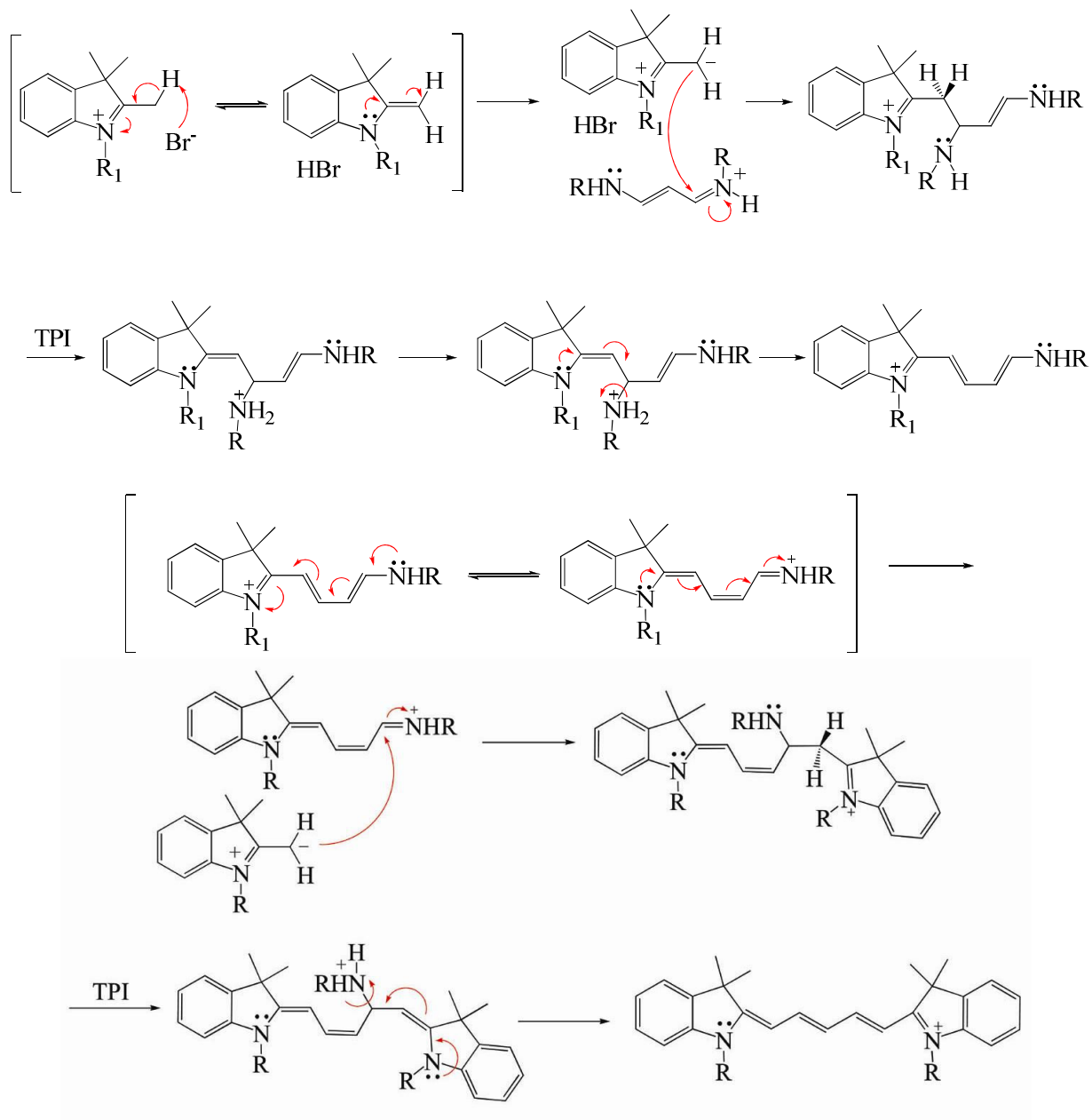
2.1.5. Préparation de l'étape 3

2.1.5.1. Equation bilan



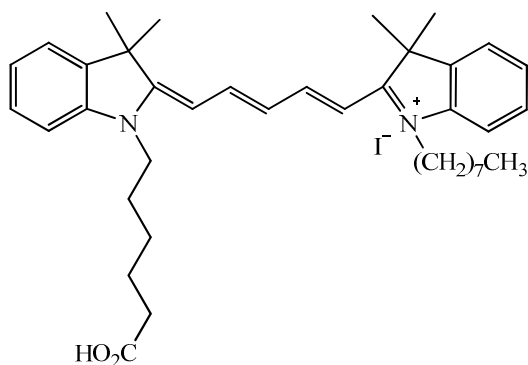
2.1.5.2. Mécanisme

Pour simplifier le mécanisme $R_1=(CH_2)_5-COOH$ et $R_2=(CH_2)_7CH_3$.



Dans le mécanisme, TPI correspond au Transfert de Proton Intramoléculaire.

2.1.5.3. *Mode opératoire pour la manipulation 16*



A une solution de 0,55 g (1,6 mmol) du dérivé bromé préalablement dissout dans 7 mL d'anhydride acétique est ajouté 0,35 g (1,6 mmol) de propylidène, 0,63 g (1,6 mmol) du

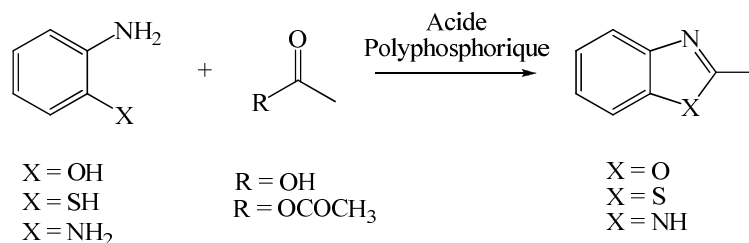
dérivé iodure et 0,24 g (1,7 mmol) d'acétate de sodium. Le mélange réactionnel est porté à reflux (température du bain : 110°C) pendant 4 heures, sous agitation. Après retour à température ambiante, l'anhydride acétique est extrait par micro-distillation pour donner 1,34 g d'huile de couleur bleu. Le rendement obtenu est supérieur au rendement maximum théorique. Ceci est dû au solvant qui est difficile à éliminer sans que le produit se dégrade ($T_{\max}=110^{\circ}\text{C}$).

2.1.5.4. Analyses du composé

L'analyse RMN est complexe, il est donc difficile de déterminer parfaitement chacun des pics. Néanmoins, nous remarquons que le signal vers 3,0 ppm (s, 3H, H₆) du groupement alkyle de l'étape précédente n'est plus présent sur la RMN de ce composé. Cette caractéristique nous permet d'affirmer que la réaction a bien eu lieu car lors de celle-ci il se forme un chaîne alyphatique à la place du groupement alkyle. Donc pas conséquence la pic du groupement alkyle doit disparaître.

2.1.6. Préparation des précurseurs de la famille des benzazoles.

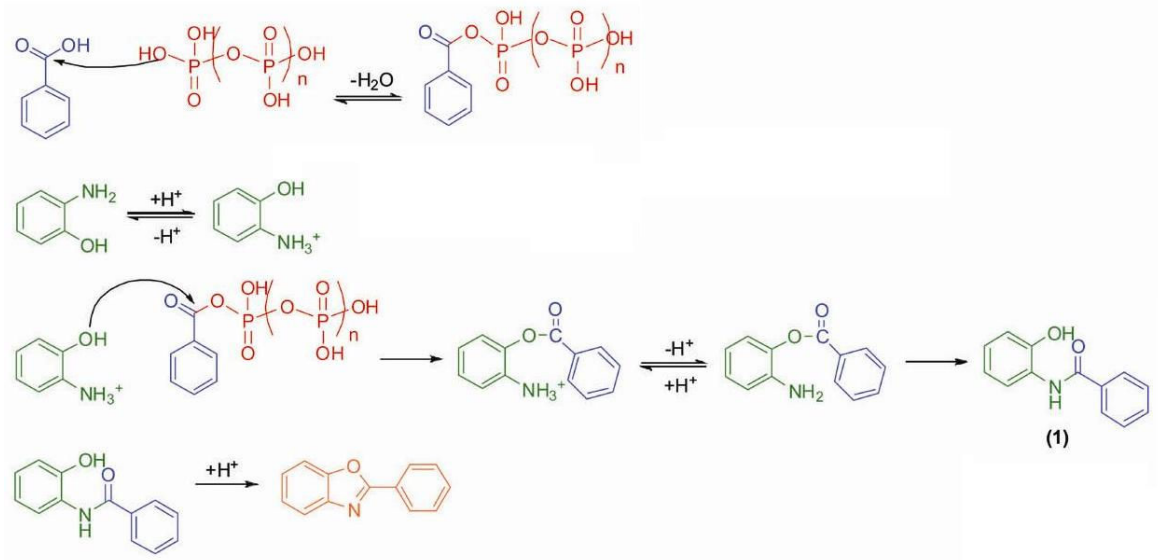
2.1.6.1. Equation bilan



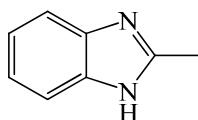
2.1.6.2. Mécanisme

L'acide polyphosphorique étant visqueux, les études menées dans le milieu pour déterminer le mécanisme de la réaction sont très difficiles. Néanmoins, un mécanisme avec X=OH est proposé dans la littérature.*

* Hein, D.W., Alheim, R.J., Leavitt, J.J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79(2), 427-429.



2.1.6.3. Mode opératoire pour la manipulation 11



A une solution de 1,03g (9,6 mmol) d'O-phenylenediamine préalablement dissout dans 10 mL de polyphosphorique acide est ajouté 0,55 mL (9,8 mmol) d'acide acétique glacial. Le mélange réactionnel est porté à reflux (température du bain : 195°C) pendant 5 heures, sous agitation. Après retour à température ambiante, l'huile obtenue est transvasée dans un bécher contenant de la glace. A l'aide de la soude, le pH de la solution est amené vers 12. La phase aqueuse est alors extraite 3 fois par 15 mL de chloroforme. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ puis concentrées à sec sous pression réduite pour donner 1,01 g d'un solide de couleur jaune. Le rendement est de 80%.

Le même mode opératoire est effectué avec X=OH, mais le produit désiré n'a pas été obtenu. Il a donc été décidé de relancer la manipulation en remplaçant l'acide acétique glacial par de l'anhydride acétique, mais, encore une fois, le produit désiré n'a pas été obtenu.

2.1.6.4. Analyses du composé

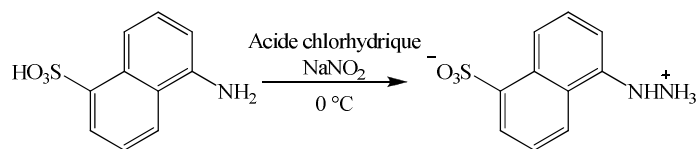
RMN ¹H: (300 MHz, DMSO): δppm 7,1 - 7,5 (m, 4H, Ph); 5,8 (s, 1H, NH); 2,6 (s, 3H, CH₃).

IR: (Nujol, cm⁻¹): 3057 (ν_{arom} C-H); 2989 (ν_{alif} CH₃); 1662 (ν C=N); 1592 (ν C=C).

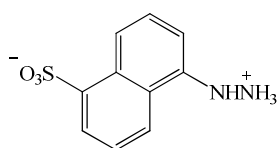
2.2. Mode opératoire et caractérisation pour la préparation des précurseurs qui émettent dans l'infrarouge.

2.2.1. Préparation de sel de diazonium de l'acide 1-naphthylamine-5-sulfonique

2.2.1.1. Equation bilan



2.2.1.2. Mode opératoire pour la manipulation 8

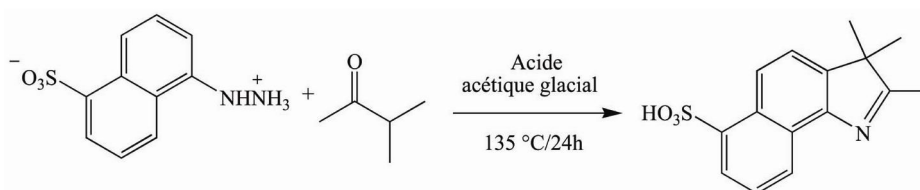


Une solution de 1,00 g (4,5 mmol) d'acide 1-naphthylamine-5-sulfonique préalablement dissout dans 20 mL d'acide hydrochlorique est refroidit et maintenu à 0°C. Une solution de 0,25 g (3,6 mmol) de nitrite de sodium diluée dans 15 mL d'eau distillée est alors ajoutée goutte à goutte à la solution refroidit. Le mélange est agité à 0°C pendant 1 heure puis remonté à température ambiante pendant 30 minutes. Le produit est alors filtré sur entonnoir de Hirsch pour donner 0,46 g d'un solide de couleur beige. Le rendement est de 44 %.

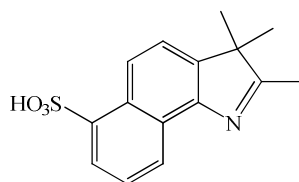
Remarque : Aucunes caractérisations n'ont été réalisées pour cette molécule. L'étape suivante a été directement lancée.

2.2.2. Préparation de la 1,1,2-triméthyl-1H-benzo[e]indol-6-sulfonate de potassium

2.2.2.1. Equation bilan



2.2.2.2. Mode opératoire pour la manipulation 9



A une solution de 0,46 g (1,9 mmol) d'hydrazine préalablement dissout dans 2,8 mL d'acide acétique glacial est ajouté 0,62 mL (5,8 mmol) de méthylisopropyl cétone et 0,58 g (5,88 mmol) d'acétate de potassium. Le mélange réactionnel est porté à reflux (température du bain : 135°C), pendant 24 heures, sous agitation. Après retour à température ambiante, l'acide acétique glacial est évaporé par micro-distillation. Le produit obtenu contient une suspension blanche en solution. Cette suspension est transvasée dans un flacon puis la solution restante est filtrée sur coton. D'après la RMN, le produit désiré à la fin de la réaction n'est pas obtenu.

Référence

1. Webster O.W. *Science* **1991**, *251*, 887.
2. Patten, T.E., Matyjaszewski, K. *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 901.
3. Patten, T.E., Xia, J.H., Abernathy, T., Matyjaszewski, K. *Science* **1996**, *272*, 866.
4. Matyjaszewski, K., Xia, J.H. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2921.
5. Chen, M., Ghiggino, K.P., Rizzardo, E., Thang, S.H., Wilson, G.J. *Chem. Comm.* **2008**, *9*, 1112.
6. Wu Z.Q., Meng L.Z. *Prog. Chem.* **2007**, *19*, 1381.
7. Rodembusch F.S., Campo L.F., Leusin, F.P., Stefani, V. *J. Lumin.* **2007**, *126*, 728.
8. Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H. *Aust. J. Chem.* **2006**, *59*, 669.
9. Benaglia, M., Chiefari, J., Chong, Y.K., Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6914.
10. Moad, G., Chong, Y.K., Postma, A., Rizzardo, E., Thang, S.H. *Polymer* **2005**, *46*, 8458.
11. Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S.H. *Polymer* **2008**, *49*, 1079.
12. Petzhold, C.L., Giacomelli, F.C., Riegel, I.C., Silveira, N.P. *Macromolecules*, **2008**, *41*, 2677.
13. Sordi, M.L.T., Ceschi, M.A., Petzhold, C.L., Muller, A. *Macromolecular Rapid Comm.* **2007**, *28*, 63.
14. <http://www.luminexcorp.com/> (accès le 23 juin 2010)
15. Üniü, M.; Morgan, M. E.; Minden, J. S. *Electrophoresis* **1997**, *18*, 2071.
16. Kvach, Ma. V.; Ustinov, A. V. Et Al. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2107.
17. Jiang, L.L., Dou, L.F., Li, B.L. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 5825.
18. Lopalco, M., Koini, E.N., Cho, J.K., Bradley, M. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 856.
19. Pertusati, F., Menger, F.M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2939.
20. Mujumdar R.B., Ernst, L.A., Mujumdar, S.R., Lewis, C.J., Waggoner, A.S. *Bioconjugate Chem.* **1993**, *4*, 105.
21. Boto, R.E.F., El-Shishtawy, R.M., Santos, P.F., Reis, L.V., Almeida, P. *Dyes Pigm.* **2007**, *73*, 195.
22. Boto, R.E.F., Santos, P.F., Reis, L.V., Almeida, P. *Dyes Pigm.* **2007**, *75*, 298.
23. Parton, R.L., Lenhard, J.R. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 49.
24. Kulinich, A.V., Derevyanko, N.A., Ishchenko, A.A. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2007**, *188*, 207
25. Berlier, J.E., Rothe, A., Buller, G., Bradford, J., Gray, D.R., Filanoski, B.J., Telford, W.G., Yue, S., Liu, J.X., Cheung, C.Y., Chang, W., Hirsch, J.D., Beechem, J.M., Haugland, R.P., Haugland, R.P. *J. Histochem. Cytochem.* **2003**, *51*(12), 1699.

26. Jung, M.E., Kim, W.J. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 92.
27. Brun, M.A., Tan, K.T., Nakata, E., Hinner, M.J., Johnsson, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5873.