



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE

Faculté des Sciences et Techniques

Béni-Mellal



N° d'ordre : 21/10

## RÉSUMÉ

Mon travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe Electrochimie, Réactivité, Dynamique et Structuration de Surfaces (ERDySS) du Laboratoire MOLTECH-Anjou de Université d'Angers. La problématique abordée pendant ma thèse trouve ses racines dans le domaine médical : permettre in fine le dosage du fer chez des patients à l'aide de sondes électrochimiques peu onéreuses du Fe(III) et permettant de diagnostiquer de manière simple et économique d'éventuelles carences en fer. Actuellement ce dosage est réalisé à l'aide de techniques colorimétriques difficiles à mettre en œuvre et peu fiables. Il a donc été envisagé d'utiliser une autre méthode de mesure basée sur la reconnaissance électrochimique des cations Fe(III) par des capteurs chimiques constitués de complexes Fe(III)-sidérophore incorporant une sonde redox auto-assemblés sur surface d'or. L'idée générale serait de mesurer le signal électrique délivré par une électrode recouverte d'un assemblage supramoléculaire constitué d'une chaîne moléculaire (« transducteur ») sur laquelle serait greffé un chélateur du Fe(III). La détection, principal verrou technologique de ce projet, repose sur la modification du potentiel redox de la sonde lorsque son environnement électronique est modifié par la proximité du Fer(III) complexé par le sidérophore. Le signal délivré par l'électrode dépendrait alors fortement la quantité de Fe(III) complexé, elle-même dépendant de la concentration de cet élément présente dans la solution à doser (le sang du patient ou tout autre fluide corporel).

L'objectif de ce travail de thèse composé en deux parties. La première a été consacrée à la synthèse et la conception de différentes molécules présentant les ligands (analogues du ferrichrome et desferrioxamine B) fonctionnalisées par une sonde redox (ferrocène, bithiophène, TEMPO) possédant une fonction thiol et permettant ainsi leur immobilisation sur surface d'or. La deuxième partie consistait à développer une méthodologie d'étude pour mettre à profit les propriétés électrochimiques spécifiques des sidérophores fonctionnalisés par une sonde redox. Le but à long terme est de développer des applications dans le domaine de la reconnaissance moléculaire (transduction électrochimique).

Le travail de synthèse a été mené avec un grand succès et les molécules cibles ont été préparées et caractérisées par différentes techniques d'analyses. Ce travail a permis de développer plusieurs voies efficaces de synthèse. La complexation du Fe(III) par les divers ligands synthétisés a été évaluée par des méthodes spectroscopiques et électrochimiques. Les signaux (spectrométriques ou électrochimiques) enregistrés sont fortement modifiés par l'ajout de fer dans les solutions contenant les ligands synthétisés. L'ensemble des outils synthétiques mis au point au cours de ce travail constitue une base solide pour la réalisation future d'un capteur de Fe(III) en utilisant les monocouches auto-assemblées sur or.

ELOUARZAKI KAMAL

Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques  
UFR Science

### THÈSE

Présentée par

**Kamal ELOUARZAKI**

Pour l'obtention du grade de

**DOCTEUR***Spécialité : Chimie*

### Développement de dispositifs moléculaires fonctionnalisés par un sidérophore pour la reconnaissance moléculaire spécifique en diagnostic clinique

Soutenue le Mercredi 30 Juin 2010 à 10h devant la commission d'examen:

Pr. EL MOKHTAR ESSASSI	Professeur, Université Mohammed V de Rabat, Maroc	Président/ Rapporteur
Pr. ABDELILAH CHTAINI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Rapporteur
Pr. SAUVAGE FRANÇOIS-XAVIER	Chargé de Recherche CNRS, Université de Lille, France	Rapporteur
Pr. CHARLES COUGNON	Chargé de Recherche CNRS, Université du Maine, France	Examineur
Pr. ABDELKRIM EL GHAYOURY	Maître de conférences, Université d'Angers, France	Examineur
Pr. ABDERAFIA HAFID	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.P. Béni-Mellal, Maroc	Examineur
Pr. ERIC LEVILLAIN	Directeur de Recherche CNRS, Université d'Angers, France	Examineur/ Directeur de Thèse
Pr. MOSTAFA KHOUILI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Directeur de Thèse



*À mon papa,*

*Sans qui je ne serais pas là et qui m'a poussé dans  
cette voie, mon papa, je l'espère, fier de moi...*

*À ma maman,*

*qui est toujours là pour moi...*

*À mes frères,*

*Youness, Charaf ainsi qu'à ma petite sœur Houda...*



## REMERCIEMENTS

*Ce manuscrit présente les travaux de recherche effectués à Institut des Sciences et Technologies Moléculaires d'Angers (MOLTECH ANJOU) à l'Université d'Angers, sous la direction du Directeur de recherche Eric LEVILLAIN et Professeur Mostafa KHOULI*

*Ces travaux s'inscrivent dans le cadre de l'accord signé entre l'Université d'Angers et l'Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. de Beni-Mellal.*

*Je tiens tout d'abord à remercier le Dr. Patrick BATAIL pour m'avoir accueilli au sein de l'Institut des Sciences et Technologies Moléculaires d'Angers (MOLTECH ANJOU) (ex CIMMA), et pour m'avoir ainsi permis de réaliser cette thèse.*

*Je remercie très chaleureusement le Dr. Eric LEVILLAIN pour m'avoir confié ce sujet de thèse, pour m'avoir encadré durant ces années avec beaucoup de patience, de disponibilité et de professionnalisme, et pour m'avoir transmis sa passion pour les domaines de l'électrochimie, spectroscopie,.... Ce fut très sincèrement un réel plaisir de travailler à ses côtés pendant ces années.*

*Je tiens également à remercier le Pr. Mostafa KHOULI pour sa disponibilité, la confiance qu'il m'a accordée et ses conseils forts utiles.*

*Je veux exprimer ma gratitude au Professeur Abdelilah CHTAINI, Professeur El-Mokhtar ESSASSI et Docteur François-Xavier SAUVAGE pour avoir accepté de participer au jury de thèse en tant que rapporteurs, ainsi qu'au Docteur Charles COUGNON, Docteur Abdelkrim EL-GHAYOURY et Professeur Abderrafia HAFID pour avoir bien voulu juger ce travail et pour l'intérêt qu'ils y ont porté.*

*J'exprime également mes profonds remerciements à Dr. Marylène Dias, qui m'a énormément appris en chimie organique et bio-organique. Je la remercie pour m'avoir communiqué sa grande rigueur, et pour son encadrement, et pour les discussions intéressantes que l'on a eu quand j'étais confronté à des difficultés de synthèse.*

*Mes plus sincères remerciements vont encore une fois au Dr. EL-GHAYOURY Abdelkrim qui a fortement enrichi ma formation par ses conseils et ses commentaires forts utiles.*

*Je ne veux pas non plus oublier de remercier le professeur Hafid ABDERRAFIA et Dr. Hajiba OUCHETTO pour tous les conseils qu'ils ont pu me prodiguer tout au long de ces années de thèse.*

*Je tiens également à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé durant cette thèse : ALEVEQUE Olivier pour la réalisation des électrodes d'or, Le Dr. Tony BRETON pour l'initiation qu'ils m'ont prodigué en EQCM, le Dr. Jacques DELAUNAY pour l'ensemble des analyses spectroscopiques, le Dr. Lionel SANGUINET pour ses conseils en synthèse, Valérie BONNIN et Nadège BLON pour leur précieuse aide en travaux pratiques, et Philippe Leriche pour l'enseignement très varié que j'ai pu effectuer.*

*Merci aussi à tous mes collègues de travail. Je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien: TSAGUE KENFACK Ghislain, Fawzia SELADJI, ALEVEQUE Olivier, BELHADJ Esmah, CANEVET David, Anne-Lise BARRÈS, François RIJBE, DANILA Ion, LEBLANC Nicolas, LELIEGE Antoine, LEMOUCHI Cyprien, MALLEET Charlotte, POUCHAIN Laurent, RIPAUD Emilie, ROUSSEAU Theodulf, YASSIN Ali, Jean-Yves BLANDIER, Céline BERGERET, Quentin BRICAUD, SERO Luc, Dr. Christelle GAUTIER, Nicolas LOUVAIN, Khoa TRAN, Marie HARDOUIN, avec lesquels j'ai passé d'excellents moments.*

*Je tiens à remercier tout mes amis (angevins) pour leur soutien moral : EL JOUAD Mohamed, EL OUAZZANI Hasnaa, SAIDDINE Mohamed, Abdelilah Taouri, AMRANI Foued, SALHI Mohamed, SOUAF Mohamed, TAOUIL youness, Mohamed ELmakki, Lahcen, Abderhamane, Audrey RAIMBAULT, Mehdi ALAMI, Je voudrais également associer à mes parents, notamment pour leur soutien financier de mes premières années d'étude à la fin de mon Doctorat.*

*Et pour finir, merci à toutes les personnes que j'ai oubliées de citer et qui m'ont permis de mener à bien cette thèse...*

# Sommaire

# Introduction

## Chapitre I : Rappel bibliographique

I. Introduction :	9
II. Activités rédox du fer :	10
III. Les chélateurs du fer :	10
III.1. Principaux critères pour une chélation du Fe <sup>3+</sup> optimale :	11
III.1.1. Sélectivité et affinité vis-à-vis du Fe <sup>3+</sup> :	11
III.1.2. Stabilité du complexe Fe <sup>3+</sup> -chélateur formé :	13
III.1.3. Lipophilie et poids moléculaire :	16
III.1.4. Toxicité :	16
IV. Les principaux chélateurs du fer :	17
IV.1. La nature des sidérophores :	17
IV.2. Les familles des sidérophores :	17
IV.2.1. Les chélateurs hexadentés :	17
IV.2.1.1. Catéchols :	18
IV.2.1.2. Hydroxamates :	20
IV.2.1.3. Hydroxypyridinones :	24
IV.2.2. Les chélateurs tridentés :	25
IV.2.2.1. Désferriothiocine :	25
IV.2.2.2. Triazoles :	26
IV.2.3. Les chélateurs bidentés :	27
IV.2.3.1. Dialkylhydroxypyridinone.....	27
V. Les monocouches autoassemblées incorporant un sidérophore :	28
V.1. Les Biosenseurs :	28
V.1.1. Éléments de reconnaissance.....	29
V.1.2. Élément transducteur :	30
V.2. Les sidérophores :	30
V.2.1. Les outils de diagnostic :	30
V.2.2. Récepteurs moléculaires rédox :	32
V.2.2.1. Principe général de la reconnaissance moléculaire ou ionique.....	32
V.2.2.2. Principe de la reconnaissance électrochimique :	34
V.2.2.3. Etude thermodynamique du phénomène de reconnaissance électrochimique :	36
V.2.2.4. Les sondes rédox :	37



V.3. Etat de la littérature :.....	39
V.3.1. Capteur à base de polymère :.....	39
V.3.2. Capteur à base de monocouche autoassemblée sur or : .....	41

## **Chapitre II : Problématique et enjeux du travail**

I. Problématique et enjeux du travail : .....	46
I.1. Introduction : .....	46
I.2. Méthodologie et objectifs : .....	46
I.2.1. Capteur électrochimique de Fe(III) : .....	46
I.2.2. Interaction protéine/ligand : .....	47
I.3. Choix des molécules cibles : .....	48
I.3.1. Choix de la fonction d'accroche : .....	48
I.3.2. Choix des sondes rédox : .....	50
I.3.3. Choix des espaceurs : .....	52
I.3.4. Choix des groupes fonctionnels : .....	52
I.4. Conclusion : .....	54

## **Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome**

I. Synthèse des précurseurs immobilisables et complexants du fer(III)...	59
I.1. Introduction : .....	59
I.2. Synthèse des analogues de la desferrioxamine B :	59
I.2.1. Synthèse des analogues de la DFOB sans sonde rédox: .....	62
I.2.1.1. Synthèse de thioacétylalcanoate de N-succinimidyle : .....	62
I.2.1.2. Couplage avec la DFOB : .....	63
I.2.2. Synthèse des analogues de la DFOB comportant une sonde rédox: .....	63
I.2.2.1. Synthèse d'un analogue de la DFOB incorporant un motif bithiophénique : ..	63
a. Introduction : .....	63
c. Synthèse du 5,5'-bis(3-cyanoéthylsulfanyl)-2,2'-bithiophène .....	67
d. Déprotection du groupement cyanoéthyle .....	67
e. Introduction d'une chaîne alkyle .....	68
f. Déprotection des esters .....	69

g. Formation de l'ester activé : .....	70
h. Couplage avec la DFOB : .....	71
I.2.2.2. Synthèse des analogues de la DFOB comportant un motif ferrocène : .....	71
a. Préparation de l'ester activé : .....	71
b. Couplage avec la DFOB : .....	72
I.2.2.3. Synthèse des analogues de la DFOB comportant le motif TEMPO .....	72
a. Préparation de l'acide carboxylique <b>10</b> : .....	74
b. Couplage avec le 4-amino-TEMPO : .....	75
I.3. Synthèse des analogues du ferrichrome : .....	75
I.3.1. Introduction .....	75
I.3.2. Première approche : via un précurseur amino-triamide: .....	82
I.3.2.1. Schéma rétrosynthétique : .....	82
I.3.2.2. Synthèse du triester-butylique : .....	83
I.3.2.3. Protection de la fonction amine : .....	84
I.3.2.4. Déprotection des fonctions ster tert-butyliques : .....	84
I.3.2.5. Activation des fonctions acides carboxyliques : .....	85
I.3.2.6. Synthèse de l'acide hydroxamique : .....	86
I.3.2.7. Synthèse du triamide : .....	87
I.3.2.8. Déprotection de la fonction amine par hydrogénolyse : .....	88
I.3.2.9. Couplage du <b>L1</b> avec les esters activés : .....	88
I.3.3. Deuxième approche : via un couplage peptidique entre l' amino-triester butylique et les esters activés <b>2</b> et <b>8</b> : .....	90
I.3.3.1. Introduction : .....	90
I.3.3.2. Introduction du dérivé alcanethioesters <b>2</b> : .....	91
I.3.3.2.1. Schéma retrosynthétique : .....	91
I.3.3.2.2. Couplage peptidique : introduction du dérivé <b>2</b> : .....	92
I.3.3.2.3. Déprotection des fonctions triester-butyliques : .....	93
I.3.3.2.4. Activation du triacide : .....	93
I.3.3.2.5. Synthèse du triamide : .....	94
I.3.3.3. Introduction du dérivé bithiophénique <b>8</b> : .....	94

## Chapitre IV : Évaluation des propriétés de complexation

I. Introduction : .....	99
-------------------------	----

II. Choix du solvant : .....	99
III. Dispositifs et conditions expérimentales : .....	100
III.1. Mesures par spectroscopie UV-visible .....	100
III.2. Mesures par les méthodes électrochimiques .....	102
IV. Complexation du Fe(III) par les dérivés de la DFOB : .....	106
IV.1. Complexation du Fe(III) par des ligands non électroactifs : .....	107
IV.1.1. Complexation du Fe(III) par la DFOB : .....	108
IV.1.1.1. Étude par spectroscopie UV-visible .....	108
IV.1.1.2. Étude par voltampérométrie cyclique : .....	109
IV.1.2. Complexation du Fe(III) par le ligand L3 : .....	109
IV.1.2.1. Étude par spectroscopie UV-visible : .....	109
IV.1.2.2. Étude par voltampérométrie cyclique : .....	110
IV.2. Complexation du Fe(III) par des ligands incorporant une sonde électroactive : .....	111
IV.2.1. Analyses préliminaires .....	111
IV.2.2. Complexation du Fe(III) par l'analogue du DFOB incorporant un motif ferrocène L2 : .....	113
IV.2.2.1. Étude par spectroscopie UV-visible : .....	113
IV.2.2.2. Étude par voltampérométrie cyclique : .....	116
IV.2.3. Complexation du Fe(III) par l'analogue du DFOB incorporant un motif bithiophène L4' : .....	119
IV.2.3.1. Étude par spectroscopie UV-visible .....	119
IV.2.3.2. Étude par voltampérométrie cyclique : .....	122
V. Évaluation des propriétés de complexations des analogues du ferrichrome	123
V.1. Complexation du Fe(III) par L1 : .....	123
V.1.1. Étude par spectroscopie UV-visible .....	123
V.2. Complexation du Fe(III) par le composé 18 : .....	124
V.2.1. Étude par spectroscopie UV-visible .....	124
V.2.2. Étude par voltampérométrie cyclique : .....	125

## **Chapitre V : Électrode modifiée par autoassemblage sur monocouche**

I. Électrode modifiée par auto-assemblage sur monocouche	
I.1. Introduction :	129
I.2. Les monocouches organiques auto-assemblées sur surface d'or :	129
I.2.1. Substrats :	129
I.2.2. Définition et méthodes d'élaboration d'une SAM :	130
I.2.2.1. Définition :	130
I.2.2.2. Méthodes de formation des SAMs :	132
I.2.2.2.1. Méthode directe :	132
I.2.2.2.2. Méthode indirecte :	133
I.3. Les techniques d'étude appliquées aux monocouches :	135
I.3.1. Microbalance à quartz :	135
I.3.2. Mesures par les méthodes électrochimiques : voltampérométrie cyclique	137
I.4. Réalisation des supports en or :	139
I.4.1. Principe :	139
I.4.2. Étude morphologique des substrats :	141
I.5. Élaboration de monocouches auto-assemblées sur surface d'or :	142
I.5.1. Modification d'une électrode par post-fonctionnalisation :	142
I.5.1.1. Expérience préliminaire :	142
I.5.1.1.1. Synthèse :	142
I.5.1.1.2. Étude en solution par voltampérométrie cyclique :	143
I.5.1.1.3. Élaboration des monocouches :	144
I.5.1.1.4. Caractérisation des matériaux :	145
I.5.1.1.4.1. Première étape : formation des SAMs d'UMA	145
I.5.1.1.4.2. Deuxième étape : activation des SAMs d'UMA	146
I.5.1.1.4.3. Troisième étape : étude des monocouches obtenues à partir du dérivé du naphthalimide	149

## **Conclusion générale et perspectives**

### **Partie expérimentale**

# **Introduction générale :**

# Introduction générale

La reconnaissance moléculaire est un des principes de base à l'origine de toutes les formes de vie. Les processus de reconnaissance s'établissent grâce à deux acteurs principaux, un récepteur et un ligand, *via* des interactions spécifiques plus ou moins fortes simultanées et sélectives. Les récepteurs et les ligands impliqués dans les interactions sont de natures diverses. Les dysfonctionnements des voies de communications engendrent, le plus souvent, des anomalies.

Le développement de la nanotechnologie a ouvert des nouvelles frontières pour étudier et comprendre les interactions biomoléculaires. Celles-ci représentent un enjeu thérapeutique important. Les applications envisageables sont nombreuses particulièrement dans le domaine diagnostic, de la mise au point de nouvelles thérapies ou de nouveaux matériaux biocompatibles.

La détection de la reconnaissance moléculaire peut être contrôlée grâce à un récepteur bifonctionnel constitué par l'association d'un site de complexation, pouvant interagir sélectivement avec un substrat cible, et une unité signalétique dont une propriété caractéristique sera perturbée par la complexation. Le phénomène de reconnaissance est ainsi lié à une modification mesurable d'une des propriétés physico-chimiques du récepteur. Si l'ampleur de la modification est corrélée à la concentration en espèce cible, il est aussi possible d'en réaliser le dosage. Dans cette optique, l'électrochimie représente un outil de choix permettant d'analyser, d'orienter ou de contrôler les phénomènes de reconnaissance moléculaire. Il est en particulier possible de détecter et de quantifier les interactions entre un récepteur et un substrat *via* la modification de l'activité électrochimique d'un centre rédox-actif associé au récepteur.

Notre équipe développe une thématique de recherche basée sur la conception et la synthèse de nouveaux motifs de reconnaissance moléculaire afin de mettre au point de nouvelles technologies dans le domaine biologique. Nous avons ainsi développé une expertise forte en synthèse biomoléculaire et hétérocyclique. Les propriétés de ces systèmes sont caractérisées par diverses méthodes physico-chimiques tandis que des collaborations avec des biochimistes permettent d'apporter la preuve du concept. Cette approche pluridisciplinaire a pour objectif de rationaliser et d'optimiser de manière interactive, la conception et le design de systèmes biomoléculaires en vue d'applications thérapeutiques.

Le laboratoire s'intéresse depuis plusieurs années aux sidérophores et particulièrement à la synthèse d'analogues de sidérophores pour l'élaboration d'outils biochimiques destinés à la

caractérisation des protéines impliquées dans le transport du fer chez différents microorganismes (sondes fluorescentes, sonde photoactivables, sondes biotinylées...). Depuis peu, le travail s'est orienté vers l'élaboration d'électrodes modifiées (polymères et monocouches auto-assemblées sur surface d'or) par un sidérophore dans le but de développer des dispositifs moléculaires pour la reconnaissance de protéines affines ou pour le dosage du fer(III). Ces sidérophores naturels et biomimétiques se lient de manière spécifique à la matrice. Dans ce cas, les principaux atouts d'un système électrochimique résident dans le fait qu'il peut être transportable, facile à mettre en œuvre, automatisable, rapide, peut être miniaturé et les systèmes finis sont d'un faible coût.

Dans ce contexte, cette thèse a pour objectif la synthèse et l'étude physico-chimique des complexes de fer(III)-sidérophore. Dans cette étude, les ligands sont associés à différentes unités électroactives afin de les fixer à la surface de transducteurs physiques.

Notre travail de recherche s'est donc développé selon trois étapes :

- Le développement d'une ingénierie moléculaire pour synthétiser de nouveaux sidérophores immobilisables ayant des exigences stériques particulières.
- L'analyse du comportement et/ou de la structure de ces complexes en solution, à partir des mesures de l'UV-visible et la voltampérométrie cyclique.
- L'élaboration et caractérisation les matériaux d'électrode par des techniques électrochimiques et piézoélectriques.

Ainsi, après une partie introductive consacrée à un bilan sur l'état de la littérature sur les sidérophores (définition, classification, différentes architectures, applications...). La deuxième partie portera sur la présentation et la synthèse de deux séries de sidérophores (les ferrioxamines et les ferrichromes) substitués ou non par différentes sondes électroactives. La troisième partie consiste à évaluer les propriétés de complexation en étudiant le comportement optique et électrochimique en solution au cours de la complexation du fer(III) par voltampérométrie et par mesures d'UV-visible. Enfin, la quatrième partie présentera les premiers résultats d'élaboration des monocouches auto-assemblées sur surface d'or.

# **Chapitre I :**

# **Rappel bibliographique**



## ***Table des matières***

I. Introduction :	6
II. Activités rédox du fer :	7
III. Les chélateurs du fer :	7
III.1. Principaux critères pour une chélation du Fe <sup>3+</sup> optimale :	8
III.1.1. Sélectivité et affinité vis-à-vis du Fe <sup>3+</sup> :	8
III.1.2. Stabilité du complexe Fe <sup>3+</sup> -chélateur formé :	10
III.1.3. Lipophilie et poids moléculaire :	12
III.1.4. Toxicité :	13
IV. Les principaux chélateurs du fer :	13
IV.1. La nature des sidérophores :	13
IV.2. Les familles des sidérophores :	14
IV.2.1. Les chélateurs hexadentés :	14
IV.2.1.1. Catéchols :	14
IV.2.1.2. Hydroxamates :	17
IV.2.1.3. Hydroxypyridinones :	20
IV.2.2. Les chélateurs tridentés :	22
IV.2.2.1. Désferriothiocine :	22
IV.2.2.2. Triazoles :	22
IV.2.3. Les chélateurs bidentés :	24
IV.2.3.1. Dialkylhydroxypyridinone :	24
V. Les monocouches autoassemblées incorporant un sidérophore :	25
V.1. Les Biosenseurs :	25
V.1.1. Éléments de reconnaissance :	25
V.1.2. Élément transducteur :	26
V.2. Les sidérophores :	27
V.2.1. Les outils de diagnostic :	27
V.2.2. Récepteurs moléculaires rédox :	28
V.2.2.1. Principe général de la reconnaissance moléculaire ou ionique :	29
V.2.2.2. Principe de la reconnaissance électrochimique :	31
V.2.2.3. Etude thermodynamique du phénomène de reconnaissance électrochimique :	32
V.2.2.4. Les sondes rédox :	33
V.3. Etat de la littérature :	35
V.3.1. Capteur à base de polymère :	35
V.3.2. Capteur à base de monocouche autoassemblée sur or :	37

### I.Introduction :

Le fer (5%) est l'élément chimique le plus abondant, après le silicium (28%), dans l'écorce terrestre. Le fer est un élément crucial à la vie. Il est généralement complexé à des protéines telles que la transferrine<sup>1,2</sup>, la lactoferrine, et la ferritine<sup>3,4</sup> par une liaison directe avec les acides aminés, ou bien indirecte par l'intermédiaire de l'hème, dans les hémoprotéines (hémoglobine, myoglobine etc). Ces propriétés font du fer un cofacteur majeur pour plusieurs enzymes impliquées dans des processus cellulaires indispensables pour la vie tels que la respiration, la réplication de l'ADN<sup>5,6</sup>, la synthèse d'acides aminés, le transport d'électrons et la photosynthèse. Cependant malgré son abondance, ce métal reste paradoxalement peu accessible aux organismes vivants à cause de la très faible solubilité dans l'eau des ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) sous la forme desquels il se présente presque exclusivement.<sup>7</sup> Afin d'assurer sa capture, son transport et son stockage, les êtres vivants ont développé des systèmes protéiques capables de lier spécifiquement le fer<sup>8,9</sup>.

L'homéostasie du fer est strictement régulée chez les humains, afin d'assurer un équilibre entre leur besoin d'acquérir le fer et le maintien d'une concentration en fer non toxique pour les cellules<sup>10,11,12,13,14</sup>. Par ailleurs, un dysfonctionnement (surcharge et carence), suite à une dysrégulation de la concentration de fer, engendre de véritables anomalies dans le corps humain. L'excès de fer est capable, à plus ou moins long terme, d'altérer les structures cellulaires ce qui contribue ainsi au développement de certaines maladies<sup>15,16</sup>.

Au bilan, le paradoxe du fer est lié d'une part à son rôle vital et d'autre part à sa forte toxicité. Ainsi, son homéostasie doit être très précisément régulée par les organismes vivants.

---

<sup>1</sup> Aisen, P., In *Metal Ions in Biological Systems*; Sigel, A., Sigel, H., Eds., Marcel Dekker: New York, **1998**, 35, 585-632.

<sup>2</sup> Baker, E. N. ; Lindley, P. F. J., *Inorg. Biochem.*, **1992**, 47, 147-160.

<sup>3</sup> Theil, E. C. ; Aisen, P., *Iron Transport in Microbes, Plants and Animals* ; Winkelmann, G., van der Helm, D., Neilands, J. B., Eds., VCH Publishers: Weinheim, 1987; 491-520.

<sup>4</sup> Chasteen, N. D. In *Metal Ions in Biological Systems*; Sigel, A., Sigel, H., Eds., Dekker : New York, **1998**, 35, 479-514.

<sup>5</sup> Winkelmann, G. ; van der Helm, D. ; Neilands, J. B. *Iron Transport in Microbes, Plants, and Animals*; VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-6940:Weinheim, Germany, **1987**.

<sup>6</sup> Matzanke, B. F. ; Matzanke, G. ; Raymond, K. N. *Iron Carriers and Iron Proteins*; VCH Publishers: New York, 5, **1989**.

<sup>7</sup> Richardson, D.R. ; Tran, E.H. ; Ponka, P. *Blood*, **1995**, 86, 4295-4306.

<sup>8</sup>(a) Crichton, R. R. *Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism*; Ellis Horwood: Chichester, **1991**.

(b) Crichton, R. R.; Ward, R. J. *Analyst* **1995**,120, 693-697.

<sup>9</sup> Kaim, W., *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*; John Wiley and Sons: Chichester, **1994**.

<sup>10</sup> Loomis, L. D. ; Raymond, K. N., *Inorg. Chem.*, **1991**, 30, 906.

<sup>11</sup> Bluhm, M. E. ; Hay, B. P. ; Kim, S. S. ; Dertz, E. A. ; Raymond, K. N., *Inorg. Chem.*, **2002**, 41, 5475.

<sup>12</sup> Hayen, H. ; Volmer, D. A., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2005**, 19, 711.

<sup>13</sup> Hanson, M. S. ; Pelzel, S. E. ; Latimer, J. ; Hansen, E. J., *Proc Natl Acad Sci USA*, **1992**, 89, 1973-1977.

<sup>14</sup> Cescau, S. ; Cwerman, H. ; Delepeleire, P. ; Wandersman, C. ; Biville, F., *Biomaterials*, **2007**, 20, 603-613.

<sup>15</sup> Kuhn, L.C., *utr. Rev.*, **1998**, 56, 11-19.

<sup>16</sup> Richardson, D. R., *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **2002**, 42, 267-281.

## II. Activités rédox du fer :

Bien que le fer soit indispensable, son excès peut être toxique : le fer (Fe), peut adopter une des deux formes rédox : la forme réduite ferreuse ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ou la forme oxydée ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Cela lui permet d'agir tantôt comme un accepteur et tantôt comme un donneur d'électrons. Cependant, le fer peut créer des dommages irréremédiables en participant notamment à un processus d'oxydation-réduction nommée réaction de Fenton et de Haber-Weiss.<sup>17</sup> Durant ces réactions, catalysées par le fer, le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) est transformé en radical hydroxyle ( $\text{OH}^\cdot$ ) et en anion hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ) (A, Figure I.1). L'activité rédox du fer catalyse aussi la génération des espèces organiques hautement réactives, comme par exemple le radical pyroxyde ( $\text{ROO}^\cdot$ ), alkoxyde ( $\text{RO}^\cdot$ ), thiyle ( $\text{RS}^\cdot$ ) ou thiol-péroxyde ( $\text{RSOO}^\cdot$ ) (B, Figure I.1).

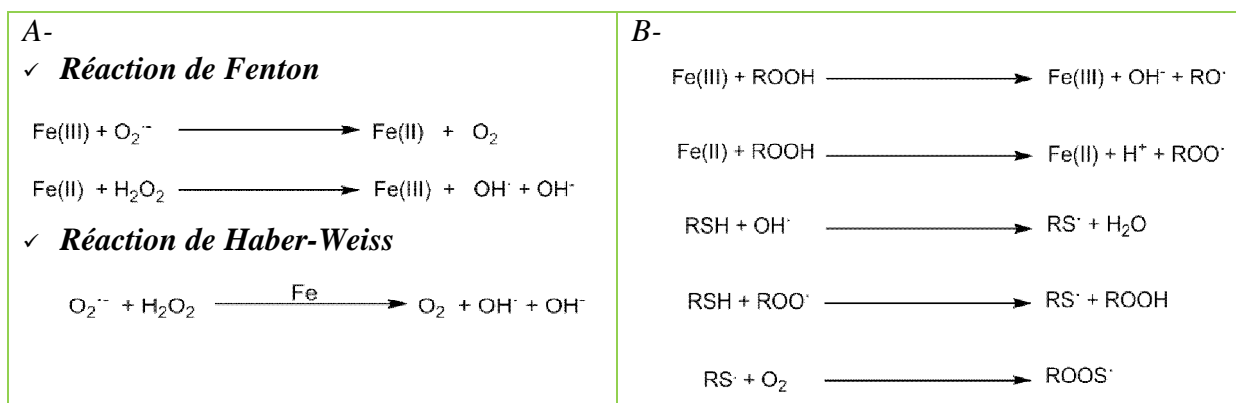


Figure I.1 : (A) Réaction de Fenton et Haber-Weiss. (B) Génération de radicaux organiques

## III. Les chélateurs du fer :

Actuellement, deux chélateurs, autres que la Déféroxamine B (Desféral<sup>®</sup>), sont commercialisés : le Défériprone (Ferriprox<sup>®</sup>) et le Déférasirox (Exjade<sup>®</sup>) (Figure I.2). Ces molécules sont, au contraire de la DFOB, administrables par voie orale.

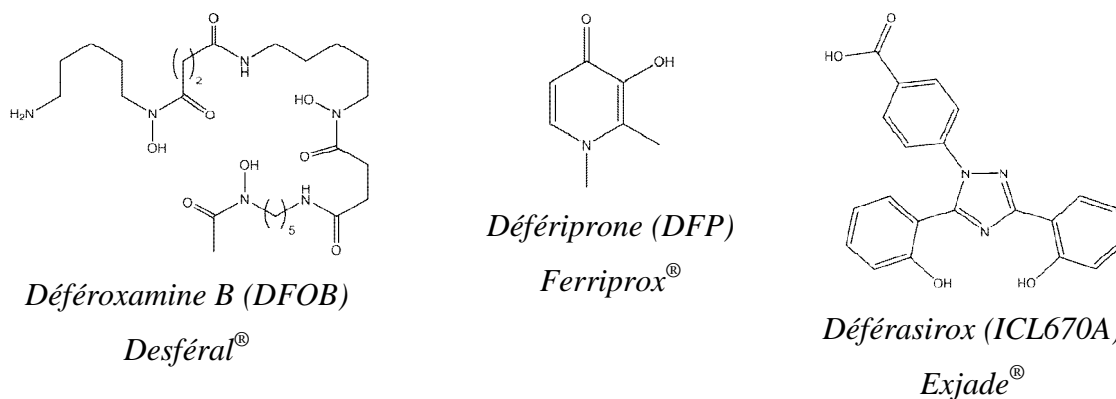


Figure I.2 : Chélateurs du fer actuellement commercialisés

<sup>17</sup> Lieu, P. T. ; Heiskala, M. ; Peterson, P. A. ; Yang, Y., *Mol. Aspects Med.*, **2001**, 22, 1-87

L'intérêt thérapeutique de disposer de nouveaux chélateurs du fer efficaces et sélectifs s'est donc accru considérablement ces dernières années. Cependant, il faut reconnaître qu'à l'heure actuelle, cet intérêt n'a pas encore eu de véritable traduction en pratique thérapeutique du, en particulier, à la toxicité des différents composés étudiés.

Un chélateur du fer idéal pour un usage biologique doit, outre une bonne affinité et une bonne sélectivité pour le  $\text{Fe}^{3+}$ , posséder un certain nombre de critères tels qu'une stabilité accrue du complexe formé et une bonne balance hydrophilie/lipophilie. Cette dernière, est importante pour avoir, d'une part, la meilleure biodisponibilité possible sans entraîner d'effets toxiques et d'autre part, une bonne élimination du complexe formé.

Dans une première partie, nous commenterons ces principaux critères et, dans une seconde partie, nous présenterons les différentes familles de chélateurs du fer étudiés à ce jour.

### III.1. Principaux critères pour une chélation du $\text{Fe}^{3+}$ optimale :

#### III.1.1. Sélectivité et affinité vis-à-vis du $\text{Fe}^{3+}$ :

La sélection d'un ligand approprié pour la complexation d'un métal peut être rationalisée par la classification des métaux et des ligands établie par Pearson<sup>18</sup> (la théorie HSAB (Hard and Soft Acids and Bases)). Dans cette classification basée sur des résultats expérimentaux, le concept de *dureté* et *mollesse* a alors été introduit et les acides et les bases de Lewis ont été classés en deux catégories : *hard* ou *soft*. Ainsi, les acides *hard* comportent généralement des atomes accepteurs de petite taille, hautement chargés et ne possédant pas de doublets non liants sur leur couche de valence. Les acides *soft* possèdent des atomes accepteurs peu chargés et de grande taille, facilement polarisables et peu électronégatifs. Les atomes donneurs des bases *hard* se caractérisent par une électronégativité forte, une faible polarisabilité et sont difficiles à oxyder. Une base avec des atomes donneurs présentant des propriétés inverses est dite *soft*. Il découle de ces définitions opérationnelles le principe suivant : les interactions acido-basiques *hard* - *hard* et *soft* - *soft* sont favorisées au détriment des interactions *hard* - *soft*<sup>19</sup>. Les acides *hard* auront alors plus d'affinité pour des atomes donneurs *hard* tels que l'oxygène et dans une moindre mesure l'azote. Inversement, les acides *soft* interagiront préférentiellement avec des bases soufrées ou phosphorées *soft*.

---

<sup>18</sup> Pearson, R.G., Hard and Soft Acids and Bases HSAB Part 1, *J. Chem. Educ.*, **1968**, 45,581-587.

<sup>19</sup> Pearson, R.G., Hard and Soft Acids and Bases, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 3533-3539.

## Chapitre I : Rappel bibliographique

	<i>hard</i>	Intermédiaires	<i>soft</i>
<b>Acides de Lewis</b>	H <sup>+</sup> , Li <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cs <sup>+</sup> , Be <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Sr <sup>2+</sup> , Sn <sup>2+</sup> , Al <sup>3+</sup> , Cr <sup>3+</sup> , Fe <sup>3+</sup> , Ti <sup>4+</sup> , Pu <sup>4+</sup> , UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> , Ln <sup>3+</sup>	Fe <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	Cu <sup>+</sup> , Ag <sup>+</sup> , Au <sup>+</sup> , Hg <sub>2</sub> <sup>2+</sup> , Pd <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Pt <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup>
<b>Bases de Lewis*</b>	H <sub>2</sub> O, OH <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , AcO <sup>-</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Cl <sup>-</sup> , ROH, RO <sup>-</sup> , R <sub>2</sub> O, NH <sub>3</sub> , RNH <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub> , C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N, N <sup>3-</sup> , Br <sup>-</sup> , SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	R <sub>2</sub> S, RSH, RS <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , SCN <sup>-</sup> , R <sub>3</sub> P, S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , CN <sup>-</sup> , CO, H <sup>-</sup> , R <sup>-</sup> , C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> , C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>

\* R = alkyle ou aryle

**Tableau I-1 : Classification des acides et bases de Lewis suivant Pearson.**

Bien que le concept de dureté ait été introduit dans un premier temps de manière uniquement qualitative sur la base de résultats expérimentaux, Pearson a par la suite tenté de définir une échelle de dureté absolue en fonction des potentiels d'ionisation et des affinités électroniques des composés étudiés<sup>20</sup>. Si l'échelle de dureté obtenue ne permet pas de couvrir l'ensemble des résultats expérimentaux, elle demeure très intéressante pour comparer deux acides de Lewis entre eux, en particulier pour les deux cations étudiés (Fe<sup>3+</sup> et Fe<sup>2+</sup>).

Ainsi, le caractère *hard* du cation Fe<sup>3+</sup> doit être souligné. Le choix des atomes complexants pour ce cation est donc particulièrement vaste. Le cation tripositif (Fe<sup>3+</sup>) possède une sphère de coordination symétrique avec une faible taille : un rayon de 0.65 Å et il est classé comme un acide de Lewis *hard* en vertu de sa haute densité de charge. Il est caractérisé également par un haut potentiel rédox ( $E^\circ[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_6]/[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6] = +0.77 \text{ V/ENH}$ ). Son potentiel d'oxydoréduction (potentiel rédox) peut varier largement, et ceci, en fonction des molécules auxquelles il est lié. Il forme des liaisons plus stables avec des ligands *hard* tels que les atomes d'oxygène chargés. Les ligands les plus appropriés sont les fonctions hydroxamate<sup>21</sup>, catécholate<sup>22</sup>, hydroxypyridinone de type pyridin-4-ones car plus affines et dans une moindre mesure, les fonctions hydroxycarboxylate<sup>23,24</sup> et aminocarboxylate, moins sélectives. En raison de sa densité de charge moins importante, le cation Fe<sup>2+</sup> est quant à lui plus *soft* que le Fe<sup>3+</sup>. La mise en œuvre de chélateurs contenant des atomes *soft* pour la complexation sélective de ce cation paraît donc appropriée comme par exemple les ligands porteurs d'atomes d'azote.

<sup>20</sup> Parr, R.G. ; Pearson, R.G., Companion Parameter to Absolute Electronegativity, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 7512-7516.

<sup>21</sup> Telford, J. R. ; Raymond, K. N., Siderophores. In *Comprehensive Supramolecular Chemistry*.

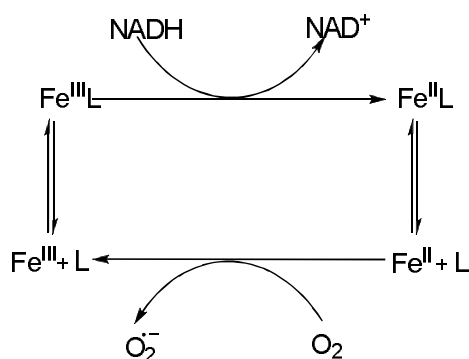
<sup>22</sup> Lehn, J. M. ; Gokel, G. W.; Eds.; Pergamon Press: London, **1996**, Vol. 1, pp 45–266.

<sup>23</sup> D'hardemare, A. M. ; Torelli, S. ; Serratrice, G. ; Pierre, J-L., *BioMetals*, **2006**, 19, 349.

<sup>24</sup> Lestie, A. D. ; Daneshfar, R. ; Volmer, D. A., *Am. Soc. Mass spectrom.*, **2007**, 18, 632.

### III.1.2. Stabilité du complexe $\text{Fe}^{3+}$ -chélateur formé :

En se basant sur le nombre de sites de coordination du  $\text{Fe}^{3+}$  qui est au nombre de six, les chélateurs du fer, naturels ou synthétiques, sont par conséquent de nature hexadentée, tridentée et bidentée pour former des complexes respectivement 1:1, 2:1 et 3:1. Ce sont les chélateurs du fer hexadentés qui confèrent au complexe formé la meilleure stabilité et donc réduit les effets toxiques radicalaires qui peuvent se produire par réaction du fer avec l'oxygène et le peroxyde d'hydrogène présents dans les cellules. En effet, la stéréochimie de ces molécules est telle que la sphère de coordination du  $\text{Fe}^{3+}$  se trouve complètement occupée par les atomes appartenant aux ligands. Dans une telle situation, le complexe formé avec le  $\text{Fe}^{3+}$  sera suffisamment stable et ainsi non susceptible de subir une réduction par les agents réducteurs intracellulaires<sup>25</sup> tels que le  $\text{NADH}^{26,27}$  et l'acide ascorbique. Cette susceptibilité du complexe  $\text{Fe}^{3+}$ -ligand à participer au cycle rédox est nommée potentiel rédox. Il représente une mesure directe quantifiable des stabilités relatives des complexes de  $\text{Fe}^{3+}$  et de  $\text{Fe}^{2+}$  pour un ligand donné. Les complexes qui présentent un potentiel rédox en dessous de -450 mV ont très peu de chance de participer au cycle rédox. Alors que les complexes qui possèdent un potentiel rédox plutôt positif pourraient être rapidement réduits et par conséquent, s'impliqueront facilement dans le cycle rédox (*Figure I.3*).



**Figure I.3 :** Cycle rédox d'un complexe de  $\text{Fe}^{3+}$

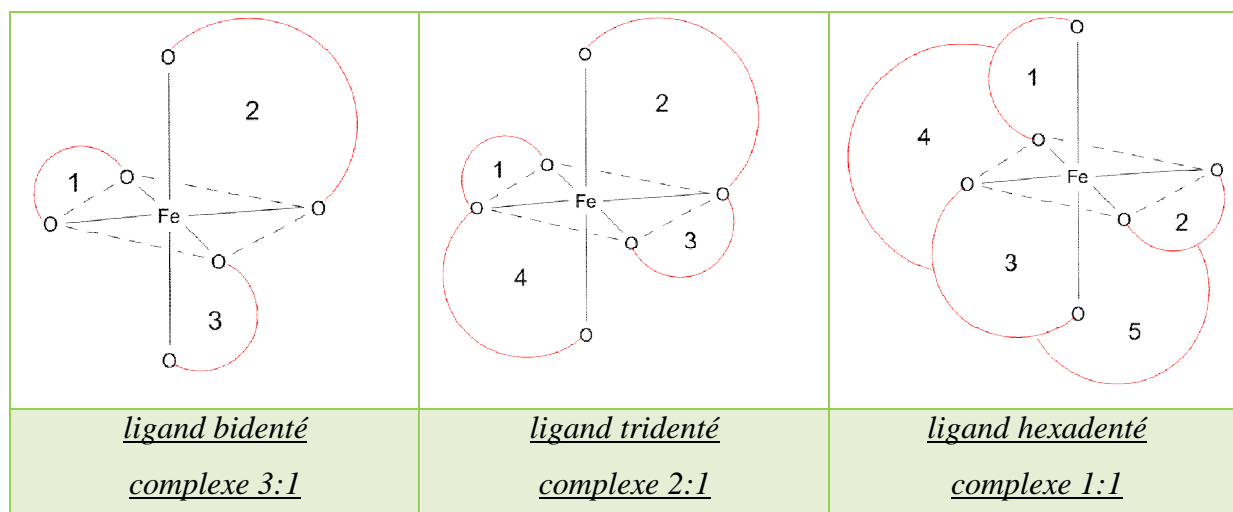
Les chélateurs hexadentés répondent également à un autre facteur de grande importance, relatif à la stabilité d'un complexe métallique, qui est le nombre et la taille des anneaux de chélation formés. Le complexe doit former un maximum d'anneaux et doit posséder cinq ou six atomes chélateurs. Il est important de signaler que le nombre des anneaux de chélation s'accroît avec l'augmentation du nombre d'atomes donneurs attachés à un composé chélateur

<sup>25</sup> Schwarzenbach G. ; Schwarzenbach K., *Helv. Chim. Acta*, 46, **1963**, 1390–1400.

<sup>26</sup> Adjimani J. P. ; Owusu E., *J. Inorg. Biochem.*, 66, **1997**, 247–252.

<sup>27</sup> Halle F. ; Meyer J. M., *Eur. J. Biochem.*, **1992**, 209, 621–627.

; par exemple, un ion métallique avec un nombre de coordination de six peut former trois anneaux avec un ligand bidenté, ou alors, cinq anneaux avec un ligand hexadenté (Figure I.4). Ainsi, pour maximiser la stabilité thermodynamique du complexe  $Fe^{3+}$ -ligand, l'incorporation des six atomes donneurs dans une même structure est nécessaire.



**Figure I.4 :** *Représentation schématique des anneaux de chélation dans les complexes métal-ligand formés*

Les chélateurs du fer bi ou tridentés forment des complexes cinétiquement plus labiles et peuvent former des complexes partiellement dissociés rendant le cation plus exposé.

Dans des conditions physiologiques, le paramètre de  $pFe^{3+}$  (spécifiquement pour le  $Fe^{3+}$ ) est généralement plus utile que le paramètre de la constante de stabilité, quand on envisage une comparaison entre les différents chélateurs. D'après la relation établie par Halliwell<sup>28</sup>, le  $pFe^{3+}$  est défini comme le logarithme négatif de la concentration de  $Fe^{3+}$  libre en solution.

$$pFe^{3+} = -\log[Fe^{3+}]$$

Les valeurs sont calculées avec :

$$[Fe^{3+}]_{totale} = 10^{-6}M \quad \text{et} \quad [ligand]_{totale} = 10^{-5}M \quad \text{à} \quad pH = 7,4.$$

La comparaison des ligands dans ces conditions est convenable car les valeurs de  $pFe^{3+}$ , au contraire de la constante de stabilité, prennent en considération les effets de protonation du ligand, denticité ainsi que les différences stœchiométriques entre ligand-métal. La

<sup>28</sup> Halliwell, B. ; Gutteridge, J.M.C., Free radicals in biology and Medicine, second ed., Clarendon Press, Oxford, **1989**.

confrontation des valeurs de  $Fe^{3+}$  des ligands bidentés (DFP :  $pFe^{3+}=19$ ) et hexadentés (DFO :  $pFe^{3+}=26$ ) révèle la supériorité, en terme de chélation du  $Fe^{3+}$ , des ligands hexadentés. On a vu précédemment, qu'en vertu de sa haute densité de charge, le  $Fe^{3+}$  forme des liaisons plus stables avec des ligands qui contiennent des atomes faiblement polarisés, comme l'oxygène. C'est la raison pour laquelle plusieurs chélateurs naturels utilisent des groupements tels que catéchol ou hydroxamate. L'affinité de tels composés pour le  $Fe^{3+}$  reflète les valeurs de pKa des atomes d'oxygène engagés dans la chélation, plus haute est l'affinité pour le  $Fe^{3+}$  plus importants sont les valeurs de pKa. Cependant, une forte affinité vis-à-vis des cations tripositifs est aussi associée à une forte affinité pour les protons. Donc, les composés qui bénéficient d'un rapport très favorable avec le  $Fe^{3+}$  (pKa élevé) possèdent également, en ce qui concerne leurs caractéristiques de chélation, une sensibilité très marquée aux variations de pH. La formation d'un complexe est dépendante de la concentration du métal libre et du ligand libre. C'est pourquoi la stabilité du complexe formé est sensible aux modifications de concentration. Le degré de dissociation d'un complexe tris-bidenté métal-ligand est dépendant de  $[ligand]^3$  et  $[ligand]^2$  tandis que le degré de dissociation d'un complexe métal-ligand hexadenté n'est dépendant que de  $[ligand]^1$ . Ainsi, la sensibilité de dilution relative à la dissociation d'un complexe en ce qui concerne le nombre de ligand suit l'ordre hexadenté < tridenté < bidenté (*Figure I.5*). C'est certainement la raison pour laquelle la majorité des sidérophores sont des composés hexadentés.

$Fe(L_b) \xrightleftharpoons{K'_d} Fe^{III} + 3L_b$	$K'_d = \frac{[Fe^{III}][L_b]^3}{[Fe(L_b)_3]}$	<i>bidenté</i>
$Fe(L_t) \xrightleftharpoons{K''_d} Fe^{III} + 2L_t$	$K''_d = \frac{[Fe^{III}][L_t]^2}{[Fe(L_t)_2]}$	<i>tridenté</i>
$Fe(L_h) \xrightleftharpoons{K'''_d} Fe^{III} + 1L_h$	$K'''_d = \frac{[Fe^{III}][L_h]}{[Fe(L_h)]}$	<i>hexadenté</i>

**Figure I.5 :** Dissociation des complexes bidentés, tridentés et hexadentés -  $Fe^{3+}$

### III.1.3. Lipophilie et poids moléculaire :

Théoriquement, pour exercer ses effets biologiques, un chélateur du fer doit atteindre ses sites cibles avec une concentration suffisante. L'efficacité d'un chélateur est étroitement dépendante de ses paramètres cinétiques : bonne absorption par le tractus gastro-intestinal, diffusion au sein des membranes biologiques pour gagner l'accès aux sites cibles. Il existe



trois facteurs qui influencent la capacité d'un composé à pénétrer librement une membrane lipidique : la lipophiles, l'état d'ionisation et le poids moléculaire<sup>29,30</sup>.

### III.1.4. Toxicité :

Il existe plusieurs facteurs à l'origine de la toxicité associée aux chélateurs du fer. Parmi eux, on peut distinguer ;

- l'inhibition de métalloenzymes contenant du fer tels que la ribonucléotide réductase,
- le manque de sélectivité pour le  $\text{Fe}^{3+}$ , lequel peut aboutir à une déficience en d'autres métaux de haute importance physiologique tels que le  $\text{Zn}^{2+}$  suite à la chélation,
- l'activité rédox des complexes de fer permettant l'interconversion entre les espèces  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Fe}^{2+}$  même après la complexations.

Pour résumer, il a été établi que la stabilité thermodynamique des complexes métalliques est favorisée lorsqu'un maximum de liaisons de coordination sont créés par la même molécule au cours de la chélation; c'est pourquoi encore la majorité des sidérophores sont hexadentés. Au contraire, les chélateurs bidentés et tridentés forment des complexes labiles et peuvent former des complexes partiellement dissociés 2:1 et 1:1 respectivement. Ces complexes partiels rendent l'accès au cation possible et peuvent faciliter la production d'espèces radicalaires. Ces ligands bidentés et tridentés par leurs faibles poids moléculaires, possèdent l'avantage d'être efficaces, passant ainsi facilement au travers des membranes biologiques pour atteindre leur cible.

## IV. Les principaux chélateurs du fer :

### IV.1. La nature des sidérophores :

Les sidérophores<sup>31</sup> (du Grec *sideros* = fer et *pherien* = transport) a été énoncé la première fois par Lankford (1973)<sup>32</sup>. Il s'agit de composés chimiques de poids moléculaire modeste (500-1500 Da)<sup>33</sup> produits par les bactéries et les champignons. Ils sont des chélateurs naturels du fer pourvus d'une haute affinité<sup>34</sup> pour le  $\text{Fe}^{3+}$ . En général, la constante de stabilité du ferrisidérophore est élevée, typiquement comprise dans l'intervalle  $10^{+25}$  et  $10^{+50}$ . Les

---

<sup>29</sup> Voskaridou, E. ; Douskou, M. ; Stamoulakatou, A.; Ourailidis, A. ; Loutradi, A., *J. Haematol.*, **2004**, 126, 736-742.

<sup>30</sup> Hider, R. C., Siderophore mediated absorption of iron, *Struct. Bond.*, **1984**, 58, 25-87.

<sup>31</sup> Luo, M. ; Lin, H. ; Fischbach, M. A. ; Liu, D. R. ; Walsh, C. T. ; Groves, J. T., *ACS Chemical Biology*, **2006**, 1, 29.

<sup>32</sup> Meyer, M. ; Telford, J. R. ; Cohen, S. M. ; White, D. J. ; Xu, J. ; Raymond, K. N. ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 10093.

<sup>33</sup> Ramirez, R. J. A. ; Karamanukyan, L. ; Ortiz, S. ; Gutierrez, C. G., *Tetrahedron Letters*, **1997**, 38, 749.

<sup>34</sup> Thulasiraman, P. ; Newton, S M. C. ; Xu, J. ; Montague, M A. ; Klebba, P E., *Journal of Bacteriology*, **1998**, 180, 6689

sidérophores sont sécrétés par des microorganismes en réponse à la nature insoluble du fer dans l'environnement qu'ils transforment sélectivement en forme soluble pour exécuter la captation du fer, disponible dans l'environnement. Ces composés utilisent le principe d'une chélation sélective présentée précédemment et sont généralement classifiés en fonction du groupement chélateur principal. Leur biosynthèse est étroitement régulée par la disponibilité du fer dans la cellule.

### IV.2. Les familles des sidérophores :

#### IV.2.1. Les chélateurs hexadentés :

La grande majorité des sidérophore forme avec le fer un complexe hexadentate et sont construits, dans la plupart des cas, autour d'un noyau de type hydroxamate ou catéchol (*Figure I.6*). La stéréochimie de ces molécules est telle que la sphère de coordination du  $\text{Fe}^{3+}$  se trouve complètement occupée par les atomes d'oxygène appartenant aux ligands. La sélectivité de ces molécules pour le  $\text{Fe}^{3+}$  par rapport au  $\text{Fe}^{2+}$  est énorme, provoquant une diminution considérable du potentiel rédox de ces espèces<sup>35</sup>.



**Figure I.6 :** Squelettes des deux principales familles de sidérophore

##### IV.2.1.1. Catéchols :

Dans cette classe, la sous-unité chélatrice dérive plus précisément de l'acide 2, 3-dihydroxy-benzoïque dont la fonction acide carboxylique permet d'établir un lien amide avec l'azote des acides aminés ou des polyamines constituant l'espaceur. La partie présente une très grande affinité pour les cations métalliques trivalents et spécialement avec l'ion ferrique. La formation du complexe ligand-fer est dépendante du pH. À pH physiologique, les complexes ligands-fer n'existent que sous la géométrie bidentée de stœchiométrie 2:1. Cependant, le problème majeur des catéchols hexadentés est lié au fait de leur forte tendance à être facilement oxydés en quinones, ce qui rend leur utilisation assez délicate<sup>36</sup>.

<sup>35</sup> Wanless, I. R. ; Sweeney, G. ; Dhillon, A. P. ; Gamberini, M. R. ; Schwartz, E. ; Cohen, A. R., *Blood*, **2002**, 100, 1566.

<sup>36</sup> Hider, R.C. ; Silver, J. ; Rees, L.V.C, *J. Chem. Soc. Dalton TRANS.*, **1981**, 2, 609-622.

Parmi les exemples de cette classe, on trouve d'une part l'entérobactine, la bacillibactine et le salmochéline qui sont tous des sidérophores tris-catéchols formés d'un triester cyclique et d'autre part la protochéline, l'agrobactine et la parabactine qui sont tris-catéchols dont l'espaceur est linéaire.

**L'entérobactine** (ou encore entérochéline) (*Figure I.7*) est la molécule qui caractérise ce groupe des catéchols, qui sont des chélateurs du  $\text{Fe}^{3+}$  par excellence. Elle est synthétisée par certaines bactéries gram-négative ou gram-positive comme *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*. Leur excellente affinité<sup>37</sup> pour les cations tripositifs de métaux et, en particulier, pour le  $\text{Fe}^{3+}$  (forte constante de stabilité pour  $\text{Fe}^{3+}$   $K_s = 10^{49}$ )<sup>38</sup> résulte d'une part d'une haute densité électronique des deux atomes d'oxygène et d'autre part de l'alliance de la dureté des catécholates et la fixation sur un espaceur macro-trilactonique dérivé de la sérine qui assure une préorganisation parfaitement adaptée à la taille du cation ferrique ( $r = 0,65\text{\AA}$ ). Cependant, cette haute densité de charge entraîne également une haute affinité pour les protons. Ainsi, la liaison catéchol-cation est extrêmement sensible au pH. Les complexes formés à pH 7.0 sont chargés et, par conséquent, ils ne peuvent traverser les membranes par simple diffusion.

**La salmochéline** (*Figure I.7*) est une entérobactine, synthétisée par *Salmonella enterica* et *E. coli*<sup>39</sup>, où deux catéchols sont C-glycosylés<sup>40</sup>, ce qui ne modifie pas les propriétés de complexation, mais qui induit une reconnaissance plus spécifique par les récepteurs de la bactérie productrice.

**La bacillibactine** (*Figure I.7*) synthétisée par *Bacillus subtilis* est plus intéressante du point de vue de la complexation. Il s'agit encore d'une entérobactine mais plus profondément modifiée par la présence d'un espaceur glycinyle supplémentaire entre la macro-trilactone de la sérine et le groupe chélatant catéchol<sup>41</sup>. Cependant, la stabilité du complexe ferrique est très peu affectée par ce changement structurel *a priori* important (la constante de stabilité reste très voisine de celle de l'entérobactine ferrique avec  $K_s$  bacillibactine =  $10^{47,6}$  et  $K_s$  entérobactine =  $10^{49}$ )<sup>42,43</sup>.

---

<sup>37</sup> a) Harris, W. R.; Carrano, C. J.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 2213–2214.

b) Harris, W. R.; Carrano, C. J.; Raymond, K. N. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 6097–6104.

<sup>38</sup> Bluhm, M. E.; Kim, S. S.; Dertz, E. A.; Raymond, K. N., *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 2436.

<sup>39</sup> Reichert, J.; Sakaitani, M.; Walsh, C. T., *Protein Sci.*, **1992**, 1, 549.

<sup>40</sup> Fischbach, M. A.; Lin, H. N.; Liu, D. R.; Walsh, C. T.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2005**, 102, 571.

<sup>41</sup> Dertz, E. A.; Xu, J. D.; Stintzi, A.; Raymond, K. N., *J. Am. Chem. Soc.*, 128, **2006**, 22.

<sup>42</sup> Loomis, L. D.; Raymond, K. N., *Inorg. Chem.*, 30, **1991**, 906.

<sup>43</sup> Dertz, E. A.; Xu, J.; Stintzi, A.; Raymond, K. N., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 22.

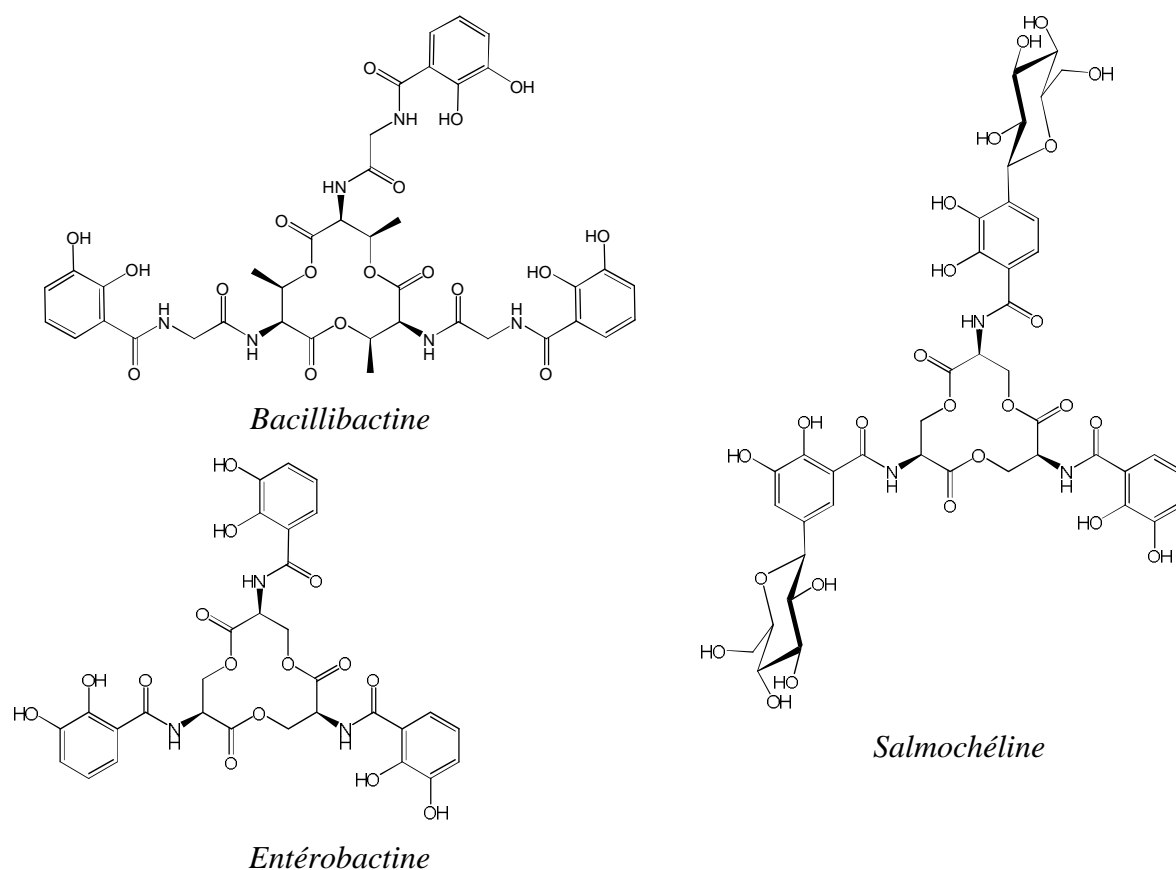


Figure I.7

**La protochéline**, sécrétée par *Azotobacter vinelandii*, est quant à elle un sidérophore de type *tris*-catéchol dont l'espaceur linéaire est une lysine liée à la putrescine (Figure I.8). Même si l'espaceur est linéaire, donc *a priori* moins préorganisé qu'un espaceur cyclique, la stabilité du ferri-sidérophore reste élevée comme le montre la valeur calculée par Duhme *et al*<sup>44</sup>,  $K_s = 10^{44,6}$ .

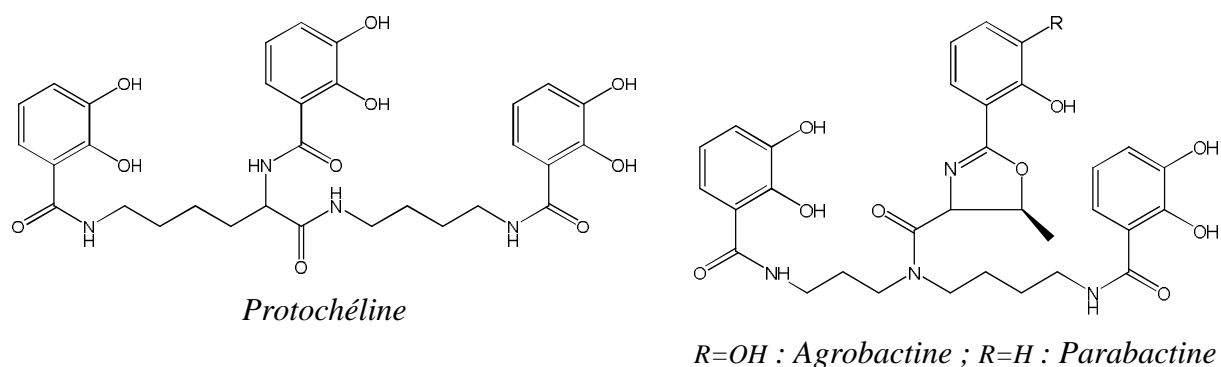
**L'agrobactine et la parabactine** représentées dans figure I.8 sont produites par *Agrobacterium tumefaciens* et par *Paracoccus denitrificans*. Il s'agit d'exemples de sidérophores « mixtes » car, bien qu'ils comportent 3 catéchols, seuls les 2 catéchols d'extrémité et le groupe 2-(2-hydroxyphényl) oxazolidine complexent le fer. L'espaceur servant de squelette, la spermidine, est acyclique et cette dernière caractéristique n'affecte toujours pas la constante de stabilité qui est très élevée et proche de celle de l'entérobactine ( $K_s$  parabactine =  $10^{48}$  et  $K_s$  entérobactine =  $10^{49}$ )<sup>45,46,47</sup>.

<sup>44</sup> Duhme, A. K. ; Hider, R. C. ; Naldrett, M. J. ; Pau, R. N., *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **1998**, 3, 520.

<sup>45</sup> Valdebenito, M. ; Crumbliss, A. L. ; Hantke, K., *International Journal of Medical Microbiology*, **2006**, 296, 513.

<sup>46</sup> Newton, S.M. C. ; Xu, J. ; Raymond, K.N. ; Mai, C. ; Hall, A. ; Klebba, P.E., *Journal of Bacteriology*, **1998**, 180, 6689.

<sup>47</sup> Peterson, T. ; Falk, K-E. ; Leong, S. A. ; Klein, M. P. ; Neilands, J. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 7715.



**Figure I.8**

#### IV.2.1.2. Hydroxamates :

Les hydroxamates sont le seul type produit par les champignons, alors que les bactéries exhibent une plus grande diversité. Leur affinité pour le  $\text{Fe}^{3+}$  est inférieure à celle observée pour les catéchols. En revanche, les chélateurs de type hydroxamate présente un avantage majeur concernant la sélectivité de complexation. En effet, les chélateurs hydroxamates possèdent une plus grande affinité pour les cations trivalents que pour les autres<sup>48</sup>. À pH =7, et du fait de la faible constante de protonation ( $\text{pK}_a \sim 9$ ), le complexe 1:1 est prédominant. D'un point de vue structural, les sidérophores polyhydroxamiques forment avec le fer(III) des complexes très stables dans lesquels l'ion ferrique haut spin se trouve dans un environnement octaédrique<sup>49,50</sup>. La coexistence en solution de plusieurs isomères géométriques rend difficile l'obtention d'un composé cristallisé analysable par rayons X. L'essentiel des informations structurales sur ces composés provient donc de l'analyse des espèces en solution<sup>51,52</sup> en particulier en utilisant la spectrophotométrie visible entre 350 et 550 nm, la RPE et la voltampérométrie cyclique. La première de ces techniques permet en particulier de différencier les trois types de complexes mono-, di- et trihydroxamates avec le fer(III) car ils présentent des longueurs d'onde d'absorption maximum très différentes et indépendantes du reste de la structure du ligand<sup>53</sup>.

On peut classer les hydroxamates en quatre grandes familles : les ferrioxamines, les ferrichrome, les coprogènes et les fusarinines.

<sup>48</sup> Martell, A. E ; Smith, R.M., *Critical Stability Constant*, Plenum Press, London, 1974-1989, Vol. 1-6.

<sup>49</sup> Neilands, J.B., *Dans Microbial iron metabolism*. Edited by J.B.Neilands. Academic Press, New York. **1974**.

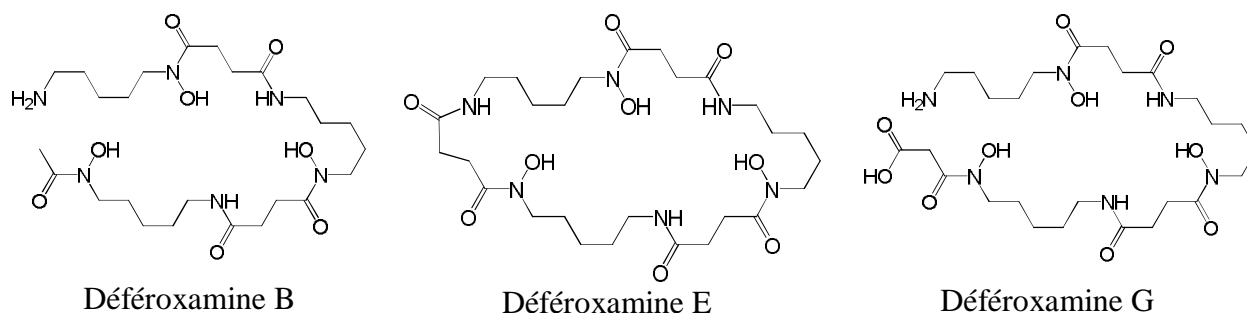
<sup>50</sup> Raymond, K.N. ; Carrano, C.J., *Acc. Chem. Res.*, **1979**, 12, 183.

<sup>51</sup> Crumbliss, A.L. ; *Darns CRC handbook of microbial iron chelates.*, edited by G. Winkelmann., CRC Press, Boca Raton, Fla. 1991., p.177.

<sup>52</sup> Matzanke, B.F.; Raymond, K.N., *Bioinorg. Chem. Ser.*, Vol. 4. V.C.H.,Cambridge, **1989**, Chap. 2 1.

<sup>53</sup> Neilands, J.B., *Struct. Bonding* (Berlin), **1966**, 1, 59.

*Les ferrioxamines* sont des sidérophores hexadentés isolés de *Streptomyces pilosus*. Ceux sont des tris-hydroxamates constitués d'une alternance des unités de diamine, généralement du cadaverine ou putrescine et d'acide succinique, avec certaines variations (Figure I.10). Les déféroxamines A, B, C, D<sub>1</sub>, F et G sont des sidérophores linéaires contenant trois acides hydroxamiques tandis que les déféroxamines D<sub>2</sub> et E sont des analogues cycliques respectivement des déféroxamines linéaires D<sub>1</sub> et G.



**Figure I.9 : Structures des déféroxamines E, G et B.**

Commercialement, on trouve la déféroxamine B sous forme de sel de mésylate sous le nom de Desféral. Il est le chélateur de choix pour une utilisation clinique dans le cas des maladies de surcharge en fer telle que la  $\beta$ -thalassémie<sup>54</sup>. Ce dérivé tris-hydroxamique chélate le  $\text{Fe}^{3+}$  avec une haute affinité pour former un complexe 1:1 hautement stable ( $10^{30.6}$ )<sup>55,56,57</sup> et métaboliquement inactif ce qui prévient la formation d'espèces radicalaires. Cependant, l'efficacité de ce ligand est limitée, de part sa nature trop hydrophile. A ce jour, les structures cristallines de quatre membres de la famille des ferrioxamines ont été identifiées : la ferrioxamine D1, la ferrioxamine E, le rétro-isomère de la ferrioxamine E<sup>58,59</sup> et plus récemment, Crumbliss et al.<sup>60</sup> ont rapporté la structure cristalline de la ferrioxamine B co-cristallisée avec l'éthanolpentaquamaagnésium(II) et le perchlorate, dans une composition de  $\text{Fe}(\text{HDFOB})\text{ClO}_4\text{Mg}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{EtOH})(\text{ClO}_4)_2$ . Toutes les structures cristallines montrent que toutes les ferrioxamines se cristallisent sous forme d'un mélange racémique de  $\Delta$ - et  $\Lambda$ -cis isomères<sup>61,62</sup>.

<sup>54</sup> Olivieri, N. F. ; Brittenham, G. M., *Blood*, **1997**, 89, 739-761.

<sup>55</sup> Crumbliss, A., in: Winkelmann, G., (Ed.), *Handbook of Microbial Iron Chelates*, CRC Press, Inc., Boca Raton, **1991**, 177.

<sup>56</sup> Isied, S.S. ; Kuo, G. ; Raymond, K.N., *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 1763.

<sup>57</sup> Schwarzenbach, G. ; Schwarzenbach, K., *Helv. Chim. Acta*, **1963**, 46, 1390.

<sup>58</sup> Hossain, M.B. ; Jalal, M.A.F. ; van der Helm, D. ; Shimizu, K. ; Akiyama, M., *J. Chem. Crystallogr.*, **1998**, 28, 53.

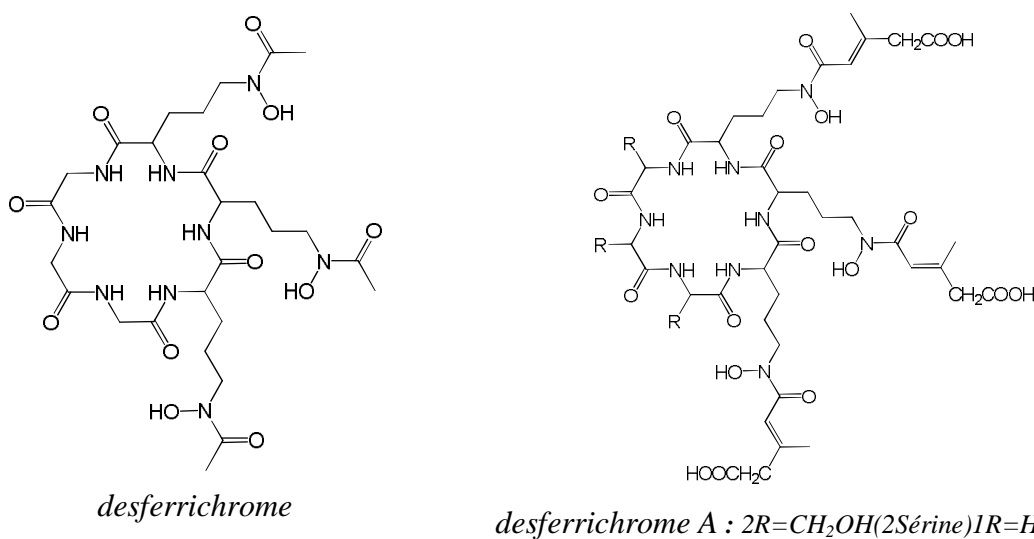
<sup>59</sup> Van Der Helm, D. ; Poling, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 82.

<sup>60</sup> Dhungana, S. ; White, P.S. ; Crumbliss, A.L., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2001**, 6, 810.

<sup>61</sup> Hossain, M.B. ; Jalal, M.A.F. ; van der Helm, D. ; Shimizu, K. ; Akiyama, M., *J. Chem. Crystallogr.*, **1998**, 28, 53.

<sup>62</sup> Dhungana, S. ; White, P.S. ; Crumbliss, A.L., *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2001**, 6, 810.

**Les desferrichromes** sont un autre type de sidérophore tri-hydroxamate. Ce sont des hexapeptides cycliques contenant un tri-peptide de N-acyl-N-hydroxyornithine et une combinaison variable de glycine, sérine, ou alanine. Le ferrichrome est l'un des premiers sidérophores découvert dans la nature, il est produit par un grand nombre de champignons tels que *Aspergillus*, *Ustilag*, le *Penicillium*, *Ustilago sphaerogena* et par des levures<sup>63</sup>. Contrairement au déféroxamines, le complexe Fe(III)-desferrichrome, plus couramment appelé ferrichrome, assume une configuration  $\Lambda$ -cis au centre de Fe(III)<sup>43</sup>. La variation dans la composition du desferrichrome provient de la substitution de deux résidus glycine par des résidus L-sérine et la substitution de trois résidus acide acétique par l'acide  $\beta$ -méthyle glutaconique comme dans la desferrichrome A.



**Figure I.11**

**Les coprogènes** : sont des dérivés trihydroxamates de l'acide rhodotorulique avec une structure linéaire, isolé d'abord chez *Penicillim spp.* et *Neurospora crassa*<sup>64</sup>. Sept autres composés de ce même groupe ont été identifiés chez différents champignons. On rencontre le coprogène B chez *G. graminis*<sup>65</sup>, *V. dahliae*<sup>66</sup>, *Stemphylium botryosum*. Le néocoprogène I est produit par *Curvularia linata* un parasite des plantes tropicales. La triomicine et l'isotriomicine sont produits par un contaminant des graines, *Epicoccum pupurascens*<sup>67</sup>. Le néocoprogène et l'isonéocoprogène ont été isolés de la souche phytopatogène d'*Alternaria longipes* et du *Fusarium dimerun*<sup>68</sup>.

<sup>63</sup> Van Der Helm, D. ; Baker, J.R. ; Eng-Wilmot, D.L. ; Hossain, M.B. ; Loghry, R.A., *J. Am. Chem. Soc.*,102, **1980**, 4224.

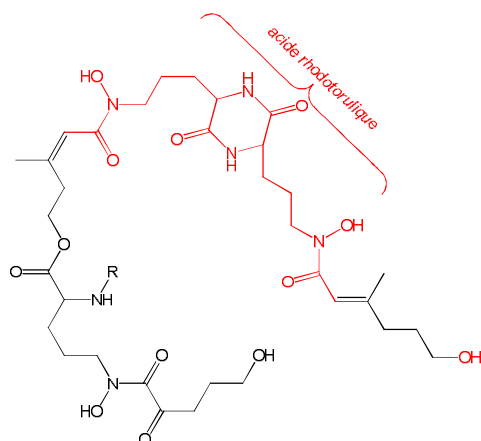
<sup>64</sup> Wnkemann, G. ; Huschka, H.-G., *Microbial Products II*, **1986**, 4, 215-243.

<sup>65</sup> Dori, S. ; Solel, Z. ; Kashmani, Y. ; Barash, I., *Physiol. Mol. Plant Pathol.*,**1990**, 37 ,95- 106

<sup>66</sup> Manulis, S., Zon, R. ; Kashmani, Y. ; Barash, I., *Phytopathology*, **1986**, 7 6,1081.

<sup>67</sup> Frederick, C. B. ; Szaneszlo, Structure of Triomicine a new siderophore, *Biochem*,**1981**, 20, 2432-2436.

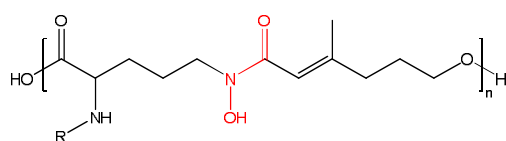
<sup>68</sup> Jalal, M. A. F., *Biol. Metals*, **1988**, 1, 4-8.



$R=COCH_3$ : Coprogène ;  $R=H$ : Coprogène B

**Figure I.12** : Structure des sidérophores de type coprogène

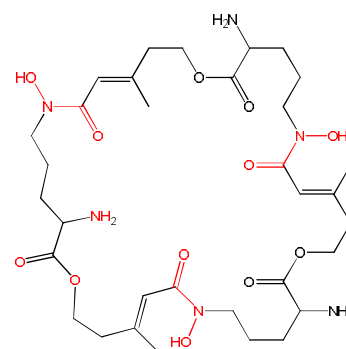
**Les Fusarinines** : ce sont des acides hydroxamiques linéaires ou cycliques. Ils sont répandus chez les *Fusarium* et *Gliocladium*. La fusarinine, la fusarinine A et B sont linéaires avec un, deux ou trois molécules de fusarinine. Les deux dernières ont été isolées chez *Fusarium roseum*<sup>69</sup>. Le triester cyclique fusarinine C est produit par *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*<sup>70</sup>.



*Fusarinine* :  $R=H$  et  $n=1$  ;

*Fusarinine A* :  $R=H$  et  $n=2$  ;

*Fusarinine B* :  $R=H$  et  $n=3$



*Fusarinine C*

**Figure I.13**

#### IV.2.1.3. Hydroxypyridinones :

Ces nouveaux types de ligands, purement synthétiques, ont été mis au point par l'équipe de Hider<sup>71</sup> au King collège de Londres et présente une affinité particulièrement élevée pour le  $Fe^{3+}$ . Ces analogues de sidérophores hexadentés peuvent être préparés par greffage de motifs hydroxypyridinones bidentés sur une molécule comprenant trois bras espaceurs (*Figure I.14*). Ces complexes hexadentés présentent une bonne stabilité au pH physiologique et possèdent

<sup>69</sup> Sayer, J. M. ; Emery, T. F., *Biochemistry*, **1968**, 7, 184-190

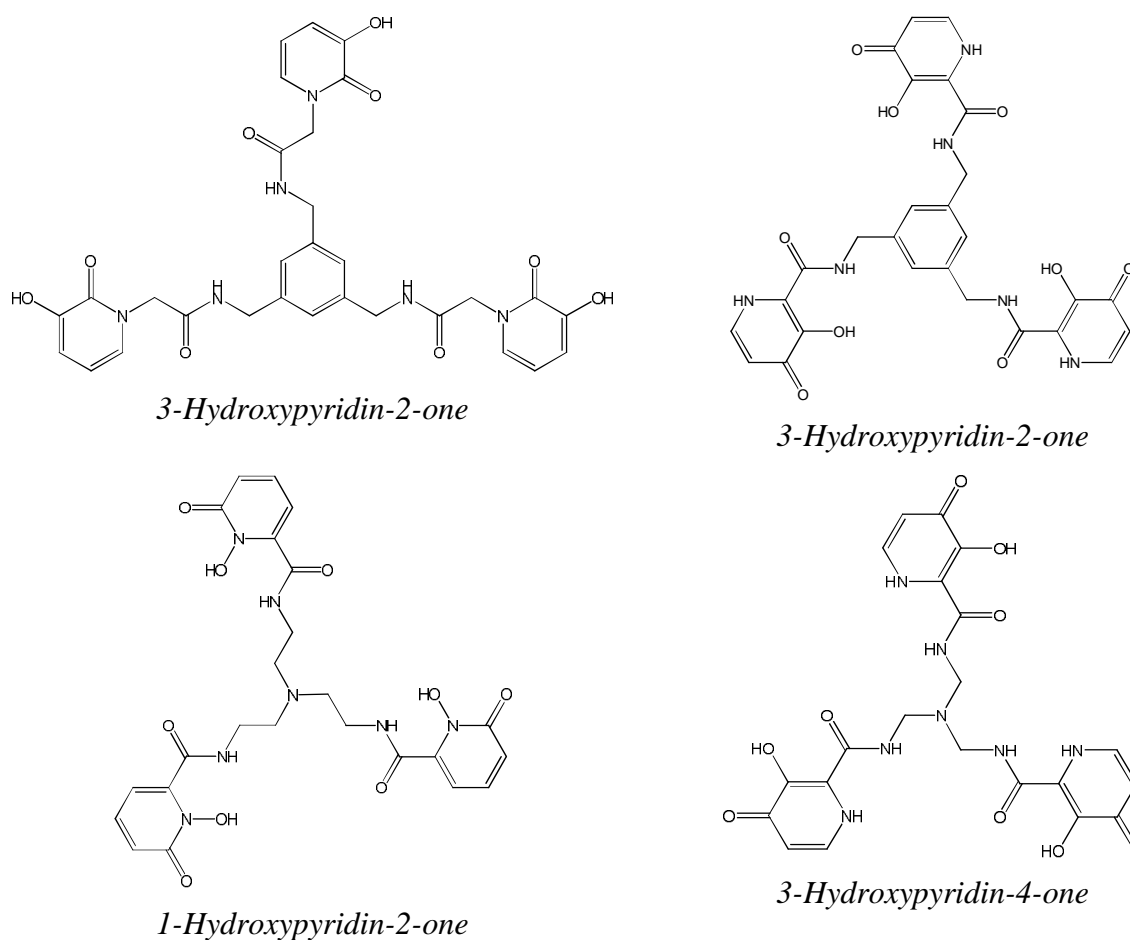
<sup>70</sup> Diekemann, H., *Ach. Mikrobiol.*, **1970**, 5 8, 1-5.

<sup>71</sup> Rai, B. L. ; Khodr, H. ; Hider, R. C., *Tetrahedron*, **1999**, 55, 1129-1142.



l'avantage de ne pas être reconnu par les récepteurs de sidérophores ce qui réduit leur capacité à fournir du fer aux organismes pathogènes. Plusieurs ligands hexadentés, dérivés de la 1-hydroxypyridin-2-one et de 3-hydroxypyridin-2-one, ont été synthétisés. Malgré les valeurs de  $pK_{Fe^{3+}}$  normalement plus élevées pour les ligands hexadentés que pour les ligands bidentés, une diminution nette de la constante de formation du complexe, due à la géométrie de la chélation, a été observée. Pour augmenter la stabilité du complexe, une prédisposition spécifique des motifs est importante ; ainsi le groupement pyridinone doit être lié au bras par la position ortho par rapport aux atomes d'oxygène participant à la chélation. Il a également été observé que l'introduction d'un groupement amide adjacent au phénolate contribue à la stabilité du complexe ligand-fer *via* une liaison hydrogène (Figure I.14).

Les molécules hexadentées, dérivées de pyridinone, sont probablement moins toxiques que leurs analogues bidentés grâce à leur distribution systémique plus restreinte. Cependant, de part leur poids moléculaire plus élevé, ces molécules possèdent une faible biodisponibilité<sup>72</sup>.



**Figure I.14**

<sup>72</sup> White, D. L. ; Durbin, P. W. ; Jeung, N. ; Raymond, N., *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 11-18.

#### IV.2.2. Les chélateurs tridentés :

Il y a un problème potentiel associé à tous les chélateurs tridentés. Il s'agit de la possibilité pour ce type de composés de former des complexes polymériques.

##### IV.2.2.1. Desferriothiocine :

La desferriothiocine (DFT) est un sidérophore isolé de *Streptomyces antibioticus* (Figure I.15).<sup>73</sup> Cette molécule forme un complexe avec le Fe<sup>3+</sup> dans une proportion de 2:1 à pH physiologique. L'oxygène du phénolate, l'oxygène du carboxylate et l'atome d'azote de la thiazoline sont responsables de la chélation du Fe<sup>3+</sup>.<sup>74</sup> La DFT possède une grande affinité pour le Fe<sup>3+</sup>. C'était le premier sidérophore actif par voie orale. Sa bonne biodisponibilité par voie orale a fait de ce produit un prototype pour des études structurales à la recherche d'un dérivé moins toxique. Après la synthèse de plusieurs dérivés issus des études structurales, le dérivé 4'-hydroxy-désazadesferriothiocine (4-OH-DADFT) a été le plus prometteur.

Dans l'objectif d'obtenir un composé encore plus efficace, Bergeron et al.<sup>75</sup>, ont synthétisé la molécule (S,S)-1,11-bis[5(4-carboxy-4,5-dihydrothiazol-2-yl)-2,4-dihydroxyphenyl]-4,8-dioxaundecane (BDU) (Figure I.15). Il s'agit de l'union de deux unités du dérivé de méthyle de 4-OH-DADFT par un bras de polyéther.

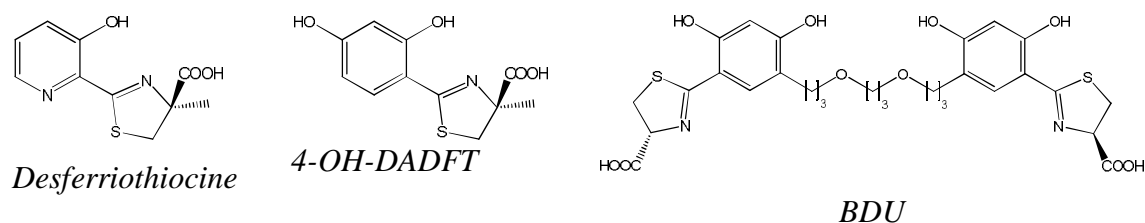


Figure I.15 : Sidérophore desferriothiocine et son dérivé BDU

##### IV.2.2.2. Triazoles :

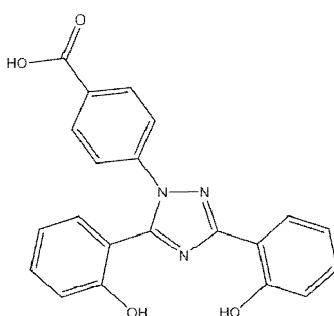
Le produit *leader* de cette classe est le déférasirox (Exjade, nommé antérieurement ICL670A) (Figure I.16). Il est un chélateur tridenté qui utilise un atome d'azote du noyau triazole et deux atomes d'oxygène phénolique comme atomes chélateurs du Fe<sup>3+</sup>. Cette molécule possède une bonne sélectivité pour le Fe<sup>3+</sup> et est de plus hydrophobe (log P=3,8), pouvant ainsi traverser facilement les membranes.<sup>81</sup> Le déférasirox forme avec le fer des

<sup>73</sup> Nick, H. ; Acklin, P. ; Lattmann, R. ; Buehlmayer, P. ; Hauffe, S., *Curr. Med. Chem.*, **2003**, 10, 1065-1076.

<sup>74</sup> Brittenham, G.M. *Alcohol*, **2003**, 30, 151-158.

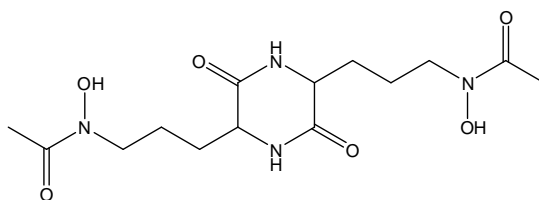
<sup>75</sup> Bergeron R. J. ; Streiff, R. R. ; Creary, E. A. ; Daniels, R. D. ; King, W. ; Peter, H. H. *Blood*, **1993**, 81, 2166-2173.

complexes d'ordre 2:1<sup>76</sup>. Les triazoles peuvent exister selon deux conformations différentes lors de la chélation : une structure tridentée et une structure tétradentée alternée. Cette dernière possède une forte tendance à former des complexes polymériques. Cette conformation tétradentée favorise la chélation de  $Zn^{2+}$ , car la moitié des atomes ligands sont des azotes<sup>77</sup>. La capacité du déférasirox à réaliser une diminution de la concentration de fer dans l'organisme a été prouvée<sup>78</sup>. Le déférasirox, étant plus lipophile, pénètre dans la cellule et chélate le fer du *pool* fonctionnel intracellulaire. Ensuite, il sort de la cellule et dans le milieu extracellulaire, il échange l'atome de fer avec la DFO. En effet, cette dernière possède une affinité pour le  $Fe^{3+}$  plus importante et forme des complexes beaucoup plus stables.



**Figure I.16 :** Déférasirox (ICL670A) : Exjade®

L'acide rhodotorulique est isolé des cultures de la levure *Rhodotorula pilimanae*<sup>79</sup> (Figure I.17). C'est un acide bis-hydroxamique<sup>80</sup> qui forme un complexe sous forme dimérique de stoechiométrie [Fe/L : 2/3] à pH = 7 avec une constante de stabilité élevée,  $K_s = 10^{64,6}$ . Cette constante est déterminée pour deux atomes de fer et pour établir une comparaison plus adéquate avec les autres sidérophores, on la ramène à un atome de métal,  $K_s/Fe = 10^{32,3}$ . Il s'agit donc d'un sidérophore beaucoup moins efficace que l'entérobactine comme on peut d'ailleurs s'y attendre pour un ligand de plus faible denticité.



**Figure I.17 :** Acide rhodotorulique (acide bis-hydroxamique).

<sup>76</sup> Heinz, U. ; Hegetschweiler, K. ; Acklin, P. ; Faller, B. ; Schnebli, H. P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 2568-2570.

<sup>77</sup> Liu, Z. D. ; Hider, R. C. *Chem. Rev.*, **2002**, 232, 151-171.

<sup>78</sup> Hershko, C. ; Konijn, A. M. ; Nick, H. P. ; Breuer, W. ; Cabantchik, Z. ; Link, G. *Blood*, **2001**, 97, 1115-1122.

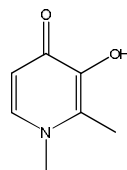
<sup>79</sup> Atkin, C. ; Neilands, J. B., *Biochemistry*, **1968**, 7, 3734.

<sup>80</sup> Boukhalfa, H. ; Crumbliss, A. L., *BioMetals*, **2002**, 15, 325

### IV.2.3. Les chélateurs bidentés :

#### IV.2.3.1. Dialkylhydroxypyridinone

Parmi les systèmes « *mono* »-bidentés, la Défériprone (1,2-diméthyl-3-hydroxypyridin-4-one) est le composé *leader* de cette classe (*Figure I.18*). La Défériprone utilise les deux atomes d'oxygène pour chélater préférentiellement le  $\text{Fe}^{3+}$  par rapport au  $\text{Fe}^{2+}$ . Elle forme des complexes avec le  $\text{Fe}^{3+}$  de sorte que les solutions aqueuses s'équilibrent pour donner des mélanges dans lesquels la distribution des complexes dépend du pH. La délocalisation de la charge sur la fonction 4-carbonyle confère également à ce chélateur un caractère acide<sup>81</sup>.



*Figure I.18 : Défériprone*

On remarque encore d'autres exemples dans cette classe, comme la Chrysobactine découverte par Persmark *et al.* (*Figure I.19*), elle est sécrétée par *Erwinia chrysanthemi* et *E. carotovora*. C'est le représentant typique des sidérophores dérivant simplement de l'acide dihydroxybenzoïque et de quelques acides aminés<sup>82</sup>. La Vanchrobactine, récemment découverte (*Figure I.19*)<sup>83</sup>, est issue de cultures de *Vibrio anguillarum*, elle appartient aussi à cette famille de sidérophores où seuls les acides aminés constituant le squelette changent d'une structure à l'autre. Pour la chrysobactine, les fonctions présentes sur les acides aminés ne coordonnent pas le fer : seul le groupe catéchol est chélatant. La stœchiométrie des complexes formés varie de 1:1 à 1:3 (Métal/L) en fonction du pH et de la concentration en ligand. Il semble toutefois, à la lueur des travaux de Persmark et Neilands<sup>84</sup>, que le complexe préférentiellement engendré soit plutôt 1:2. Ce complexe déplace le fer du complexe [Fe(HDDHA)] considéré pourtant comme de forte stabilité.

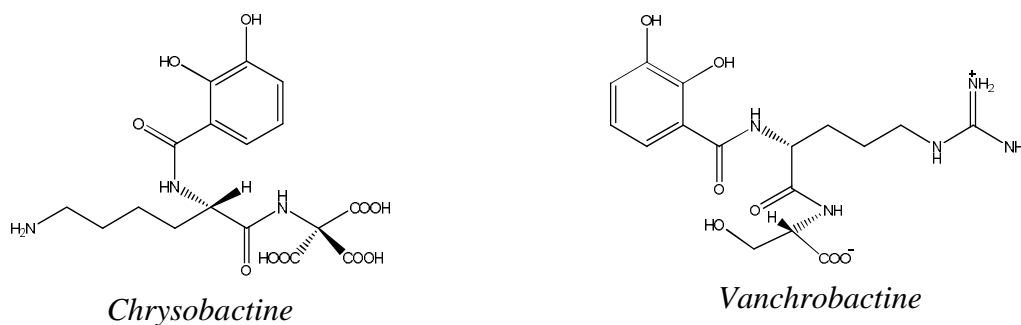
---

<sup>81</sup> Neilands, J.B., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 45, 26723.

<sup>82</sup> Persmark, M. ; Expert, D. ; Neilands, J. B., *The Journal Of Biological Chemistry*, **1989**, 264, 3187.

<sup>83</sup> Soengas, R. G. ; Anta, C. ; Espada, A. ; Nieto, R. M. ; Rodriguez, J. ; Jiménez, C., *Tetrahedron Letters*, **2007**, 48, 3021.

<sup>84</sup> Persmark, M. ; Neilands, J. B., *BioMetals*, **1992**, 5, 29.



**Figure I.19**

## V. Les monocouches autoassemblées incorporant un sidérophore :

### V.1. Les Biosenseurs :

Les biosenseurs sont des systèmes de reconnaissance moléculaire dont certains éléments sont inspirés ou ont été empruntés à des systèmes biologiques connus. Ils sont généralement constitués de deux parties aux fonctions distinctes. Ces parties sont le système de reconnaissance et le transducteur. Le système de reconnaissance est la partie qui présente l'affinité pour l'analyte et c'est donc la partie responsable pour la sélectivité et la sensibilité de tout le système. Cette partie est souvent empruntée à un système biologique connu. Le transducteur est responsable de l'acheminement de l'information de l'élément de reconnaissance vers l'appareil servant à effectuer la lecture. Habituellement, ces mesures se font par méthodes électrochimiques ou spectroscopiques.

#### V.1.1. Éléments de reconnaissance

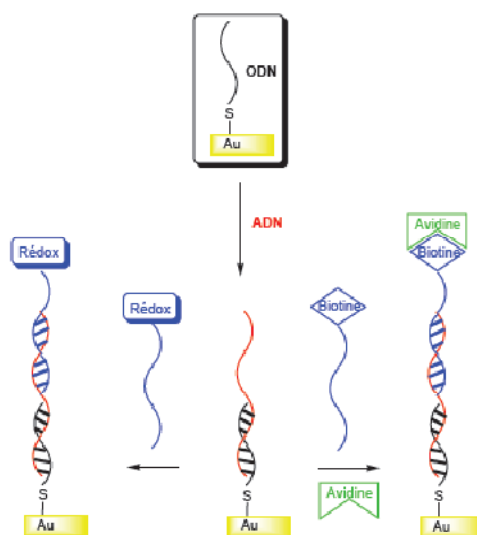
Les éléments de reconnaissance utilisés dans les biosenseurs sont classés dans deux catégories. Il y a d'abord les éléments biologiques et il y a les éléments biomimétiques<sup>85</sup>. Les éléments biologiques sont les éléments que les organismes vivants utilisent pour effectuer de la reconnaissance moléculaire. Parmi ces éléments, on peut mentionner de petites molécules biologiques telles que les sidérophores, les enzymes, les anticorps et les acides nucléiques.

Les éléments biomimétiques sont des éléments synthétiques ou semi-synthétiques qui sont développés artificiellement pour faire de la reconnaissance moléculaire. Cette catégorie comprend entre autres les acides peptidonucléiques, les aptamères et les ribozymes.

La manière dont la reconnaissance s'effectue dans un biosenseur varie un peu selon la catégorie où se retrouve le biosenseur. Ainsi, un biosenseur contenant une enzyme donne

<sup>85</sup> Scheller, F.W. ; Wollenberger, U. ; Warsinke, A. ; Lisdat, F., *Curr. Opin. in. Biotech.*, **2001**, 12, 35.

habituellement une mesure d'un métabolite produit par cette enzyme plutôt qu'une lecture directe de l'analyte. Un exemple de ce type de biosenseur est celui contenant un brin d'ADN<sup>86,87</sup>. Ces biosenseurs (aussi appelés biopuces à ADN) contiennent un ou plusieurs brins d'ADN, doté(s) d'une sonde rédox, attaché(s) à une surface conductrice. La séquence d'ADN est choisie pour être complémentaire à un gène ou une séquence d'acides nucléiques que l'on veut détecter. Lorsque le gène choisi se retrouve dans la solution baignant le biosenseur, il s'hybride avec la séquence correspondante et le double brin d'ADN résultant devient conducteur. À l'opposé, si seulement des brins non complémentaires (ou partiellement complémentaires) se retrouvent dans l'analyte, une hybridation incomplète survient et le double brin résultant ne conduit plus les électrons. Le processus d'auto-assemblage peut aussi être suivi par spectroscopie d'impédance électrochimique. Cette approche nécessite une amplification du signal par autoassemblage supplémentaire avec un oligonucléotide substitué par un motif biotine pouvant à son tour former un complexe avec l'avidine. Ces procédés sont représentés à la figure I.20.



**Figure I.20** *Exemple de capteur biochimique à base de SAMs : Biopuce à ADN*

### V.1.2. Élément transducteur :

Lors de la conception d'un biosenseur, la partie appelée transducteur permet la sortie d'un signal (« output ») qui peut ensuite être analysé par un système électronique pour obtenir une lecture. Cette partie est très importante lors du design d'un biosenseur puisque la sensibilité du signal obtenu est aussi dépendante de l'élément de transmission que de la sensibilité de l'élément de reconnaissance. Les méthodes utilisées pour la lecture d'un

<sup>86</sup> Bardea, A. ; Patosky, F. ; Dagan, A. ; Wilner, I., *Chem. Commun.*, **1999**, 21.

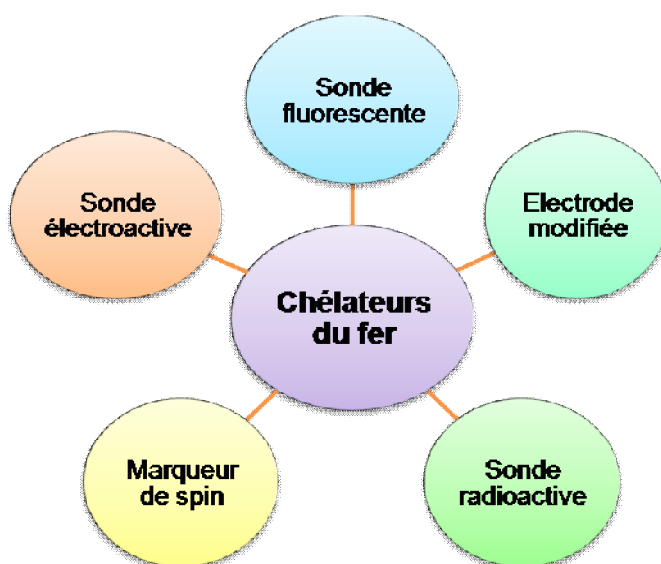
<sup>87</sup> Ihara, T. ; Nakayama, M. ; Murata, M. ; Nakano, K. ; Maeda, M., *Chem. Commun.*, **1997**, 1609.

biosenseur sont habituellement de deux natures, soit électrochimique soit physique<sup>88</sup>. Les méthodes électrochimiques impliquent généralement l'utilisation d'électrodes et le greffage de l'élément de reconnaissance sur une surface conductrice (électrode). Les diverses méthodes employées sont : l'ampérométrie, la potentiométrie, la conductimétrie et la capacitance. Les autres méthodes dites physiques comprennent les méthodes spectroscopiques (interférométrie, réfractométrie, fluorimétrie, etc.) et les méthodes micrométriques (microbalance à quartz, viscosimétrie, etc.). Ces méthodes sont cependant moins pratiques dans l'optique de concevoir un système de biosenseur pouvant être miniaturisé et d'utilisation simple.

### V.2. Les sidérophores :

#### V.2.1. Les outils de diagnostic :

Les applications des complexes de fer sont extrêmement variées. Leur présence est capitale dans les dosages biologiques pour lesquels ils permettent la détection sensible et spécifique d'un analyte. Les sidérophores biomimétiques ou bioinspirés sont des chélateurs artificiels du fer susceptibles de se substituer partiellement ou totalement aux sidérophores « naturels » des micro-organismes ou des végétaux. Nous exposerons des exemples non exhaustifs des applications potentielles des sidérophores naturels et biomimétiques comme outils pour étudier la biologie du fer. La figure I.21 schématise de façon simplifiée un certain nombre de possibilités.

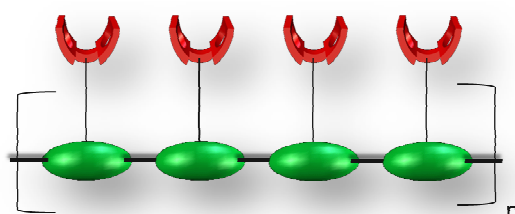


*Figure I.21 : Vers des outils pour l'étude du métabolisme du fer.*

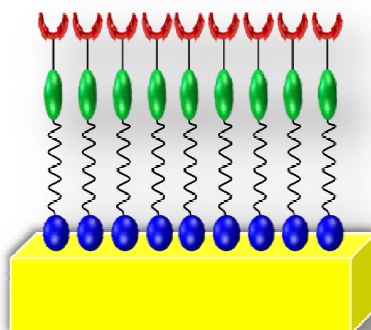
<sup>88</sup> Scheller, F.W. ; Wollenberger, U. ; Warsinke, A. ; Lisdat, F., *Curr. Opin. in. Biotech.*, **2001**, 12, 35.

Les travaux d'Ouchetto et al.<sup>89</sup>, fondés sur la préparation d'un sidérophore artificiel couplé à un groupement fluorescent (NBD), a permis de mettre en évidence la pénétration de ce type de sidérophore dans différents microorganismes (*C. albicans*, *T. fetus*,...). Ainsi, le greffage de manière covalente d'un groupement nitroxyde (marqueur de spin) à un chélateur du fer peut permettre de préciser une localisation membranaire : inséré dans une couche lipidique, le groupement nitroxyde s'oriente, ce dont rend compte le spectre de RPE. Un groupement radioactif peut également être utilisé comme sonde de la pénétration cellulaire. Mais, à ce jour, peu de travaux portent sur le développement d'électrode spécifique du Fe(III) ont été réalisés. Le principe consiste à greffer un groupe électroactif pour en faire un matériau d'électrode. Pour cela, il existe deux techniques de recouvrement des électrodes :

- La première fait appel à des polymères conducteurs.



- La seconde consiste à fixer une espèce à l'électrode par chimisorption.



### V.2.2. Récepteurs moléculaires rédox<sup>90</sup> :

L'utilité de nouveaux systèmes de détection et de dosage des cations métalliques dans de nombreux domaines comme l'environnement et le biomédical n'est plus à démontrer. Dans ce contexte, les systèmes rédox-actifs sont une voie séduisante pour le développement de

<sup>89</sup> Ouchetto, H. ; Dias, M. ; Mornet, R. ; Lesuisse, E. ; Camadro, J.-M., *Bioorg. Med. Chem.*,13, 5, **2005** , 1799.

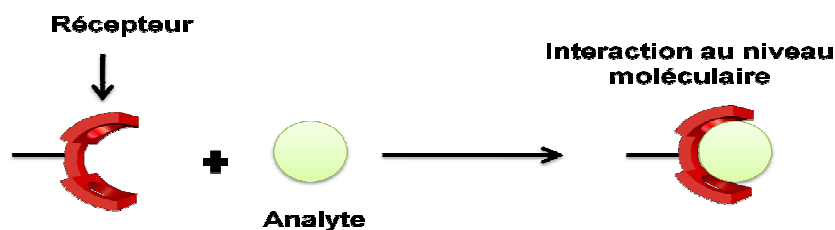
<sup>90</sup> a) Trippé, G. ; Le Derf, F. ; Lyskawa, J. ; Mazari, M. ; Roncali, J.; Gorgues, A. ; Levillain, E. ; Sallé, M., *Chem. Eur.J.*, **2004**, *10*, 6497. b) Lyskawa, J. ; Le Derf, F. ; Levillain, E. ; Mazari, M. ; Sallé, M. ; Dubois, L. ; Viel, P. ; Bureau, C. ; Palacin, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 12194. c) Zhao, B. T. ; Blesa, M. J. ; Mercier, N. ; Derf, F. ; Sallé, M., *New J. Chem.*, **2005**, *29*, 1164. d) Blesa, M. J. ; Zhao, B. T. ; Allain, M. ; Le Derf, F. ; Sallé, M. *Chem Eur J*, **2006**, *12*, 1906 ;



nouveaux dispositifs analytiques, basés sur l'immobilisation au sein d'une même couche sensible d'un récepteur moléculaire synthétique. Ces récepteurs rédox doivent être capables de complexer sélectivement un cation et de traduire ce phénomène de reconnaissance par la modification de leur électroactivité, qui peut alors être détectée et amplifiée *via* un dispositif extérieur. Ces récepteurs doivent donc être sensibles et spécifiques vis-à-vis d'une espèce cible.

### V.2.2.1. Principe général de la reconnaissance moléculaire ou ionique :

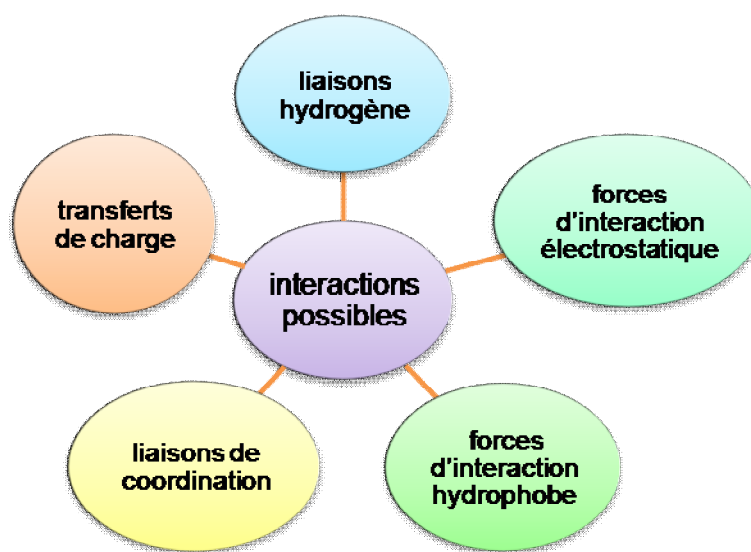
La reconnaissance moléculaire ou ionique peut être définie comme étant le processus d'interaction sélective, au niveau moléculaire, entre un substrat (molécule ou ion invité) et un récepteur, le fragment moléculaire hôte (*Schéma I.22*).



*Schéma I.22 : principe de la reconnaissance moléculaire ou ionique.*

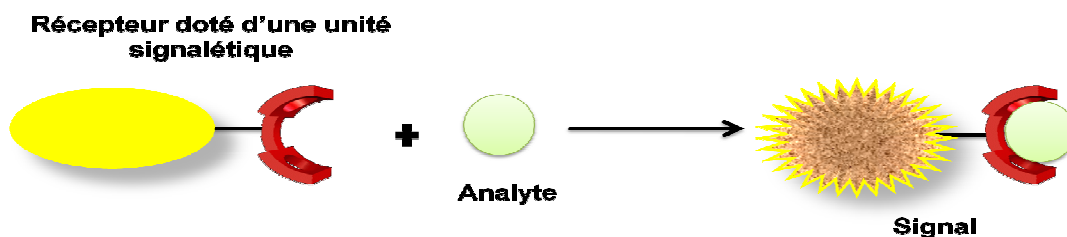
Dans le cas d'une espèce cible chargée, on parle de reconnaissance ionique, alors que la reconnaissance moléculaire fait intervenir un analyte neutre. Le processus d'interaction substrat-récepteur doit être rapide, réversible et peu endergonique.

Les interactions mises en jeu à l'échelle moléculaire sont résumées dans la figure ci-dessous :



*Figure I.23 : Principales interactions mises en jeu lors du processus de reconnaissance*

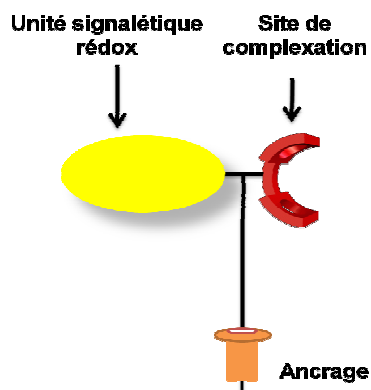
Il est possible de mettre à profit les propriétés de reconnaissance moléculaire ou ionique pour réaliser la détection d'espèces cibles. Toutefois, le phénomène de reconnaissance moléculaire ou ionique n'est pas suffisant pour réaliser la détection de l'espèce cible. Il faut en effet doter le système d'une unité signalétique permettant de mettre en évidence l'interaction entre le récepteur et le substrat (*Schéma I.24*).



*Schéma I.24 : récepteur bi-fonctionnel pour la reconnaissance moléculaire.*

Le récepteur activé est donc constitué d'un site de complexation, dont les caractéristiques structurales et physico-chimiques doivent permettre de complexer sélectivement le substrat, ainsi que d'une unité signalétique qui permettra de mettre en évidence, grâce à l'apparition d'un signal spécifique, la formation du complexe analyte-récepteur. Ce signal spécifique est lié à la modification mesurable d'une des propriétés physico-chimiques (luminescence, électroactivité, ...) du récepteur<sup>91,92</sup> et sera de préférence de nature optique ou électrique. De plus, si l'ampleur de la modification est corrélée à la concentration en espèce cible, il est alors possible de réaliser son dosage.

Un des buts affichés de la reconnaissance de cations métalliques est l'élaboration de capteurs chimiques (*Schéma I.25*). Cet objectif implique donc la synthèse de récepteurs "actifs" adaptés à la complexation sélective des cations cibles visés, ainsi que leur immobilisation sur un support solide pour réaliser des couches sensibles.



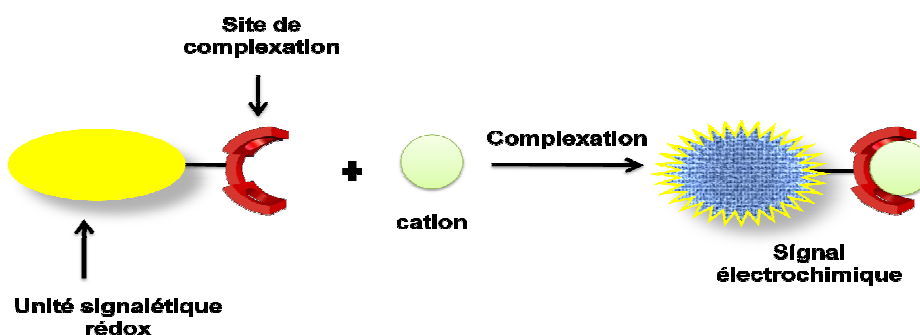
*Schéma I.25 : récepteur immobilisé sur surface.*

<sup>91</sup> Tercier, M.-L. ; Buffle, J. ; Graziottin, F., *Electroanalysis*, **1998**, 10, 355-63.

<sup>92</sup> Rouessac, F. R. ; A. Rouessac, *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes.*, Dunod, Paris, **2000**.

### V.2.2.2. Principe de la reconnaissance électrochimique :

Pour réaliser la reconnaissance électrochimique d'une espèce cible, il est nécessaire de doter un récepteur spécifique de cette espèce cible d'une dimension rédox supplémentaire, qui va permettre de mettre en évidence le phénomène de reconnaissance moléculaire, donc de détecter, voire doser, l'espèce cible. En d'autres termes, il faut fonctionnaliser le récepteur moléculaire par une unité signalétique rédox, généralement un groupement caractérisé par un simple transfert monoélectronique et réversible (*Schéma I.26*). La propriété physico-chimique modifiée au cours de la reconnaissance est donc de nature électrochimique (modification de  $E_{app}$ ) et cette variation de l'activité électrochimique du récepteur en présence de l'espèce cible peut permettre la détection, voire la quantification de cette dernière.



*Schéma I.26 : processus de reconnaissance électrochimique par un récepteur constitué par l'assemblage d'un site de complexation et d'un site électroactif.*

Dans le récepteur, la connexion entre le site de complexation et l'unité signalétique rédox a une importance capitale sur l'efficacité du système : elle doit permettre de transmettre de manière optimale l'information (complexation de l'espèce cible par le site de complexation) à l'unité signalétique. Dans le cas général d'un récepteur rédox, le transfert de cette information peut s'effectuer selon 5 voies différentes qui sont décrites dans le schéma I.27 :

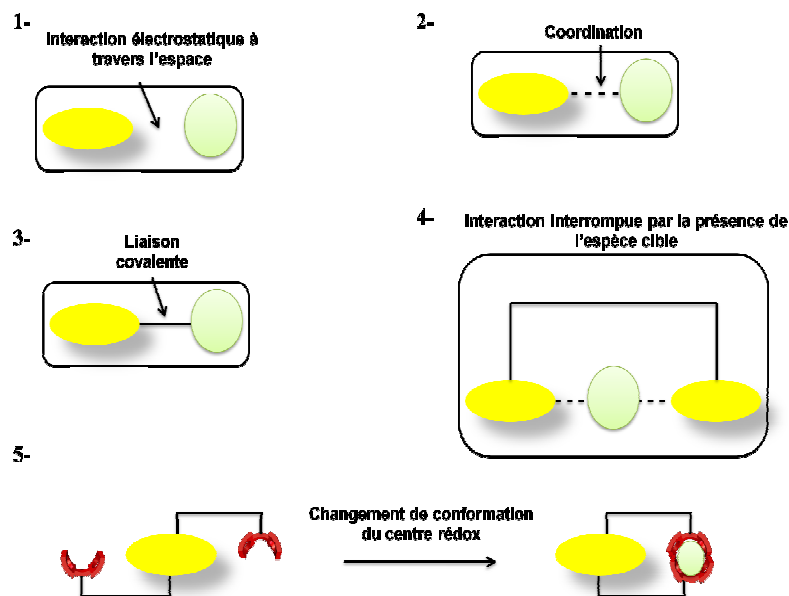
1. à travers l'espace *via* des interactions électrostatiques entre l'unité signalétique et l'espèce cible complexée<sup>93</sup>;
2. par formation de liaisons additionnelles entre l'unité signalétique et l'espèce cible complexée<sup>94</sup>;
3. à travers un système de liaisons chimiques conjuguées reliant l'unité signalétique au site de complexation<sup>95</sup> ;

<sup>93</sup> Saji, T., *Chem. Lett.*, 13, **1986**, 275-6.

<sup>94</sup> Beer, P. D. ; Gale, P. ; Chen, Z. ; Drew, M. ; Heath, J. A. ; Ogden, M. ; Powell, H. R., *Inorg. Chem.*, **1997**, 36, 5880-93.

<sup>95</sup> Beer, P. D. ; Blackburn, C. ; McAleer, J. F. ; H. Sikanyika, *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 378-81.

4. par interférence de l'espèce cible dans la communication entre deux unités signalétiques voisines<sup>96</sup>;
5. par un changement de conformation du récepteur suite à la complexation de l'espèce cible, ce qui induit une perturbation des propriétés de l'unité signalétique<sup>97,98</sup>.



*Schéma I.27 : mécanismes de transfert de l'information entre le site de reconnaissance et le centre électroactif d'un récepteur rédox-actif.*

### V.2.2.3. Étude thermodynamique du phénomène de reconnaissance électrochimique :

Dans le cas particulier de la reconnaissance électrochimique, le phénomène de complexation n'est pas seulement défini par un simple équilibre entre un état libre et un état complexé du récepteur, mais par une série d'équilibres mettant en jeu plusieurs processus<sup>99</sup>. En effet, l'unité signalétique des récepteurs rédox-actifs peut intervenir au niveau de la complexation de l'espèce cationique en favorisant ou défavorisant la complexation du cation selon l'état rédox (oxydé ou réduit) du récepteur. Le mécanisme global mis en jeu peut être décrit à l'aide du schéma carré<sup>100</sup> représenté dans le schéma I.28.

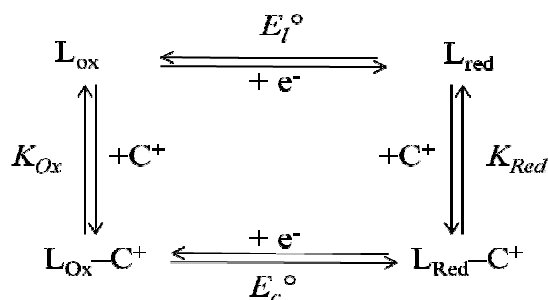
<sup>96</sup> Beer, P. D. ; Chen, Z.; Drew, M. G. B. ; P. A. Gale, *J. Chem. Soc., Chem. Com.*, **1995**, 1851-1852.

<sup>97</sup> Beer, P. D. ; Gale, P. A. ; G. Z. Chen, *Coord.Chem. Rev.*, **1999**, 185-186, 3-36.

<sup>98</sup> Beer, P. D. ; Chen, Z. ; Grieve, A. ; Haggitt, J., *J. Chem. Soc.Chem. Com.*, **1994**, 2413-14.

<sup>99</sup> Beer, P. D. ; Gale, P. A. ; Chen, G. Z., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1999**, 1897-910.

<sup>100</sup> Miller, S. R. ; Gustowski, D. A. ; Chen, Z. H. ; Gokel, G.; Echegoyen, L. ; Kaifer, A., *Anal. Chem.*, **1988**, 80, 2021-2024.



**Schéma I.28 :** schéma carré résumant les équilibres mis en jeu au cours de la complexation d'un cation par un récepteur rédox-actif<sup>101</sup>.

$E_l^0$  et  $E_c^0$  représentent respectivement les potentiels standards d'oxydation du récepteur libre et du récepteur complexé.  $K_{Ox}$  est la constante d'association entre le récepteur sous sa forme oxydée et le cation et  $K_{Red}$  est la constante d'association entre le récepteur sous sa forme réduite et le cation.

L'analyse thermodynamique de ce schéma carré conduit à la relation suivante :

$$\Delta E = E_c^0 - E_l^0 = \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{K_{Red}}{K_{Ox}} \right) \quad \text{Équation 1} \quad \text{avec : } K_{Red} = \frac{[L_{Red-C^+}]}{[L_{Red}][C^+]} \quad \text{et} \quad K_{Ox} = \frac{[L_{Ox-C^+}]}{[L_{Ox}][C^+]}$$

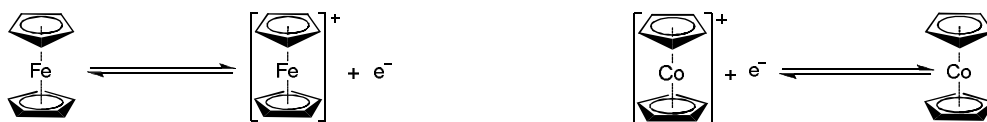
Cette relation est générale (ligand oxydable ou réductible, complexation d'anion ou de cation) et permet, par la mesure de  $\Delta E$ , de déterminer la balance des forces de complexation entre l'analyte et les formes oxydée et réduite du récepteur. Il apparaît ainsi que si les valeurs de  $K_{Ox}$  et  $K_{Red}$  sont proches,  $\Delta E$  est faible (même pour des valeurs de  $K_{Ox}$  et  $K_{Red}$  élevées) et aucun phénomène de reconnaissance électrochimique n'est observable.  $\Delta E$  devient important lorsque les valeurs de  $K_{Ox}$  et  $K_{Red}$  sont très différentes. Pour que cette condition soit vérifiée, il est nécessaire que l'introduction d'une charge positive (par oxydation) ou d'une charge négative (par réduction) sur le récepteur entraîne une dissymétrie dans la balance des interactions. Ceci nécessite que le site de complexation soit dans un environnement suffisamment proche du centre rédox pour traduire cette interaction électrostatique. Il apparaît donc qu'il n'existe pas de bijection entre les propriétés de complexation d'un récepteur rédox-actif et ses propriétés de reconnaissance électrochimique : une complexation forte n'est pas une condition suffisante pour une reconnaissance électrochimique efficace. C'est le premier obstacle qui est rencontré dans la conception de récepteurs rédox-actifs.

#### V.2.2.4. Les sondes rédox :

Les unités signalétiques les plus fréquemment utilisées dans la conception de récepteurs rédox-actifs de cations sont des composés organométalliques de la famille des métallocènes,

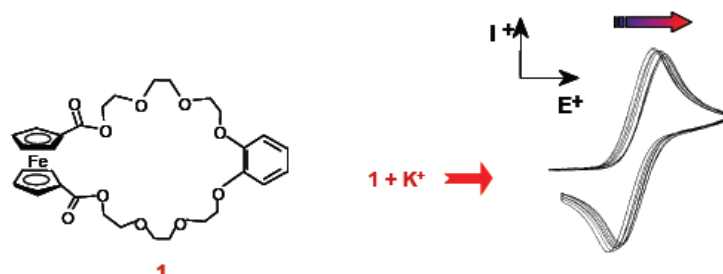
<sup>101</sup> Baldo, M. A. ; Bragato, C. ; Mazzocchin, G. A. ; Daniele, S., *Electrochim. Acta*, **1998**, 43, 3413-22.

comme le cobaltocénium et surtout le ferrocène<sup>1,2</sup>. Leur électroactivité est simple et caractérisée par un système monoélectronique réversible. Le transfert électronique s'effectue formellement sur le centre métallique entraînant la réduction du Co(III) en Co(II) ou l'oxydation du Fe(II) en Fe(III) pour former respectivement les espèces cobaltocène et ferricinium (*Schéma I.29*).



**Figure I.29** : *oxydation du ferrocène et réduction du cobaltocénium.*

Le centre rédox peut être directement impliqué dans le phénomène de complexation. Ainsi, dans le cas du cobaltocénium, sa réduction conduit à une espèce neutre ce qui entraîne une diminution des interactions électrostatiques répulsives initiales entre le récepteur (*via* l'unité signalétique) et le cation complexé. Au contraire, l'oxydation du ferrocène en ferricinium a pour effet d'abaisser la force de complexation, suite à la formation d'interactions électrostatiques défavorables entre le cation métallique complexé et le ferricinium. Par exemple, dans le cas de la reconnaissance électrochimique cationique (*Schéma I.28*), suite à l'établissement de répulsions électrostatiques entre la forme oxydée ( $L_{Ox}$ ) d'un récepteur ferrocénique et un cation complexé, la valeur de la constante  $K_{Ox}$  sera plus faible que celle de  $K_{Red}$ . Le rapport  $K_{Red}/K_{Ox}$  devenant supérieur à 1,  $\Delta E$  est alors positif (déplacement du potentiel de demi-vague du complexe formé vers les potentiels positifs) (*Schéma I.30*). Toutefois, dans certains cas particuliers, lorsque le phénomène de complexation entraîne une modification structurale importante pour le récepteur, à la relation (1) s'ajoute alors un terme  $\Delta G_{MS}$  (enthalpie libre correspondant à la modification structurale) et dans ce cas,  $\Delta E$  ne dépend plus uniquement du rapport entre  $K_{Red}$  et  $K_{Ox}$  (*Schéma I.28*).



**Figure I.30** : *Exemple : courbes de voltampérométrie cyclique sur électrode de platine du composé 1 dans  $CH_3CN + 0,1 \text{ mol/L TBAP}$ , suite à l'ajout de quantités croissantes de cation potassium<sup>102</sup>.*

<sup>102</sup> Moutet, J.C. ; Saint-Aman, E. ; I. Ion, *J. Electroanal. Chem.*, **1996**, 415, 187-89.

Expérimentalement, l'étude de la modification de l'électroactivité du récepteur en présence de l'espèce cible est principalement réalisée selon les deux méthodes électrochimiques suivantes :

- la voltampérométrie cyclique à balayage linéaire de tension (VC)
- la voltampérométrie à impulsion différentielle (DPV).

### V.3. État de la littérature :

L'examen de la littérature a montré que les électrodes modifiées par des unités complexantes ont surtout été utilisées pour la détection des ions alcalins et alcalino-terreux et de métaux lourds tels que le plomb. Le cas des métaux de transition a été peu étudié. En particulier, on trouve très peu d'exemples dédiés à la détection, surtout électrochimique, de l'ion ferrique.

Dans le cas des polymères, le fer ferrique est un cation oxydant employé comme agent dopant pour les polymères conducteurs afin d'augmenter leur conductivité. Ce phénomène d'oxydation peut entrer en compétition avec le processus de chélation lorsque l'on expose un polymère chélatant à une solution de ce métal.

En ce qui concerne les monocouches autoassemblées, la difficulté dans ce cas provient de la mise au point de motifs électroactifs immobilisables sélectifs du fer(III). Ces derniers sont constitués, en général, d'un site de chélation sensible et leur mise en œuvre nécessite des étapes de synthèse délicate de protection /déprotection. De plus, la structure des chélateurs de fer, surtout les composés hexadentates, est très ramifiée ce qui gêne l'organisation de la molécule cible au sein des monocouches.

Nous allons présenter quelques exemples de travaux réalisés très récemment sur les électrodes modifiées contenant des sites chélateurs d'ion ferriques. Ils sont classés selon la nature de déposition : soit électropolymérisation, soit chimisorption.

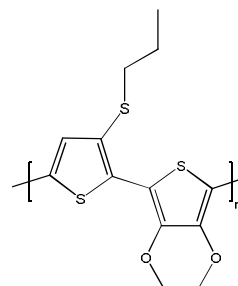
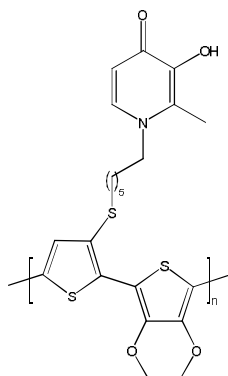
#### V.3.1. Capteur à base de polymère :

En 2009, Moggia et al<sup>103</sup> ont décrit un système de reconnaissance spécifique du fer(III) basé sur l'assemblage d'une unité de reconnaissance, formée d'un sidérophore hydroxypéridinone (HPO), correctement fonctionnalisé par un groupe électroactif électropolymérisable (EDOT) (*Figure I.31*).

---

<sup>103</sup> Moggia, F. ; Fages, F. ; Brisset, H. ; Chaix, C. ; Mandrand, B. ; Levillain, E. ; Roncali, J., *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2009**, 626, 42–46.

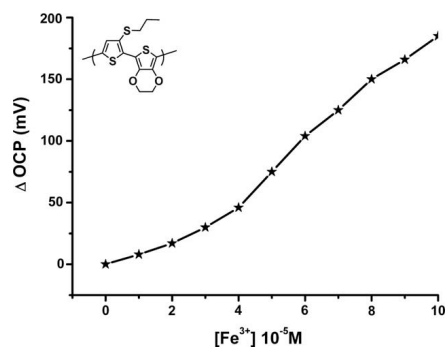
Le monomère a été électropolymérisé sur une surface d'or. Les auteurs ont pu, au cours de cette dernière expérience, observer la formation d'un film conducteur poreux constitué d'un polymère conjugué fonctionnalisé par des HPO. La réponse électrochimique de ce polymère formé a été examinée en présence de différents cations dans la solution et comparée à celle d'un polymère modèle non chélatant (*Figure I.32*).



*Figure I.32 : Polymère modèle non chélatant*

*Figure I.31 : Polymère substitué par des HPO*

La figure I.33 présente l'évolution du potentiel d'équilibre de la cellule d'électrolyse en fonction de la quantité de perchlorate de fer(III) ajoutée, pour le polymère modèle. Dès le premier ajout de perchlorate de fer(III), une augmentation du potentiel d'équilibre est observée. Selon les auteurs, cette augmentation est due à l'oxydation du squelette polythiophénique par les ions ferriques présents en solution.

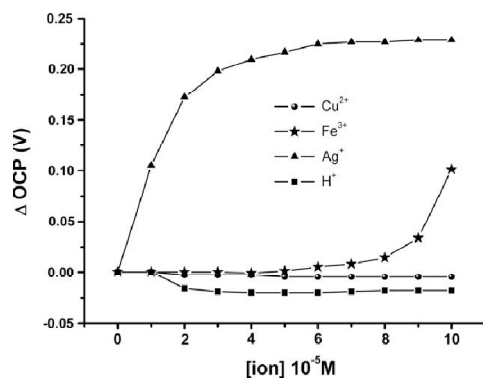


*Figure I.33*

Dans le cas du polymère substitué par des HPO, les auteurs ont constaté que la variation du potentiel d'équilibre n'intervient qu'à partir d'une concentration seuil en ions Fe<sup>3+</sup>, alors que dans le cas de polymère modèle cette variation est immédiate. L'influence d'autres ions comme Cu<sup>2+</sup>, H<sup>+</sup>, Ag<sup>+</sup> a été également examinée afin de comparer leur réponse électrochimique avec celle du Fe<sup>3+</sup>. Dans le cas du H<sup>+</sup>, aucun effet sur le potentiel d'équilibre n'a été observé. Dans les conditions expérimentales, les potentiels d'équilibre, mesurés par les

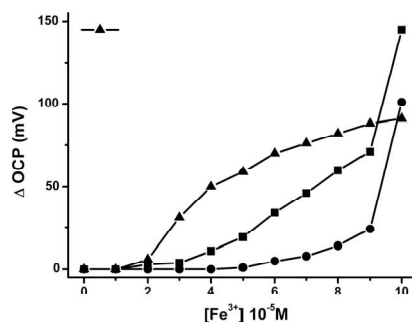


auteurs, pour le polymère (HPO),  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Ag}^+$  sont respectivement 0.42, 0.60, 0.14 et 0.57 V. Selon ces données expérimentales, l'oxydation du polymère (HPO) peut se faire uniquement dans le cas du  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Ag}^+$  qui possèdent un potentiel supérieur à celui du polymère. En effet, dès le premier ajout, l'oxydation du polymère en présence des ions  $\text{Ag}^+$  a été observée (*Figure I.34*).



**Figure I.34**

L'effet des ions  $\text{Fe}^{3+}$  sur les polymères peut s'expliquer par leur aptitude à oxyder le squelette polythiophène (phénomène de dopage) et ce, dès que leur concentration excède celle des sites chélatants disponibles. Dans le cas du polymère incorporant un site chélatant (HPO), le phénomène observé par les auteurs ne peut s'expliquer que si la chélation des ions intervient. Ceci a été confirmé également par la dépendance de la concentration seuil en fonction de l'épaisseur du film de polymère déposé (*Figure I.35*).



**Figure I.35**

### V.3.2. Capteur à base de monocouche autoassemblée sur or :

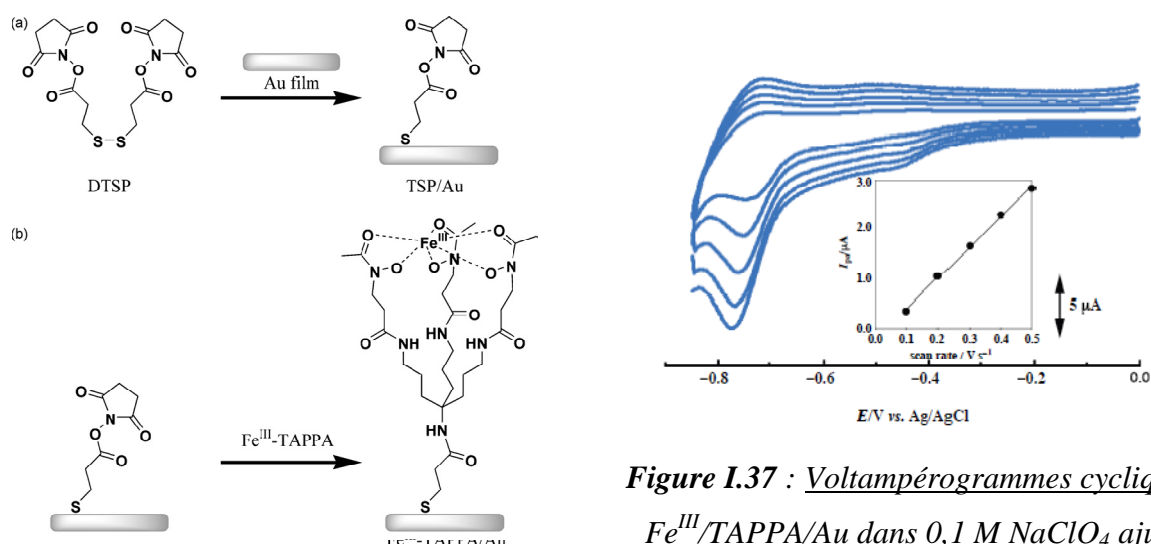
L'un des rares exemples de sidérophore immobilisé sur surface d'or est celui décrit en 2007 par Masuda et al.<sup>104</sup>. Les auteurs ont présenté des travaux très intéressants sur

<sup>104</sup> Inomata, T. ; Eguchi, H. ; Matsumoto, K. ; Yasuhiro, F. ; Tomohiro, Ozawa ; Masuda, H., *Biosensors and Bioelectronics*, **2007**, 23, 751–755

l'utilisation d'un analogue de ferrichrome (TAPPA) immobilisé sur surface d'or pour la reconnaissance de protéines bactériennes. La modification de la surface d'or par le complexe  $Fe^{III}$ -TPPA a été effectuée, par post-fonctionnalisation, en deux étapes (*Figure I.36*) :

- a) La première étape consiste à accrocher la molécule DTSP contenant un ester activé (*Figure I.36 (a)*). ;
- b) La seconde étape est le couplage peptidique entre l'amine du TPPA et l'ester activé de la monocouche TSP-Au préformée (*Figure I.36 (b)*).

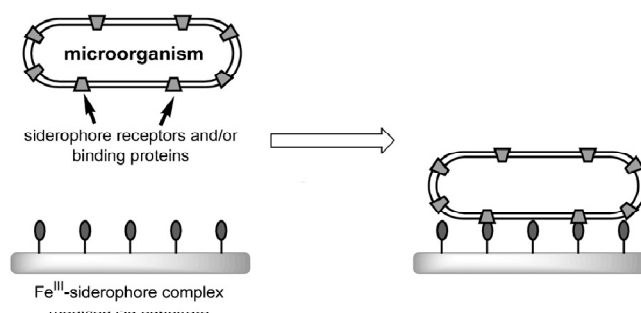
La formation de la monocouche  $Fe^{III}$ -TAPPA/Au a été confirmée par le voltampérogramme cyclique ci-dessous. La courbe indique la relation linéaire entre la vitesse de balayage et l'intensité de courant.



**Figure I.37 :** Voltampérogrammes cycliques de  $Fe^{III}$ /TAPPA/Au dans 0,1 M  $NaClO_4$  ajusté à pH 7 avec un tampon (0,1 M). les vitesses de balayages sont de 0,1 à 0,5  $V s^{-1}$ .

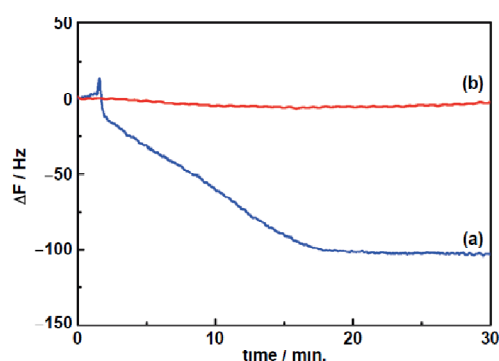
**Figure I.36 (a)** Auto-assemblage de la monocouche TSP déposée sur Au. (b) couplage de  $Fe^{III}$ -TAPPA avec la monocouche TSP.

Les auteurs ont étudié par la suite l'adsorption de la *M. flavescens* sur la monocouche  $Fe^{III}$ -TAPPA/Au. Selon les auteurs, le complexe  $Fe^{III}$ -TAPPA présente une activité biologique pour *flavescens* suggérant que  $Fe^{III}$ -TAPPA peut traverser la membrane cellulaire du microorganisme pour reconnaître des protéines affines (*Figure I.38*).



**Figure I.38 :** Stratégie d'adsorption des micro-organismes sur le substrat Au modifié par le complexe sidérophore / Fe<sup>III</sup>.

Les expériences d'adsorption de *M. flavescens* avec Fe<sup>III</sup>-TAPPA/Au ont été examinées par des mesures optiques, microscopie à force atomique et microbalance à quartz (QCM). Ces résultats indiquent clairement que les complexes Fe<sup>III</sup>-TAPPA/Au peuvent immobiliser *M. flavescens*. Cette caractéristique d'adsorption est due à l'interaction entre Fe<sup>III</sup>-TAPPA /Au et des protéines au sein de la membrane cellulaire. Après immobilisation du complexes Fe<sup>III</sup>-TAPPA sur de la surface d'or déposée sur le cristal de quartz QCM, le capteur de masse de QCM a été plongé dans une solution tampon phosphate 0,1 M à pH 7 et une petite quantité de *M. flavescens* a été ajoutée à cette solution. Après l'ajout des milieux de culture de *M. flavescens*, la fréquence de Fe<sup>III</sup>-TAPPA/Au a diminué graduellement (*Figure I.39*). Dans le cas de TSP/Au, l'ajout d'une solution contenant du *M. flavescens* ne provoque aucun changement de fréquence (*Figure I.39*). Ce résultat indique que *M. flavescens* n'est adsorbé que si Fe<sup>III</sup>-TAPPA existe sur la surface.



**Figure I.39 :** La détection de l'adsorption de *M. flavescens* par des mesures de QCM. Le changement de fréquence du cristal de quartz modifié par : (a) Fe<sup>III</sup>-TAPPA, et (b) TSP.

# **Chapitre II :**

# **Problématique et enjeux du travail**

## ***Table des matières***

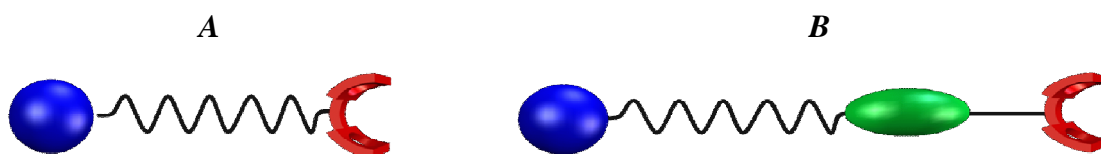
I.Problématique et enjeux du travail : .....	43
I.1.Introduction : .....	43
I.2.Méthodologie et objectifs : .....	43
I.2.1.Capteur électrochimique de Fe(III) : .....	43
I.2.2.Interaction protéine/ligand : .....	44
I.3.Choix des molécules cibles : .....	45
I.3.1.Choix de la fonction d'accroche : .....	45
I.3.2.Choix des sondes rédox : .....	46
I.3.3.Choix des espaceurs : .....	48
I.3.4.Choix des groupes fonctionnels : .....	49
I.4.Conclusion : .....	50

## I. Problématique et enjeux du travail :

### I.1. Introduction :

Dans le cadre de notre travail, il nous a semblé judicieux de mettre à profit les propriétés électrochimiques spécifiques des sidérophores fonctionnalisés ou non par une sonde rédox afin de développer des applications dans le domaine de la reconnaissance moléculaire (transduction électrochimique). Pour cela, nous proposons d'étudier deux types de structure dédiés à la reconnaissance spécifique de  $\text{Fe}^{3+}$  :

- Une structure formée d'un sidérophore seul (*Schéma II.1-A*),
- Une seconde structure où le sidérophore est couplé à une sonde électroactive (*Schéma II.1-B*).

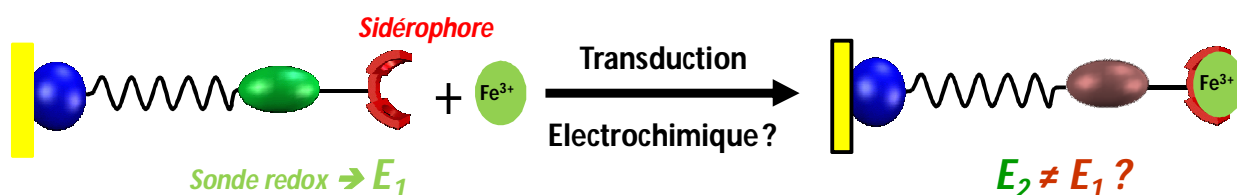


*Schéma II.1 : Structure des molécules cibles*

### I.2. Méthodologie et objectifs :

#### I.2.1. Capteur électrochimique de Fe(III) :

Pour un premier objectif, nous nous sommes orientés vers la conception de composés originaux capables de répondre avec une haute sélectivité à la présence de  $\text{Fe}^{3+}$ . Notre approche exige l'élaboration d'une électrode modifiée par une monocouche auto-assemblée fonctionnalisée par un sidérophore associé à une sonde électroactive, qui assurera la transduction électrochimique (*Schéma II.2*).

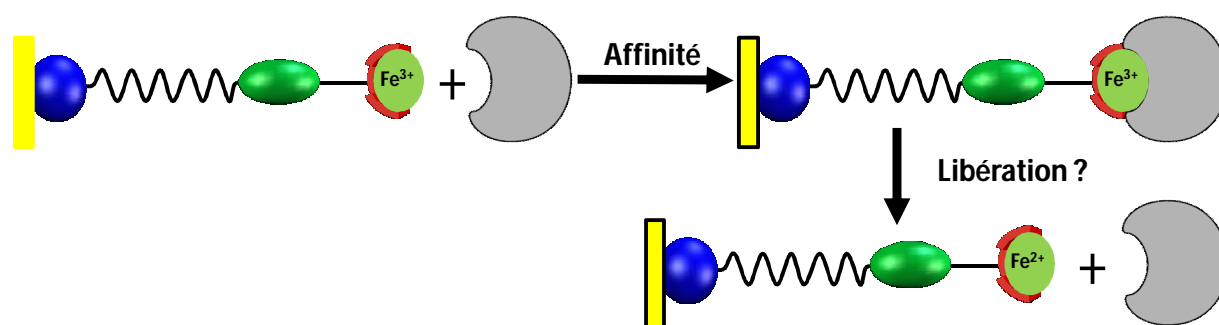


*Schéma II.2 : la structure du sidérophore change lors de l'étape de reconnaissance*

La détection, principal verrou technologique de ce projet, reposera sur la modification du potentiel rédox de la sonde lorsque son environnement électronique est modifié par la proximité du Fer(III) complexé par le sidérophore.

### I.2.2. Interaction protéine/ligand :

Le deuxième objectif repose sur l'élaboration des dispositifs moléculaires capables de reconnaître et de libérer une macromolécule donnée. Le principe de reconnaissance est basé sur l'interaction spécifique d'une protéine pour un ligand (interactions faibles) et, dans le cas présent, sur les interactions sidérophore-Fe(III)/protéine affine. Le schéma de principe d'un tel dispositif est présenté ci-dessous.



*Schéma II.3 : La structure du sidérophore change lors de l'étape de réduction, ce qui conduit à une perte d'affinité entre le sidérophore et la protéine*

Outre les difficultés inhérentes de ce type d'étude (synthèse, caractérisation et élaboration), il faudra s'assurer que l'affinité spécifique ligand-protéine au sein du dispositif est conservée et que la réduction électrochimique du  $\text{Fe}^{3+}$  entraîne la libération de la protéine en solution. Ces dispositifs pourraient présenter des applications potentielles relatives à la purification de protéines.

Compte tenu des facteurs d'ordre structural et électronique que nous venons d'évoquer en tant que critères favorables à l'accès à des matériaux de haute sélectivité, nous allons exposer les différentes orientations qui nous ont guidées dans le choix des molécules afin d'obtenir nos ligands.

### I.3. Choix des molécules cibles :

Les matériaux élaborés dans le cadre de ma thèse nécessitent la préparation des molécules cibles constituées de plusieurs éléments : une fonction d'accroche, un espaceur, un groupement complexant terminal et une sonde rédox.

La structure générale des molécules cibles peut être représentée par le schéma suivant :

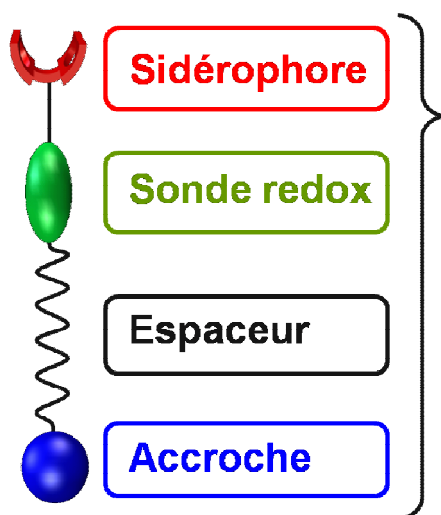


Schéma II.4 : Molécules types

Chaque élément a son rôle propre et ses critères spécifiques pour répondre à une transduction électrochimique.

#### I.3.1. Choix de la fonction d'accroche :

La majorité des travaux consacrés à la modification d'électrodes utilisent des surfaces de platine<sup>105,106,107</sup>, d'oxyde de titane et d'étain<sup>108,109,110</sup>, de carbone vitreux<sup>111</sup> et d'or<sup>112</sup> ... etc. Or, le choix de la fonction d'accroche est fortement lié à la nature du métal sur lequel nous désirons immobiliser la monocouche. Les composés organo-soufrés, utilisés dans le cadre de ma thèse, sont connus par leur forte affinité avec les métaux de transition, tels que l'or<sup>9</sup>,

<sup>105</sup> Rmaile, H. H. ; Schlenoff, J. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 6602-6603.

<sup>106</sup> Li, D. ; Jiang, Y. ; Li, C. ; Wu, Z. ; Chen, X. ; Li, Y., *Polymer.*, **1999**, 40, 7065-7070.

<sup>107</sup> Finklea, H. O. ; Robinson, L. R. ; Blackburn, A. ; Richter, B. ; Allara, D. ; Bright, T., *Langmuir.*, **1986**, 2, 239-244.

<sup>108</sup> Shi, L. ; Lu, Y. ; Sun, J. ; Zhang, J. ; Sun, C. ; Liu, J. ; Shen, *J. Biomacromolecules.*, **2003**, 4, 1161-1167.

<sup>109</sup> Paddon, C. A. ; Marken, F., *Electrochem. Commun.*, **2004**, 6, 1249-1253.

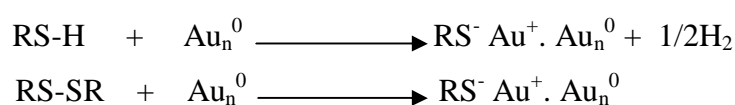
<sup>110</sup> Ram, M. K. ; Adami, M. ; Paddeu, S. ; Nicolini, C., *Nanotechnology*, **2000**, 11, 112-119.

<sup>111</sup> Lu, L.P. ; Wang, S.Q. ; Lin, X-Q., *Anal. Chim. Acta.*, **2004**, 519, 161-166.

<sup>112</sup> a) Poirier, G.E. ; Pylant, E.D., *Science*, **1996**, 272, 1145. b) Porter, M. D. ; Bright, T. B. ; Allara, D. L. ; Chidsey, C. E. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, 109, 3559. c) Dubois, L.H. ; Nuzzo, R.G., *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **1992**, 43, 437.



l'argent<sup>113</sup>, le cuivre<sup>114</sup>, le palladium<sup>115</sup>, le platine<sup>1,2,3</sup>, le mercure<sup>116</sup> et le fer<sup>117</sup>. La quasi-totalité des analyses vis-à-vis du transfert électronique sur des surfaces métalliques modifiées par des monocouches auto-assemblées de thiol ont été réalisées sur des substrats d'or. En effet, l'or et le soufre forment aisément des liaisons covalentes fortes (40 kcal mol<sup>-1</sup>)<sup>118</sup>, selon la réaction présentée en *Schéma II.5*. Les substrats d'or sont communément utilisés pour l'analyse de couches minces de composés organiques par différentes techniques : spectroscopie IR, spectroscopie de photoélectrons induits par rayons X (XPS), spectroscopie de résonance de plasmons de surface ou ellipsométrie. Enfin, l'or est un métal noble et son absence de toxicité le rend compatible avec les milieux biologiques<sup>119</sup>.



*Schéma II.5*

Il est important de signaler qu'au niveau de la synthèse, il faudra envisager l'utilisation d'un groupement protecteur afin d'éviter l'oxydation de la fonction thiol (S-H) avec l'air au cours des différentes étapes de synthèse.

### 1.3.2. Choix des sondes rédox :

La sonde rédox est l'élément clé de notre dispositif et il détermine la stratégie à mettre en œuvre pour synthétiser les molécules cibles. Les avantages majeurs de contenir un centre rédox dans un dispositif de complexation sont d'une part la mise en évidence du phénomène de complexation qui se traduit par une modification de la géométrie et/ou des propriétés électrochimiques et optiques et d'autre part le suivi de la construction du film auto-assemblé par électrochimie<sup>120,121</sup>.

Il a été nécessaire de répondre à différentes interrogations avant de choisir une telle ou telle sonde. Il nous fallait, en effet, trouver un motif capable de :

- Être électroactif dans l'eau.

<sup>113</sup> Fenter, P.; Eisenberger, P.; Camillone, N.; Bernasek, S.; Scoles, G.; Liang, K.S., *Langmuir*, **1991**, 7, 2013.

<sup>114</sup> Laibinis, P.E.; Whitesides, G.; Allara, D.L.; Tao, Y.T.; Parikh, A.N.; Nuzzo, R.G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 7152.

<sup>115</sup> Love, J.C.; Wolfe, D.B.; Haasch, R.; Paul, K.E.; Nuzzo, G., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 2597.

<sup>116</sup> Muskal, N.; Mandler, D. J., *Electroanal. Chem.*, **1996**, 409, 131.

<sup>117</sup> Volmer, M.; Stratmann, M.; Viefhaus, H., *Surf. Interface Anal.*, **1990**, 16, 278.

<sup>118</sup> Ulman, A., *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1533.

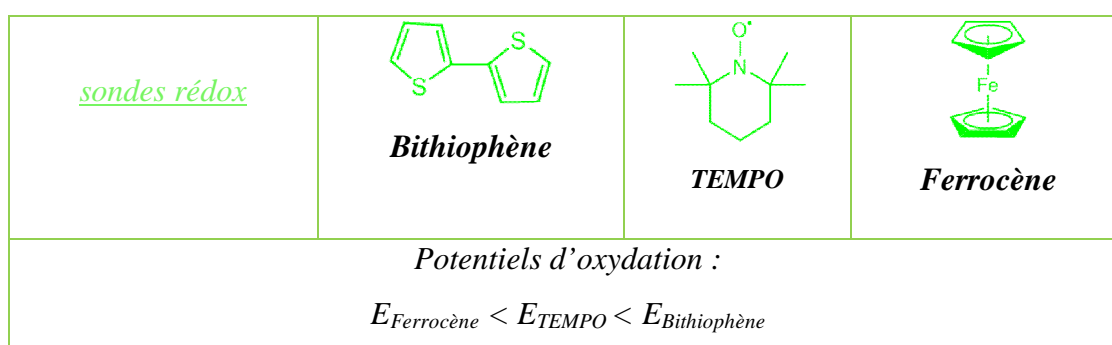
<sup>119</sup> Love, J. C.; Estroff, L. A.; Kriebel, J. K.; Nuzzo, R. G.; Whitesides, G.M., *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1103-1169.

<sup>120</sup> Stepp, J.; Schlenoff, J. B., *J. Electrochem. Soc.*, **1997**, 144, 155-157.

<sup>121</sup> Schlenoff, J. B.; Laurent, D.; Ly, H.; Stepp, J., *J. Adv. Mater.*, **1998**, 10, 347-349.

- Posséder un potentiel d'oxydation qui se situe entre des valeurs acceptables  $E \leq 1.5$  vs ECS.
- L'encombrement stérique de la sonde rédox et son organisation au sein du matériau sont également à prendre en compte pour assurer la stabilité des monocouches.
- Et surtout pouvoir le greffer sur un sidérophore sans en altérer les propriétés de reconnaissance.

Après vérification de ces critères, nous nous sommes orientés vers trois motifs de base : le bithiophène, le ferrocène et le radical nitroxy 2,2,6,6-tétraméthylpipéridinoxy (TEMPO) dont les potentiels d'oxydations sont différents (*Schéma II.6*).



**Schéma II.6 :**

En ce qui concerne le premier candidat, et bien que son potentiel d'oxydation soit un peu élevé, la présence simultanée de l'atome de soufre intra-cyclique et la délocalisation des électrons  $\pi$  sur les deux cycles de la molécule (un caractère aromatique et une géométrie plane), lui confère des propriétés électroniques<sup>122,123</sup> favorables à d'éventuelles interactions avec des ions métalliques piégé dans un ligand. En effet, ce concept a déjà fait ses preuves dans plusieurs exemples de la littérature<sup>124,125</sup>.

Le deuxième candidat choisi est le ferrocène, qui est une unité signalétique fréquemment utilisée dans divers domaines<sup>126,127,128,129</sup> et notamment dans la conception de récepteurs rédox-actifs de cations<sup>130,131,132</sup>. Cette unité est constituée de cations métalliques

<sup>122</sup> Ciszek, J.W. ; Tour, J.M., *Chem. Mater.*, **2005**, 17, 5684.

<sup>123</sup> Dou, R-F. ; Ma, X; Xi, L. ; Yip, H.L. ; Jia, J.F. ; Xue, Q.K. ; Yang, W.S. ; Ma, H. ; Jen A.K.Y., *Langmuir*, **2006**, 22, 3049.

<sup>124</sup> Bauerle, P. ; P.Scheib, P., *Acta.polym.*, **1995**, 46, 124-129.

<sup>125</sup> J. Lyskawa ; F. Le Derf ; E. Levillain ; M. Mazari ; M. Sallé ; S. Palacin., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 12194-12195

<sup>126</sup> Brosch, O. ; Weyhermueller, T. ; Metzler-Nolte, N., *Inorg. Chem.*, **1999**, 38, 5308.

<sup>127</sup> Baldoli, C. ; Licandro, E.; Rigamonti, C. ; Falciola, L. ; Longhi, M. ; Mussini, P. R., *J.Electroanal. Chem.*, **2005**, 585, 197.

<sup>128</sup> Yu, C. J. ; Yowanto, H. ; Donilon, L. ; Kayyem, J. F. ; Gozin, M.; Blackburn, G. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 6767.

<sup>129</sup> Pike, A. R. ; Ryder, L. C. ; Horrocks, B. R.; Clegg, W. ; Connolly, B. A. ; Houlton, A., *Chem. Eur. J.*, **2005**, 11, 344.

<sup>130</sup> Economou, A. ; Fielden, P. R., *Analyst*, **2003**, 128, 205-212.

<sup>131</sup> Mylonakis, A. ; Economou, A. ; Fielden, P. R. ; Goddard N. J. ; Voulgaropoulos, A., *Electroanalysis*, **2004**, 16, 524-531.

Fe(II) pris en "sandwich" entre deux cycles cyclopentadiényle. Son électroactivité est simple et caractérisée par un système monoélectronique réversible. Lors de ce processus, le transfert électronique s'effectue formellement sur le centre métallique entraînant l'oxydation du Fe(II) en Fe(III) pour former l'ion ferricinium. Nous avons pu être en possession d'un motif ayant, entre autre, une fonctionnalisation chimique assez aisée<sup>133,134</sup> et un potentiel d'oxydation assez bas.

Le troisième candidat, largement étudié au sein de notre équipe, possède un potentiel d'oxydation situé entre les potentiels des deux premiers candidats. Le TEMPO, radical nitroxyle non aromatique, est parmi les radicaux les plus stables chimiquement et électrochimiquement<sup>135,136,137</sup>. La stabilité de cette entité ainsi que ses propriétés électrochimiques et paramagnétiques intéressantes ont permis son utilisation dans de nombreuses applications. Par ailleurs, il est important de souligner que seul le TEMPO est électroactif dans l'eau contrairement aux deux autres sondes.

Encouragé par les résultats obtenus au laboratoire<sup>138,139,140</sup> sur monocouches auto-assemblées de molécules contenant le motif TEMPO récemment caractérisées par des techniques électrochimiques, nous nous sommes également intéressés à intégrer cette sonde dans notre dispositif.

### I.3.3. Choix des espaceurs :

De nombreux travaux ont mis en évidence que la nature de l'espaceur choisi avait une influence importante sur les caractéristiques structurales de la monocouche<sup>141</sup>. La longueur d'espaceur est également un paramètre important<sup>142</sup>. De par le type (van der Waals, liaison hydrogène,...) et le nombre d'interactions formées avec ces voisins, il va induire une organisation et une stabilité plus ou moins importante de la monocouche<sup>143,144</sup>. Comme les forces de van der Waals deviennent de plus en plus importantes lorsque la longueur de la chaîne croît, l'utilisation d'alcanethiol R-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-SH de taille suffisante améliore l'ordre et la

---

<sup>132</sup> Wang, J. ; Foster, N. ; Armalis, S. ; Larson, D. ; Zirino, A. ; Olsen, K., *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 310, 223-31.

<sup>133</sup> Collman, J. P. ; Devaraj, N. K. ; Chidsey, C. E. D., *Langmuir*, **2004**, 20, 1051.

<sup>134</sup> Collman, J. P. ; Devaraj, N. K. ; Eberspacher, T. P. A. ; Chidsey, C. E. D., *Langmuir*, **2006**, 22, 2457.

<sup>135</sup> H. O. Finklea, N. Madhiri, *J. Electroanal. Chem.*, **2008**, 621, 129.

<sup>136</sup> Finklea, H. O. ; Haddox, R. M., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2001**, 3, 3431.

<sup>137</sup> Niermann, N. ; Degefa, T. H. ; Steinhoff, H ; Speller, S., *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.*, **2006**, 74, 235424/1

<sup>138</sup> Alévêque, O. ; Seladji, F. ; Gautier, C. ; Dias, M. ; Breton, T. ; Levillain, E., *Chem. Phys. Chem.*, **2009**, 10, 2401.

<sup>139</sup> Alévêque, O. ; Blanchard, P-Y. ; Breton, T. ; Dias, M. ; Gautier, C. ; Levillain, E., *Electrochem. Com.*, **2009**, 11, 1776.

<sup>140</sup> Gautier, C. ; Alévêque, O. ; Seladji, F. ; Dias, M. ; Breton, T. ; Levillain, E., *Electrochem. Com.*, **2010**, 12, 79-82

<sup>141</sup> Brust, M. ; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, J.; Whyman, R., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1999**, 737.

<sup>142</sup> Ulman, A., *An Introduction to Ultrathin Organic Films: From Langmuir-Blodgett to Self-Assembly*, Boston, **1991**.

<sup>143</sup> Marcus, R. A., *Advances in Chemistry Series 50*, **1965**, 138.

<sup>144</sup> Ulman, A., *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1533.

stabilité. Il en ressort que des chaînes alkyles (8 à 15 carbones) sont connues pour favoriser l'organisation des monocouches et pour assurer une bonne stabilité de la liaison S-Au à l'oxydation.<sup>145</sup>

### I.3.4. Choix des groupes fonctionnels :

Les groupes fonctionnels ont été destinés à reconnaître le  $\text{Fe}^{3+}$  par complexation. L'emploi de sidérophores nous a permis d'obtenir des surfaces hydrophiles et ainsi de pouvoir adapter notre méthode à l'analyse de milieux aqueux tels que les milieux physiologiques.

Par ailleurs, la fonction hydroxamate, qui fait partie d'un ensemble de groupements coordinants étudiés dans différents programmes de recherche, est au centre de notre travail. Comme nous l'avons mentionné au premier chapitre, les hydroxamates sont connus pour complexer très efficacement les ions ferriques<sup>146</sup> mais très peu d'informations sont cependant disponibles au sujet de leur immobilisation sur une surface conductrice.

Notre choix s'est basé sur deux types de sidérophores ayant des exigences stériques différentes. Dans un premier temps, la mésylate de desferrioxamine B<sup>147</sup> (desféral<sup>®</sup>), sidérophore trihydroxamate commercial, sous forme d'une chaîne linéaire, et dans un deuxième temps, un analogue du ferrichrome constitué de trois bras hydroxamate, dont la synthèse a été récemment réalisée au laboratoire<sup>148</sup> et a permis de mettre en évidence le transport actif de ce type de sidérophore chez *C. albicans*. En revanche, les deux sidérophores comprennent deux parties nécessaires pour l'élaboration d'un capteur de  $\text{Fe}^{3+}$ :

- La partie de complexation du fer composée de trois groupements hydroxamates,
- Une fonction amine primaire qui rend le sidérophore modifiable, sans influencer ses propriétés de complexation.

---

<sup>145</sup> Nakai, H. ; Fujihara, H., *J. Organometal. Chem.*, **2000**, 611, 566-569.

<sup>146</sup> Pena, M. S. ; Zhang, Y. L. ; Thibodeaux, S. ; Warner, I. M., *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5841-5844.

<sup>147</sup> Fischer, C. ; Sarti, G. ; Casnati, A. ; Guardigli, M. ; Sabbatini, N. ; Ungaro, R. *Chem.Eur.J.* **2000**, 6, 1026-1034.

<sup>148</sup> Ouchetto, H. ; Dias, M. ; Mornet, R. ; Lesuisse, E. ; Camadro, J.M., *Bioorg. Med. Chem.* , **2005**, 1799.

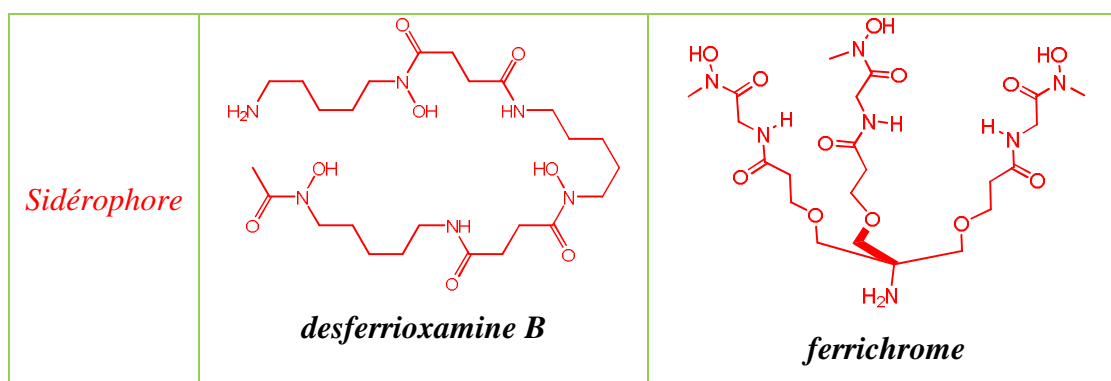


Schéma II.7

#### I.4. Conclusion :

Depuis quelques années, il y a un regain d'intérêt pour ces surfaces présentant des propriétés particulières grâce aux multiples possibilités de fonctionnalisation chimique des groupements terminaux. Cependant, il est aussi important de noter qu'il y a plusieurs paramètres à prendre en considération lors de la modification d'une surface d'or par une monocouche auto-assemblée de thiol : solvant<sup>149,150</sup>, concentration<sup>151,152</sup>, temps d'immersion, température, ...etc. Un grand nombre d'études ont été dédiées à ce sujet et les relations entre les propriétés de ces SAMs et ces paramètres ne sont pas encore tous bien définis.

Nous nous sommes donc intéressés à combiner, dans un même ensemble moléculaire, des fonctions hydroxamate et des sondes rédox afin de former des espèces électrochimiquement contrôlées en solution, et afin d'obtenir des précurseurs immobilisables. Les différentes structures qui ont été envisagées au cours de ma thèse combinent les sidérophores au motif ferrocène, TEMPO ou bithiophène. Dans un premier temps, la détection en solution est envisagée au moyen d'un réactif soluble. Dans un deuxième temps, la détection sera réalisée par l'intermédiaire des monocouches auto-assemblée sur surface d'or. Les différentes molécules cibles sont rassemblées dans le tableau suivant :





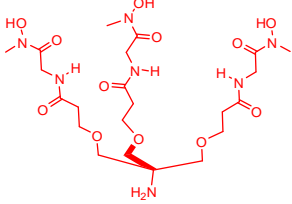
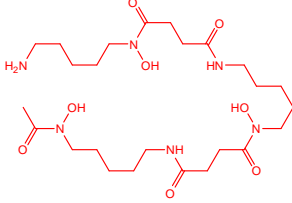
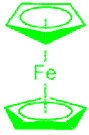
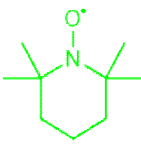
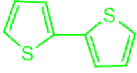
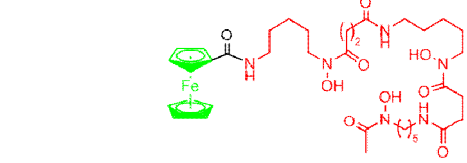
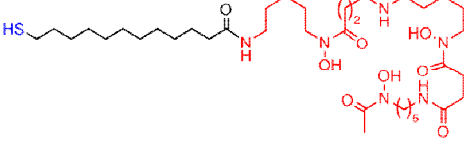
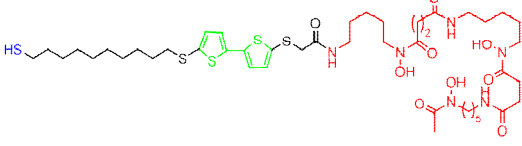
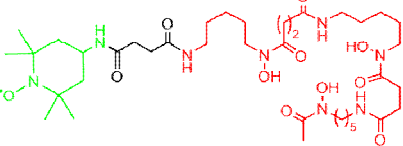
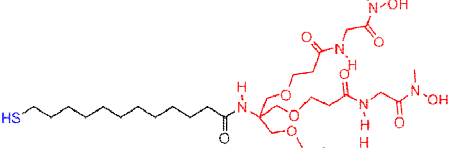
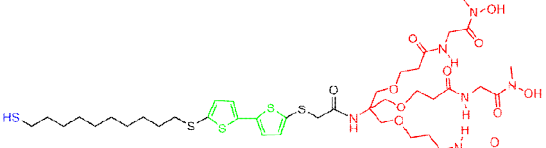
<sup>149</sup> Ravenscroft, M. S. ; Finklea, H. O., *J. Phys. Chem.*, **1994**, 98, 3843.

<sup>150</sup> Orłowski, G.A. ; Chowdhury, S. ; Kraatz, H.B., *Langmuir*, **2007**, 23, 12765.

<sup>151</sup> Bain, C. D. ; Troughton, E. B. ; Tao, Y. T. ; Evall, J. ; R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 321.

<sup>152</sup> Chidsey, C. E. D., *Science*, **1991**, 251, 919.

## Chapitre II : Problématique et enjeux du travail

			
<div style="text-align: center;">  <p><b><u>L1</u></b></p> </div>  <div style="text-align: center;">  <p><b><u>Desféral®</u></b></p> </div>	<div style="text-align: center;">  </div>  <div style="text-align: center;">  </div>  <div style="text-align: center;">  </div>	<p>Longueur de la chaîne alkyle :</p>  <p>10,11 carbones</p>	<div style="text-align: center;">  <p><b><u>L2</u></b></p> </div>  <div style="text-align: center;">  <p><b><u>L3</u></b></p> </div>  <div style="text-align: center;">  <p><b><u>L4</u></b></p> </div>  <div style="text-align: center;">  <p><b><u>L5</u></b></p> </div>  <div style="text-align: center;">  <p><b><u>L6</u></b></p> </div>  <div style="text-align: center;">  <p><b><u>L7</u></b></p> </div>

**Tableau II.1**

**Chapitre III :**  
**Synthèse des précurseurs**  
**immobilisables, analogues de la**  
**ferrioxamine B et du ferrichrome**

## ***Table des matières***

I. Synthèse des précurseurs immobilisables et complexants du fer(III) .....	54
I.1. Introduction : .....	54
I.2. Synthèse des analogues de la desferrioxamine B : .....	54
I.2.1. Synthèse des analogues de la DFOB sans sonde rédox: .....	56
I.2.1.1. Synthèse de thioacétylalcanoate de N-succinimidyle : .....	56
I.2.1.2. Couplage avec la DFOB : .....	57
I.2.2. Synthèse des analogues de la DFOB comportant une sonde rédox: .....	57
I.2.2.1. Synthèse d'un analogue de la DFOB incorporant un motif bithiophénique : .	57
a. Introduction : .....	57
c. Synthèse du 5,5'-bis(3-cyanoéthylsulfanyl)-2,2'-bithiophène .....	60
d. Déprotection du groupement cyanoéthyle .....	61
e. Introduction d'une chaîne alkyle .....	61
f. Déprotection des esters.....	62
g. Formation de l'ester activé : .....	63
h. Couplage avec la DFOB : .....	63
I.2.2.2. Synthèse des analogues de la DFOB comportant un motif ferrocène : .....	64
a. Préparation de l'ester activé : .....	64
b. Couplage avec la DFOB : .....	64
I.2.2.3. Synthèse des analogues de la DFOB comportant le motif TEMPO.....	65
a. Préparation de l'acide carboxylique <b>10</b> : .....	66
b. Couplage avec le 4-amino-TEMPO : .....	67
I.3. Synthèse des analogues du ferrichrome : .....	67
I.3.1. Introduction .....	67
I.3.2. Première approche : via un précurseur amino-triamide: .....	72
I.3.2.1. Schéma rétrosynthétique : .....	72
I.3.2.2. Synthèse du triester-butylique : .....	74
I.3.2.3. Protection de la fonction amine : .....	74
I.3.2.4. Déprotection des fonctions ster tert-butyliques : .....	75
I.3.2.5. Activation des fonctions acides carboxyliques : .....	75
I.3.2.6. Synthèse de l'acide hydroxamique : .....	76
I.3.2.7. Synthèse du triamide : .....	77
I.3.2.8. Déprotection de la fonction amine par hydrogénolyse : .....	78
I.3.2.9. Couplage du <b>L1</b> avec les esters activés : .....	78
I.3.3. Deuxième approche : via un couplage peptidique entre l' amino-triester butylique et les esters activés <b>2</b> et <b>8</b> : .....	80



## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

---

I.3.3.1. Introduction : .....	80
I.3.3.2. Introduction du dérivé alcanethioesters <b>2</b> : .....	81
I.3.3.2.1. Schéma retrosynthétique : .....	81
I.3.3.2.2. Couplage peptidique : introduction du dérivé <b>2</b> : .....	82
I.3.3.2.3. Déprotection des fonctions triester-butylques : .....	82
I.3.3.2.4. Activation du triacide : .....	82
I.3.3.2.5. Synthèse du triamide : .....	83
I.3.3.3. Introduction du dérivé bithiophénique <b>8</b> : .....	83

## I. Synthèse des précurseurs immobilisables et complexants du fer(III)

### I.1. Introduction :

Ce chapitre décrit la synthèse de deux séries de sidérophores destinés à la détection de cations Fe (III). Ces ligands sont constitués d'analogues de la desferrioxamine B (DFOB) et du ferrichrome.

La présentation et la synthèse des analogues de la DFOB, substitués par plusieurs sondes électroactives (ferrocène, bithiophène et TEMPO), sont exposées dans la première partie du chapitre.

La deuxième partie est consacrée à la synthèse des analogues du ferrichrome. Dans un premier temps, nous décrivons la première approche de synthèse des analogues du ferrichrome. Dans un second temps, nous présentons la deuxième approche de synthèse des deux molécules analogues du ferrichrome L6' et L7' substitués par une chaîne alcanethiol avec ou sans bithiophène.

### I.2. Synthèse des analogues de la desferrioxamine B :

La DFOB est un exemple de molécule complexante utilisé dans le domaine médical<sup>153</sup>. Cette molécule est un sidérophore (c'est-à-dire capable de complexer le fer) contenant trois motifs hydroxamate. Ce sidérophore tridroxamique forme avec le fer(III) des complexes extrêmement stables dans lesquels l'ion ferrique haut spin se trouve dans un environnement octaédrique<sup>154,155</sup>. La DFOB présente des propriétés complexantes avec d'autres ions métalliques tels que l'étain (II), galium (II), l'aluminium (III), le nickel (II), le zinc (II), le cuivre (II), le plomb (II)... Elle est ainsi utilisée dans les traitements d'intoxications chroniques ou aiguës liées à l'empoisonnement par le fer, l'aluminium et quelques métaux durs. Elle a été également utilisée avec du gallium 67 comme agent de contraste en imagerie médicale.

La DFOB a été utilisée en tant que matière première à des différents types de ligands décrits ci-dessous. Elle possède par ailleurs une fonction amine primaire ce qui permet une dérivatisation facile. De nombreux dérivés de ce sidérophore ont fait l'objet de plusieurs

---

<sup>153</sup> Kiss, T. ; Farkas, E., *Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry*, **1998**, 32, 385-403.

<sup>154</sup> Neilands, J.B., *Dans Microbial iron metabolism*. Academic Press, New York. **1974**.

<sup>155</sup> Raymond, K.N. ; Carrano, C.J., *Acc. Chem. Res.*, **1979**, 12. 183.

### Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

---

travaux dans la littérature parmi lesquels un dérivé fluorescent<sup>156</sup>, le NBD-DFOB<sup>157</sup>, un dérivé photoactivable<sup>158</sup>, ou bien encore des conjugués DFOB acide nalidixique et acide anthraquinone carboxylique capable de cliver l'ADN<sup>159</sup>. Ces composés ont permis de montrer que la dérivatisation de la DFOB n'affectait pas ces propriétés de complexation vis-à-vis du fer (III).

En pratique, la DFOB est très peu soluble dans les solvants organiques, pour cela il semblait judicieux d'introduire les différentes unités électroactives en une seule étape sur la DFOB. Dans cette optique, nous avons considéré un schéma synthétique dont l'étape-clé est le couplage peptidique entre l'amine primaire de la DFOB et les sondes électroactives porteuses d'une fonction ester activé (*Schéma III.1*). En effet, les couplages peptidiques sont des réactions simples et efficaces (hauts rendements). Elles sont menées dans des conditions douces et sont compatibles avec une large gamme de solvants et de groupements fonctionnels. De plus, ces réactions sont hautement sélectives et permettent généralement une purification aisée des composés obtenus. C'est pourquoi elles trouvent de plus en plus d'applications en chimie médicinale ou dans la recherche biomédicale.

---

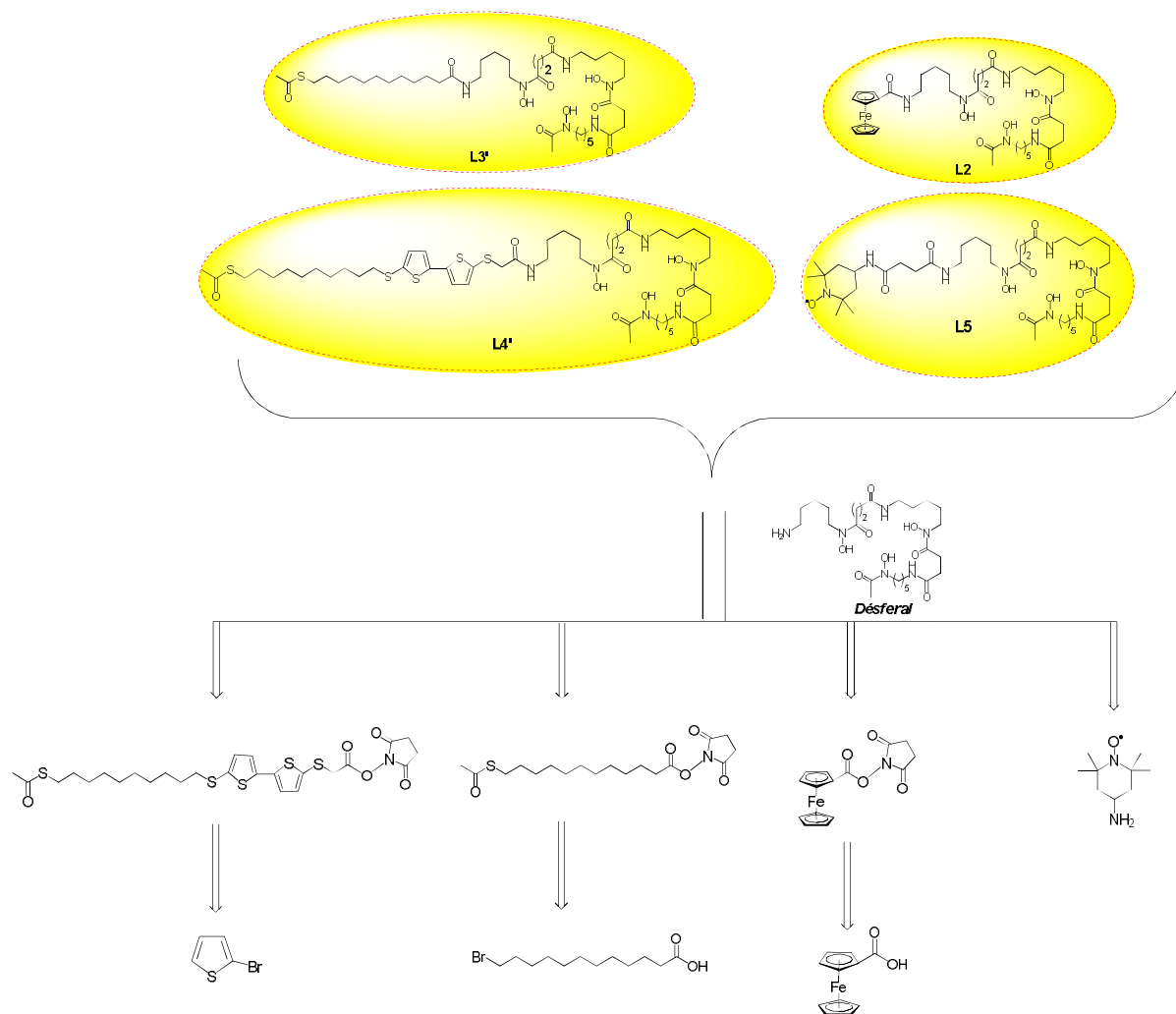
<sup>156</sup> Palanché, T. ; Marmolle, F. ; Abdallah, M.A. ; Shanzer, A. ; Albrecht-Gary, A-N. , *J. Biological Inorganic Chemistry*, **1999**, 4, 188-198

<sup>157</sup> Lytton, S. D. ; Cabantchik, Z. I. ; Libman, J. ; Shanzer, A. , *Molecular Pharmacology*, **1991**, 40, 584-590.

<sup>158</sup> Nelson, M. ; Carrano, C. J. ; Szaniszlo, P. J., *Biometals*, **1992**, 5, 37-46.

<sup>159</sup> Ghosh, M. ; Lambert, L.J. ; Huber, P.W. ; M.J. Miller, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **1995**, 5, 2337-2340.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome



### I.2.1. Synthèse des analogues de la DFOB sans sonde rédox :

#### I.2.1.1. Synthèse de thioacétalcanoate de N-succinimidyle :

L'accès à l'ester activé **2** a consisté dans un premier temps, selon la méthode décrite par Tremel<sup>160</sup>, à introduire une fonction thiol protégée sur l'acide 11-bromododécanoïque par l'action 1.5 équivalents de la thioacétate de potassium à 0 °C pendant 30 min pour conduire au composé **1** avec un rendement de 86 % (Schéma III.2), puis dans un second temps à estérifier la fonction acide carboxylique **1** avec le N-Hydroxysuccinimide (NHS) en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) dans le THF à température ambiante et sous atmosphère d'azote, pour conduire au produit **2** avec un excellent rendement (90 %) (Schéma III.2).

<sup>160</sup> Tahir, M. N. ; Théato, P. ; Muller, G. ; Schroder, H. C. ; Janshoff, A ; Zhang, J ; Huth, J ; Tremel, W. *Chem. Commun.* , **2004**, 2848 - 2849

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

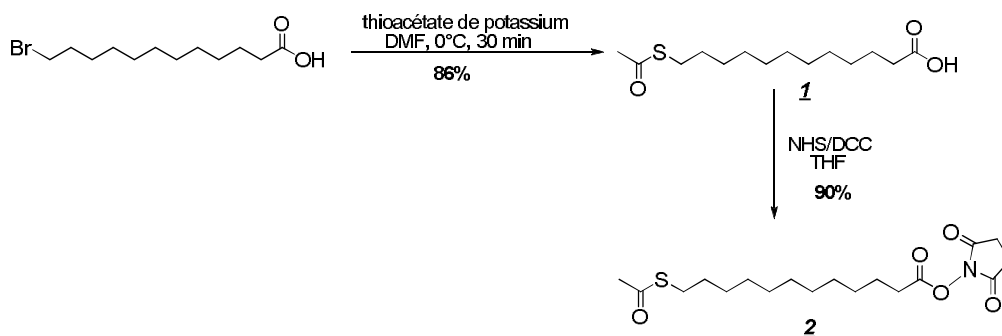


Schéma III.2

### I.2.1.2. Couplage avec la DFOB :

En pratique, la réaction de couplage entre la fonction amine de la DFOB et l'ester activé **2** se déroule dans le diméthylformamide amené à pH basique par ajout d'un excès d'une base organique (triéthylamine) qui permet de libérer la fonction amine de la DFOB qui se trouve sous forme de sel de mésylate. Nous avons également chauffé le milieu réactionnel à 50 °C afin d'augmenter la solubilité de la DFOB. Après recristallisation dans le méthanol, on obtient une poudre blanche **L3'** avec un rendement de 80 % (Schéma III.3).

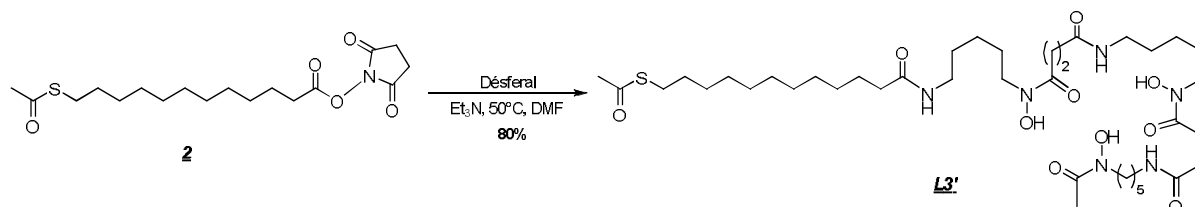


Schéma III.3

### I.2.2. Synthèse des analogues de la DFOB comportant une sonde rédox :

#### I.2.2.1. Synthèse d'un analogue de la DFOB incorporant un motif bithiophénique :

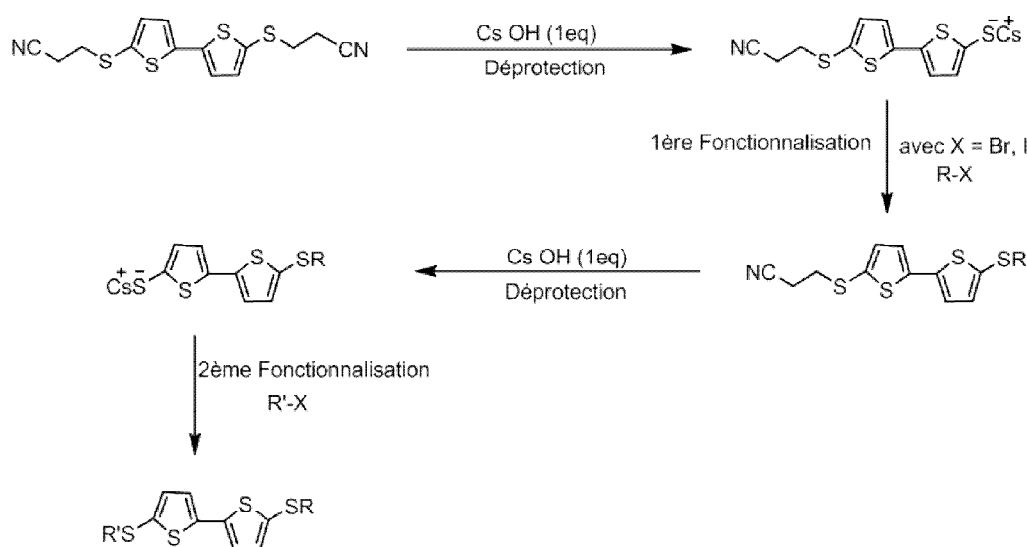
##### a. Introduction :

En 1994, Becher mit au point une nouvelle méthode de synthèse pour accéder aux dérivés TTF en utilisant le groupement cyanoéthyle comme groupe protecteur des fonctions thiolates<sup>161</sup>. Quelques années plus tard, cette nouvelle méthodologie a été exploitée au sein du

<sup>161</sup> Svenstrup, N. ; N. Rasmussen, N. ; Hansen, T.K. ; Becher, J., *Synthesis*, **1994**, 809.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

laboratoire non seulement pour le TTF<sup>162</sup>, mais elle a été également adaptée à d'autres composés tels que le motif bithiophène<sup>163,164</sup> ou le motif 3,4-éthylènedioxythiophène (EDOT)<sup>165,166</sup>. Elle permet une déprotection sélective de l'une des fonctions thiolate après addition du nombre d'équivalents approprié d'hydroxyde de sodium. Ainsi à partir du bithiophène porteur de deux groupements cyanoéthyle, l'accès sélectif et quantitatif au monothiolate est possible. Les thiolates ainsi générés peuvent être ensuite alkylés par un large panel de composés halogénés, ce qui permet l'accès à des molécules dissymétriques (*Schéma III.4*).



*Schéma III.4 : Protocole Général de Déprotection et Fonctionnalisation d'un Groupement Thiolate*

L'intérêt de cette méthode est :

- De permettre la libération facile et sélective des thiolates en milieu basique, qui pourront ensuite être aisément alkylés à l'aide d'halogénures variés ;
- Sa simplicité de mise en œuvre ;
- L'obtention de bons rendements ;
- Sa bonne reproductibilité ;
- L'élimination facile du groupement protecteur sous forme d'acrylonitrile.

<sup>162</sup> Fujihara, H. ; Nakai, H. ; Yoshihara, M. ; Maeshima, T., *Chem. Commun.*, **1999**, 737.

<sup>163</sup> Blanchard, P. ; Joussetme, B. ; Frère, P. ; Roncali, J., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 3961.

<sup>164</sup> Sanguinet, L. ; Alévêque, O. ; Blanchard, P. ; Dias, M. ; Levillain, E. ; Rondeau, D., *J. Mass Spectrom.* **2006**, 41, 830.

<sup>165</sup> Joussetme, B. ; Blanchard, P. ; Oçafraïn, M. ; Allain, M. ; Levillain, E. ; Roncali, J., *J. Mater. Chem.*, **2004**, 14, 421.

<sup>166</sup> Joussetme, B. ; Blanchard, P. ; Levillain, E. ; de Bettignies, R. ; Roncali, J., *Macromolecules*, **2003**, 36, 3020.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

Nous avons alors adopté cette méthode dans les premières étapes de la synthèse du dérivé **6**. Ce dernier a été tout d'abord obtenu en utilisant comme précurseur le 2,2'-bithiophène **3**, synthétisé à partir du 2-bromothiophène (*Schéma III.5*). Ensuite, l'introduction du groupement ester *tert*-butylique d'une part, et de la chaîne alkyle d'autre part, est réalisée en utilisant la voie de libération des thiolates en conditions douces mise au point au laboratoire. Enfin, la saponification de la fonction ester conduit sélectivement, après hydrolyse acide, au produit **Z**, ce dernier ayant été activé au moyen du DCC/NHS pour arriver à l'ester succinimide **8** (*Schéma III.5*).

Lors de la séquence réactionnelle, la fonction acide est protégée par un groupement *tert*-butyle et la fonction thiol grâce à une fonction acétate.

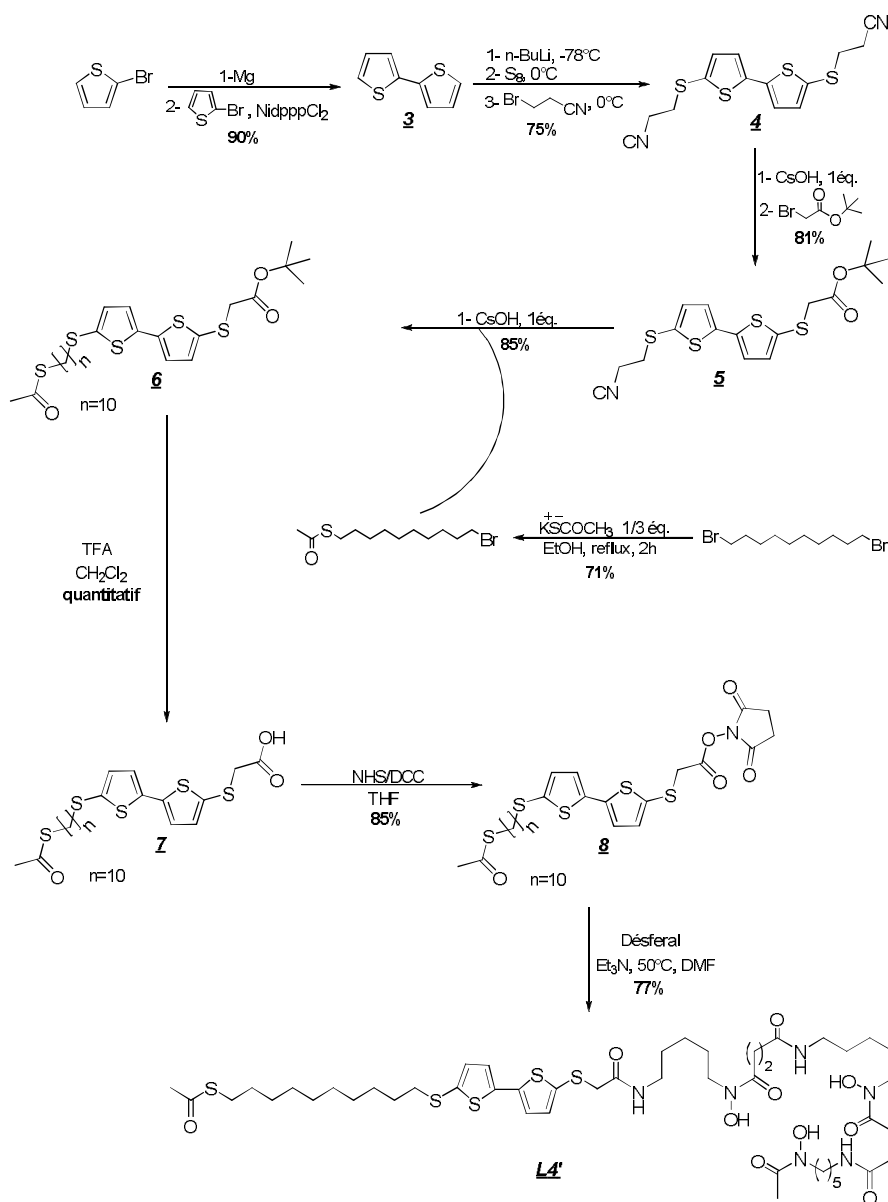


Schéma III.5

**b. Synthèse du 2,2'-bithiophène :**

Le 2,2'-bithiophène **3** a été synthétisé selon la méthode de Kumada<sup>167</sup> (Schéma III.6), cette méthode de synthèse fait appel au couplage d'un magnésien et d'un bromothiophène en présence d'un catalyseur comme le Ni(dppp)Cl<sub>2</sub> (dppp = 1,3-diphénylphosphinopropane).

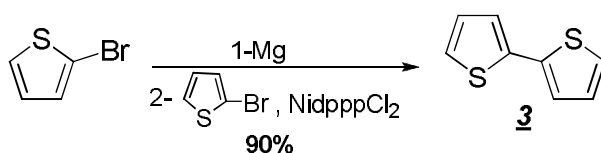


Schéma III.6

**c. Synthèse du 5,5'-bis(3-cyanoéthylsulfanyl)-2,2'-bithiophène**

La synthèse du 5,5'-bis(3-cyanoéthylsulfanyl)-2,2'-bithiophène **4** se fait avec de bons rendements (supérieurs à 70 %), à partir du bithiophène. La première étape est la formation du dilithien par addition de *n*-butyllithium à basse température. Ensuite, l'ajout de soufre conduit à un dérivé dithiolate, que l'on fait réagir ensuite avec du 3-bromopropionitrile pour former le produit dicyanoéthyle **4** (Schéma III.7).

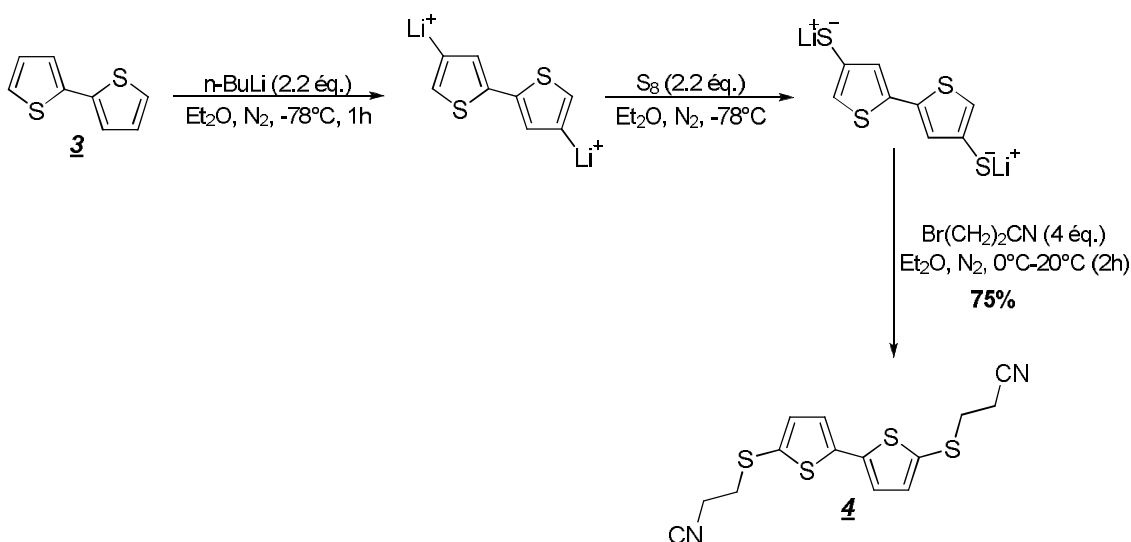


Schéma III.7

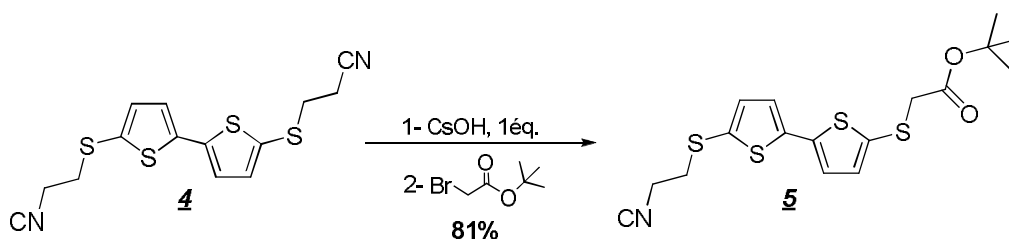
<sup>167</sup> Tamao, K. ; Kodama, S. ; Nakajima, I. ; Kumada, M. ; Mimato, A. ; K. Suzuki, *Tetrahedron*, **1982**, 28, 3347.



#### d. Déprotection du groupement cyanoéthyle

Conformément à la littérature, le groupement 2-cyanoéthyle est le meilleur groupement protecteur de la fonction thiolate<sup>168,169</sup>, et dont la déprotection est réalisée par l'hydroxyde de césium. Cette déprotection du groupement cyanoéthyle s'est révélée rapide et surtout quantitative.

L'action d'un seul équivalent d'hydroxyde de sodium sur le composé **4** permet de libérer un des deux groupes thiolate protégés par le groupe cyanoéthyle selon un mécanisme de  $\beta$ -élimination. En effet, après mono-fonctionnalisation du thiolate à l'aide du bromoacétate de *tert*-butyle, on obtient majoritairement le produit monosubstitué **5**, mélangé au produit disubstitué. Ces deux produits sont obtenus avec des rendements respectifs de 81 % et 11 % après séparation par chromatographie flash sur gel de silice (*Schéma III.8*).



*Schéma III.8*

#### e. Introduction d'une chaîne alkyle

Dans cette étape, nous avons d'abord voulu introduire des chaînes alcanethiol, *via* une substitution nucléophile des groupements thiolate issus du composé **5** sur la chaîne alkyle bromée. Ce dernier a été préparé par réaction de 1/3 d'équivalent de thioacétate de potassium<sup>170,171</sup> sur le 1,10-dibromodécane avec un rendement de 71 %. Ensuite, la déprotection des groupes cyanoéthyle du composé **5** en présence d'un équivalent d'hydroxyde de césium, suivie d'une réaction d'alkylation avec 2.5 équivalents de thioacétate de S-(10-bromodécyle) fournit le thioester **6** avec un rendement de 85 %. (*Schéma III.9*).

<sup>168</sup> Svenstrup, N. ; Rasmussen, K.M. ; Hansen, T.K. ; J. Becher, *Synthesis*, **1994**, 809.

<sup>169</sup> Blanchard, P., Joussemme, B., Frère, P., Roncali, J., *J.Org.Chem.*, **2002**, 67, 3961.

<sup>170</sup> Hudhomme, P. ; Le Moustarder, S. ; Durand, C. ; Gallego-Planas, N. ; Mercier, N. ; Blanchard, P. ; Levillain, E. ; Allain, M. ; Gorgues, A. ; Riou, A., *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7, 5070.

<sup>171</sup> Zhai, L. ; Pilston, R.L. ; Zaiger, K.L. ; Stokes, K.K. ; McCullough, R.D., *Macromolecules*, **2003**, 36, 61.

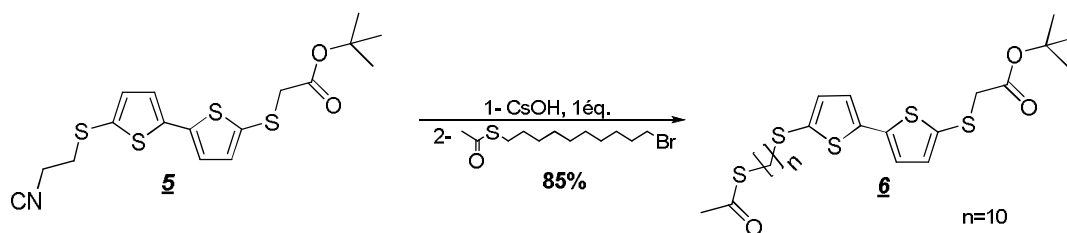


Schéma III.9

#### f. Déprotection des esters

La transformation de la fonction ester *tert*-butylique en acide dans le composé **6** a été réalisée selon deux stratégies différentes. La première repose sur le traitement de l'ester **6** avec un excès de bromure de zinc<sup>172</sup> puis addition d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (1 M). Cependant, dans ces conditions l'acide **Z** n'est obtenu qu'avec un faible rendement (15 %). En revanche, l'autre stratégie décrite par Chauvel<sup>173</sup> permet d'obtenir la fonction acide carboxylique, de manière quantitative, par déprotection sélective en présence d'acide trifluoroacétique (TFA), laissant par ailleurs le groupement thioacétate intact<sup>174</sup>. En pratique, le composé **6** est facilement hydrolysé par une solution d'acide trifluoroacétique à 50 % dans le dichlorométhane. Les solvants sont éliminés sous pression réduite et il est nécessaire de reprendre plusieurs fois la poudre obtenue dans le dichlorométhane afin d'entraîner le TFA résiduel. Dans ces conditions, l'acide carboxylique **Z** ne subit aucune réaction de dégradation et l'hydrolyse n'affecte pas le groupement protecteur du thiol. Le produit attendu **Z** est ainsi isolé avec un rendement quantitatif. Il est ensuite caractérisé en RMN du proton dans le DMSO- $d_6$ . On observe notamment la disparition du singulet à 1.4 ppm typique du groupe protecteur (tBu) (Schéma III.10).

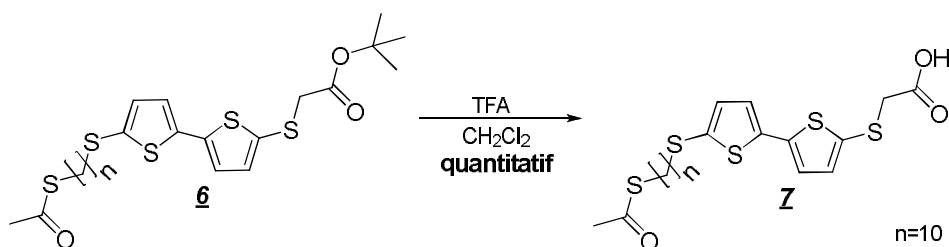


Schéma III.10

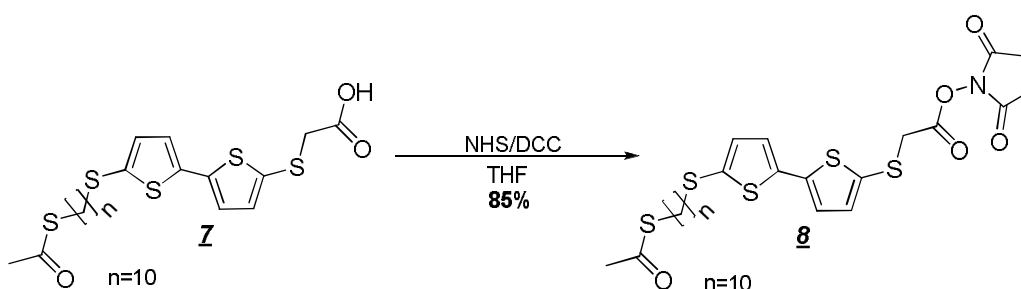
<sup>172</sup> Wu, Y-Q ; Limburg, D.C ; Wilkinson, D.E. ; Hamilton, S.G, *Tetrahedron Letters*, **2000**, 41, 2847-2849.

<sup>173</sup> Chauvel, E.N. ; Coric, P. ; Llorens-Cortès, C. ; Wilk,S. ; Roques, B.P. ; Zaluski, M-C, *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, 1339-1346

<sup>174</sup> Flatt, A.K. ; Yao, Y. ; Maya, F. ; Tour, J.M., *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 1752.

**g. Formation de l'ester activé :**

Les systèmes classiquement utilisés pour l'activation des acides carboxyliques sont d'une part, le chlorure d'acide et d'autre part la formation d'esters activés en présence d'agents de type carbodiimide et/ou de 1-hydroxybenzotriazole. Notre choix s'est porté sur l'activation de l'acide en présence d'un agent de couplage de type carbodiimide. L'activation de notre acide carboxylique **Z** est réalisée en présence de DCC et NHS selon les conditions générales de Bodanszky<sup>175</sup>. La fonction acide carboxylique libre est activée par le DCC et elle subit ensuite une réaction de transestérification pour former l'ester de succinimidyle. En pratique, cette étape est caractérisée par la formation de la N,N'-dicyclohexylurée résiduelle non soluble dans le milieu réactionnel. Cette dernière est ensuite éliminée par simple filtration. Le résidu obtenu, après évaporation du solvant, est alors chromatographié sur gel de silice pour recueillir l'ester activé **8** avec un très bon rendement (93 %) (*Schéma III.11*). Le produit **8** est caractérisé par RMN du proton dans le CDCl<sub>3</sub> par la présence du singulet, correspondant aux quatre protons du NHS.



*Schéma III.11*

**h. Couplage avec la DFOB :**

L'ester activés **8** est ensuite engagé dans la dernière étape de formation du ligand **L4'**. La préparation de cette molécule cible, qui se distingue par la nature de leur purification par rapport à la synthèse du ligand **L3'**, se fait également dans le DMF en présence de la triéthylamine à 50 °C afin d'augmenter la solubilité de la DFOB. Après filtration dans le méthanol à chaud, le produit **L4'** est obtenu sous forme d'une poudre beige avec un rendement de 77 % (*Schéma III.12*). Le produit **L4'** est ensuite caractérisé en RMN du proton

<sup>175</sup> Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The practice of peptide synthesis*, 1984; 1-284.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

dans le DMSO-d<sup>6</sup>. Il a également été caractérisé par spectrométrie de masse en impact électronique (EI) par la présence d'ion moléculaire M<sup>+</sup> à m/z = 1045.42.

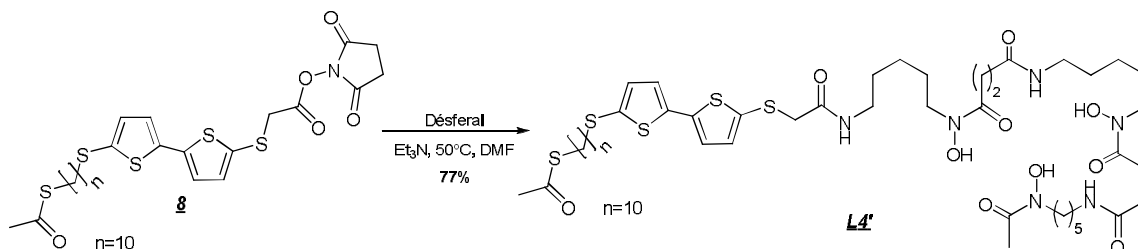


Schéma III.12

### I.2.2.2. Synthèse des analogues de la DFOB comportant un motif ferrocène :

#### a. Préparation de l'ester activé :

Selon le mode opératoire décrit par Ferapontova<sup>176</sup>, la fonction acide dans le composé acide ferrocène carboxylique a donc été activée par le NHS en présence de DCC dans le THF anhydre, ce qui a conduit à l'ester **9** avec de très bons rendements (Schéma III.13).

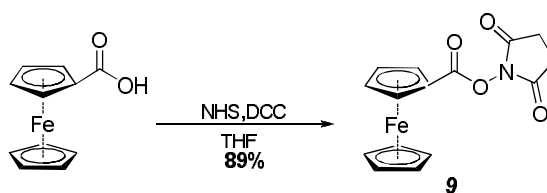


Schéma III.13

#### b. Couplage avec la DFOB :

Il s'agit maintenant de réaliser le couplage de la DFOB avec intermédiaire **9** (Schéma III.13). En pratique, la réaction de couplage entre la fonction amine de la DFOB et l'ester activé se déroule dans le diméthylformamide en présence de la triéthylamine à 50 °C<sup>177</sup>. Après chromatographie sur colonne à gel de silice, on recueille le composé désiré **L2** sous forme d'une poudre orange. La réaction conduit au composé désiré avec un bon rendement (88 %) (Schéma III.14).

<sup>176</sup>Ferapontova, E. E. ; Olsen, E.M. ; Gothelf, V., *J.Am.Chem.Soc.*, **2008**, 130, 4256-4258

<sup>177</sup>Moggia, F. ; Brisset, H. ; Fages, F. ; Chaix, C. ; Mandrand, C. ; Dias, M. ; Levillain, E., *Tetrahedron Letters*, **2006**, 47, 20, 3371-3374.

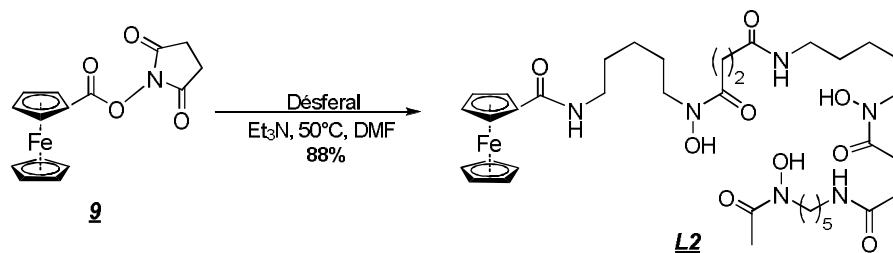


Schéma III.14

### I.2.2.3. Synthèse des analogues de la DFOB comportant le motif TEMPO :

Le TEMPO a été découvert par Lebedev et Kazarnowskii en 1960. C'est un radical stable commercial. La stabilité de ce radical est attribuée à la protection stérique fournie par les quatre groupements méthyle adjacents au groupe nitroxyle. Cette entité radicalaire intéresse particulièrement les chimistes depuis environ 15 ans pour ces propriétés d'agent oxydant<sup>178,179,180</sup>. Il est souvent utilisé en quantités catalytiques comme agent capable de convertir des alcools primaires en dérivés carbonylés.

La démarche suivie pour introduire le TEMPO dans la DFOB nécessite la présence d'une fonction acide carboxylique afin d'être couplé à l'amine présente dans la DFOB. Or, Le dérivé acide carboxylique<sup>181</sup> du TEMPO est disponible commercialement qu'à un prix très élevé (330euros/1g). Pour cela, notre choix s'est porté sur le dérivé aminé disponible aussi commercialement à un prix raisonnable (110€/1g Sigma-Aldrich). Ce choix nous a obligé à introduire une fonction acide pour effectuer un couplage peptidique entre DFOB et 4-amino-TEMPO en raison de l'absence de la fonction acide dans les deux structures.

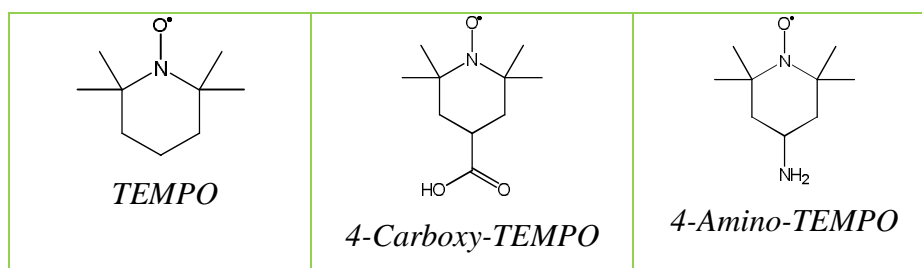


Schéma III.15

Afin d'éviter de consommer le 4-amino-TEMPO dans des essais infructueux, nous avons voulu valider cette approche par l'introduction de la fonction acide dans la DFOB. Pour

<sup>178</sup> De Nooy A. E. J. ; Besemer A. C. ; van Bekkum H., *Synthesis*, **1996**, p-1153.

<sup>179</sup> Bednarski M. ; Danishefsky S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 7060-7067

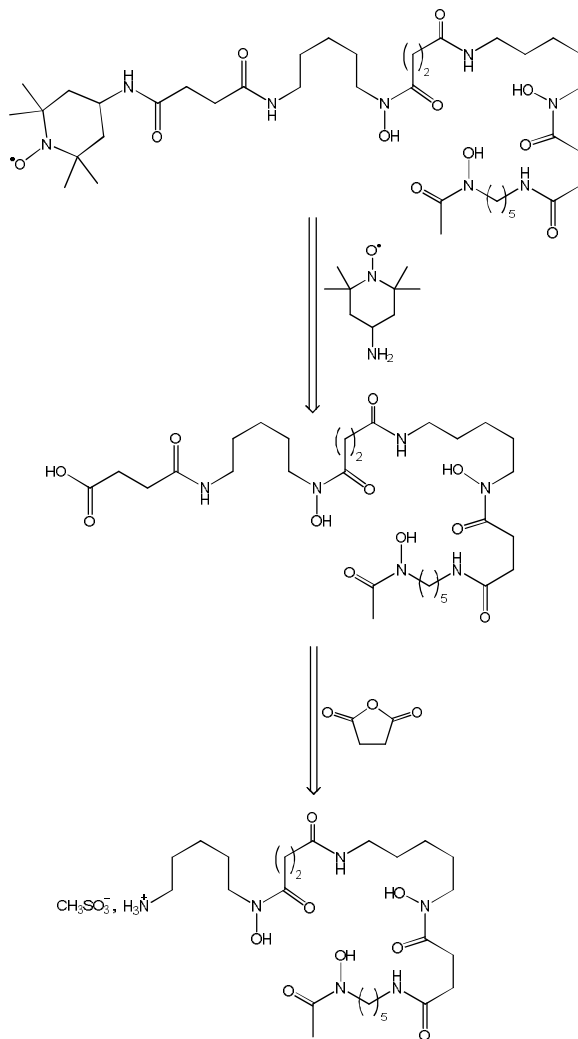
<sup>180</sup> Leanna M. R. ; Sowin T. J. ; Morton H. E., *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 35, 5029-5032.

<sup>181</sup> Bragd P. L. ; Besemer A. C. ; Bekkum H., *J. Mol. Cat. A: Chemical* **2001**, 170, 35-42.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

cela, l'anhydride succinique paraît le plus avantageux car il présente une fonction acide carboxylique cachée. Ce composé, dont l'ouverture de cycle permet d'avoir une fonction acide carboxylique terminale sur laquelle nous pourrions effectuer le couplage peptidique, nous a semblé être une bonne solution.

Le schéma envisagé pour l'obtention du ligand **L2** est représenté ci-dessous (*Schéma III.16*).



**Schéma III.16**

### a. Préparation de l'acide carboxylique **10**:

Pour introduire ce nouveau groupement, nous avons adapté un mode opératoire proposé par Bergeron et al.<sup>182</sup>. La DFOB est substituée par l'anhydride succinique en présence d'un excès de triéthylamine dans le DMF à 50 °C. Après recristallisation dans le méthanol, on récupère le composé **10** avec un rendement de 85 %.

<sup>182</sup> Bergeron, R. J. ; McManis, J. S. ; Phanstiel, O. ; Vinson, J. R. T., *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 109-114

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

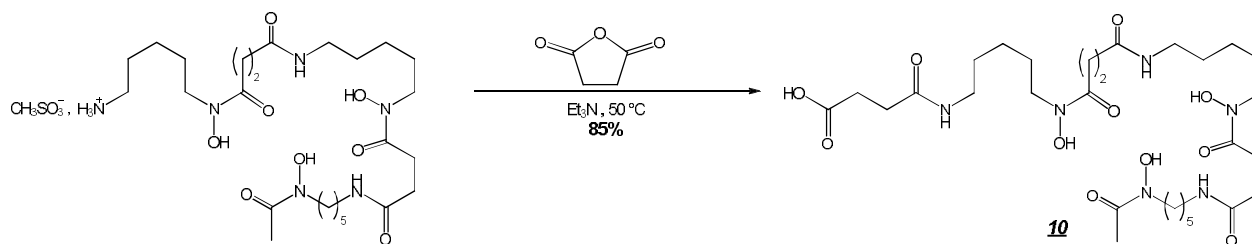


Schéma III.17

### b. Couplage avec le 4-amino-TEMPO :

Il s'agit dans cette étape de former le ligand **L5** par couplage entre le 4-amino-TEMPO et le composé **10**. En pratique, Nous avons utilisé le DCC et NHS qui permet de réaliser le couplage directement après la formation de l'ester activé *in situ*. Après conversion de l'acide carboxylique en son ester activé *in situ*, nous avons donc ajouté l'amine directement dans le ballon de réaction. Après une nuit d'agitation à 50 °C, on obtient ainsi après traitement et purification sur colonne de silice, le ligand **L5** avec un rendement de 22 %.(analyses MALDI-TOF).

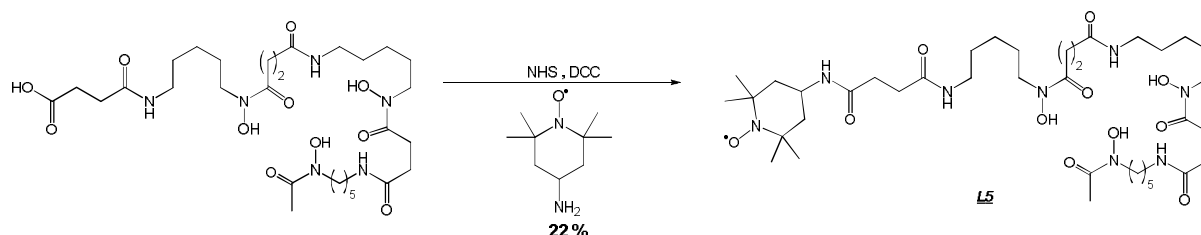


Schéma III.18

## I.3. Synthèse des analogues du ferrichrome :

### I.3.1. Introduction :

Comme nous l'avons vu dans l'introduction générale de ce travail, les ferrichromes sont également des complexants puissants des ions ferriques<sup>183,184</sup>. A l'état naturel, les ferrichromes sont le plus souvent isolés de cultures de bactéries pour lesquelles ils assurent la séquestration et le transport du fer essentiel à leur croissance<sup>185,186</sup>. Comme les ferrioxamines

<sup>183</sup> Jurkevitch, E. ; Hadar, Y. ; Chen, Y. ; Libman, J. ; Shanzer, A., *J.Bacteriol.*, **1992**, 174, 78-83.

<sup>184</sup> Shanzer, A. ; Libman, J ; Lazar, R. ; Emergy, T., *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, **1988**, 157, 389-394.

<sup>185</sup> Guerinot, M. L., *Annu. Rev. Microbiol.* **1994**, 48, 743-772.

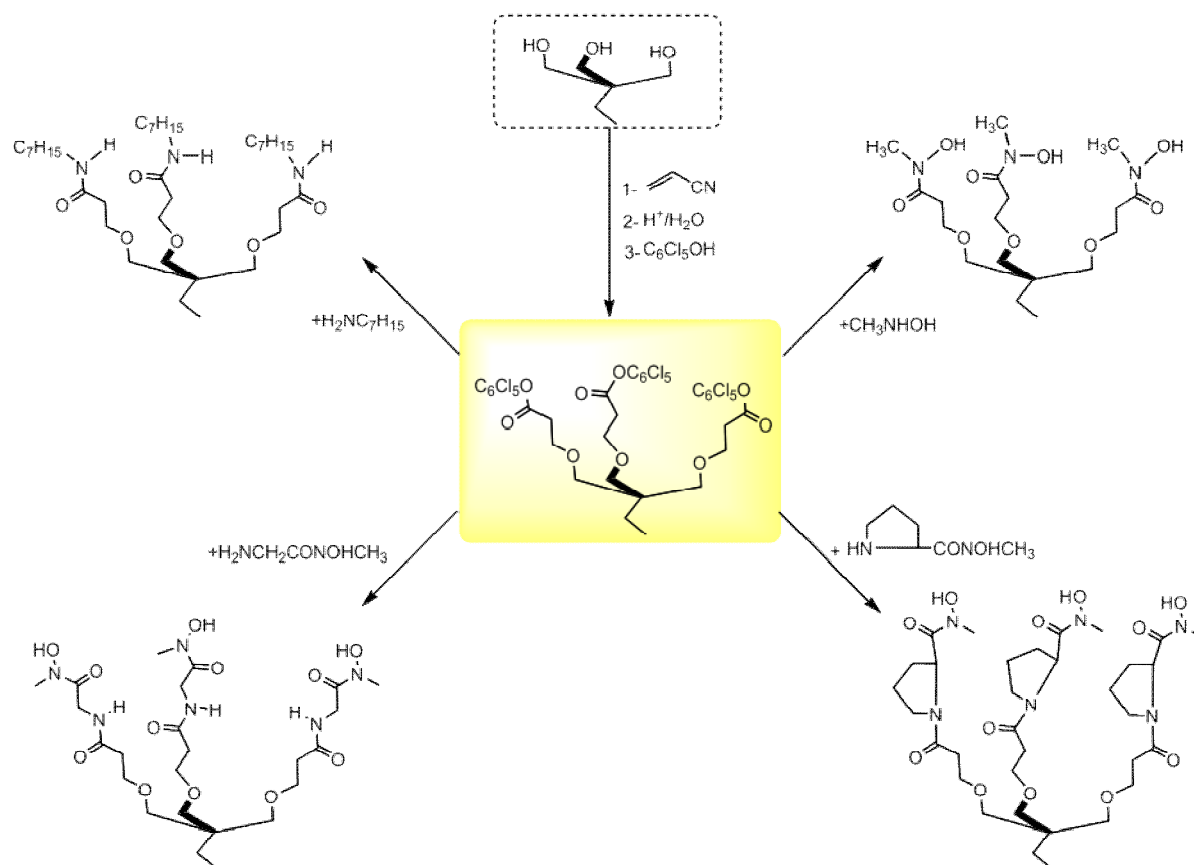
<sup>186</sup> Shanzer, A. ; Libman, J ; Yakirevitch, P. ; Hadar, Y. ; Chen, Y. ; Jurkevitch, E., *Chirality*, **1993**, 5, 359-365.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

B, ils appartiennent à la famille des hydroxamates<sup>187</sup>. En plus d'une très grande spécificité<sup>188,189,190</sup> ces composés donnent avec l'ion ferrique des complexes ayant des constantes de stabilité thermodynamique très élevée<sup>191</sup>.

Depuis une quinzaine d'années, les ferrichromes, du fait de leur assez faible toxicité, de la puissance et de la spécificité de complexation des ions ferriques, ont fait l'objet de plusieurs travaux dans la littérature.

En 1993, Shanzer et al. sont parvenus à synthétiser différents analogues du ferrichrome<sup>192,193</sup> (Schéma III.15). Les auteurs utilisent un triol comme matière première pour la synthèse de ces analogues.



**Schéma III.15 :** Analogues du ferrichrome synthétisés par Shanzer et al.

<sup>187</sup> Dayan, I. ; Libman, J. ; Agi, Y. ; Shanzer, A., *Inorg. Chem.*, **1993**, 32, 1467-1475.

<sup>188</sup> Winkelmann, G. ; Braun, V., *FEMS Microbiol. Letters*, **1981**, 11, 237-241.

<sup>189</sup> Matzanke, B.F. ; Muller, G.I. ; Raymond, K.N., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1984**, 121, 922-930.

<sup>190</sup> Adjimani, J.P. ; Emery, T., *J. Bacteriol.*, **1988**, 170, 1377-1379.

<sup>191</sup> Neilands, J. B., *Siderophores, J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 26723.

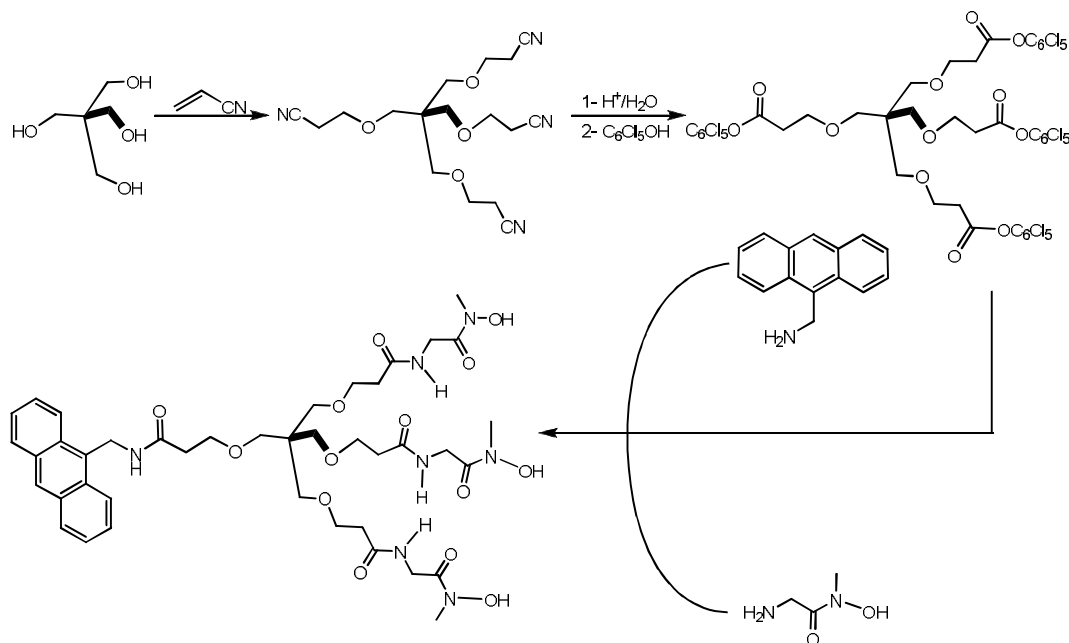
<sup>192</sup> Nudelman, R. ; Hadar, Y. ; Chen, Y. ; Libman, J. ; Shanzer, A., *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 1671-1678.

<sup>193</sup> Palanché, T. ; Marmolle, F. ; Abdallah, M. A. ; Shanzer, A. ; Albrecht-Gary, A.-M. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1999**, 4, 188-198.



## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

Cette voie de synthèse ne tolère aucune possibilité de modification structurale pour exploiter ces analogues dans diverses applications. Pour cela, les auteurs ont développé une autre voie de synthèse<sup>194</sup> en utilisant comme matière première le pentaérythritol pour la préparation de nouveaux analogues de ferrichrome fluorescents possédant une fonction éther (Schéma III.16).



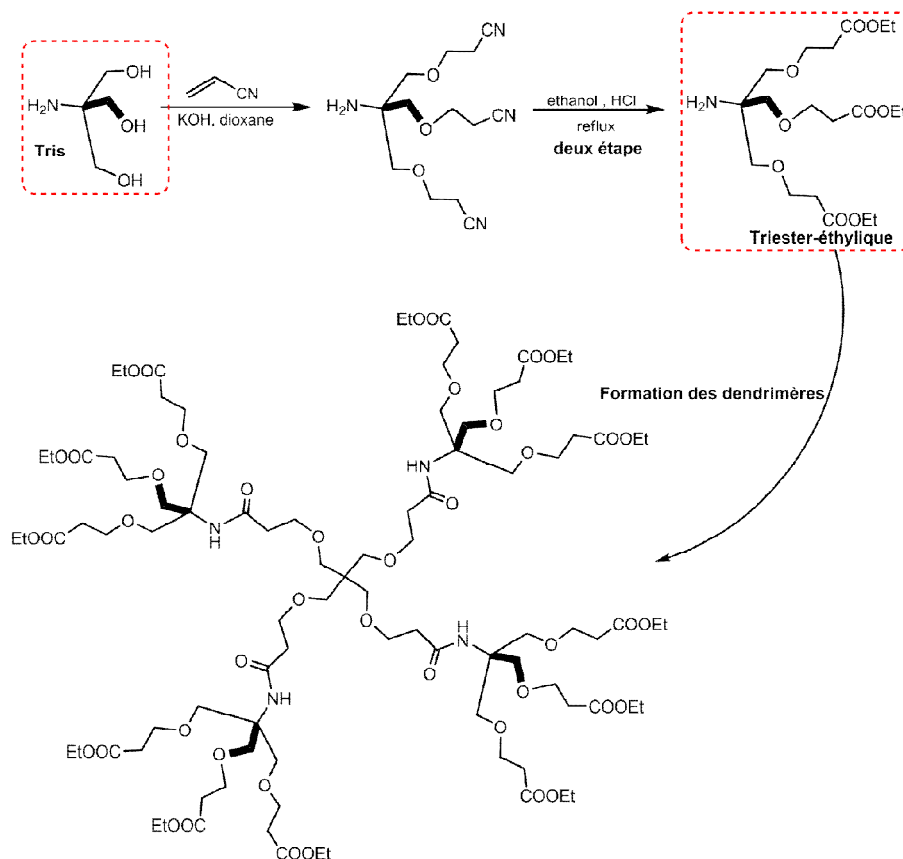
**Schéma III.16** : Analogue fluorescent du ferrichrome synthétisés par Shanzer et al.

Cette stratégie les a obligé à reproduire dans chaque cas la construction difficile de la partie trihydroxamate de ces molécules. Les voies de synthèse décrites par Shanzer pour accéder à ces analogues sont longues et ne permettent pas aisément l'introduction de modifications structurales.

Par ailleurs, d'autres voies de synthèse d'analogues du ferrichrome ont été développées en utilisant le tris(hydroxyméthyl)aminométhane (Tris) comme produit départ. Ce dernier a été d'abord largement utilisé par de nombreuses équipes de recherche et notamment par Newkome et al. pour la construction des dendrimères<sup>195</sup> en passant par un intermédiaire triester éthylique (Schéma III.17).

<sup>194</sup> Weizman, H. ; Libman, J. ; Dvir, O. ; Hadar, Y. ; Shanzer, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 12368-12375.

<sup>195</sup> (a) Newkome, G.R. ; Lin, X., *Macromolecules*, **1991**, *24*, 1443-1444. (b) Newkome, G.R. ; Lin, X. ; Weis, C.D., *Tetrahedron: Asymmetry*, **1991**, *2*, 957-960. (c) Young, J.K.; Newkome, G.R. ; Morris, K.F. ; Johnson, C.S., *Macromolecules*, **1994**, *27*, 3464-3471. (d) Nierengarten, J.F. ; Habicher, T. ; Boudon, C. ; Gross, M., *Helv. Chim. Acta*, **1997**, *80*, 2238-2276. (e) Cardona, C.M. ; Gawley, R.E. ; Gawley, C., *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 1411-1413.



**Schéma III.17 : Méthode de Newkome pour la construction des dendrimères en passant par un triester éthylique**

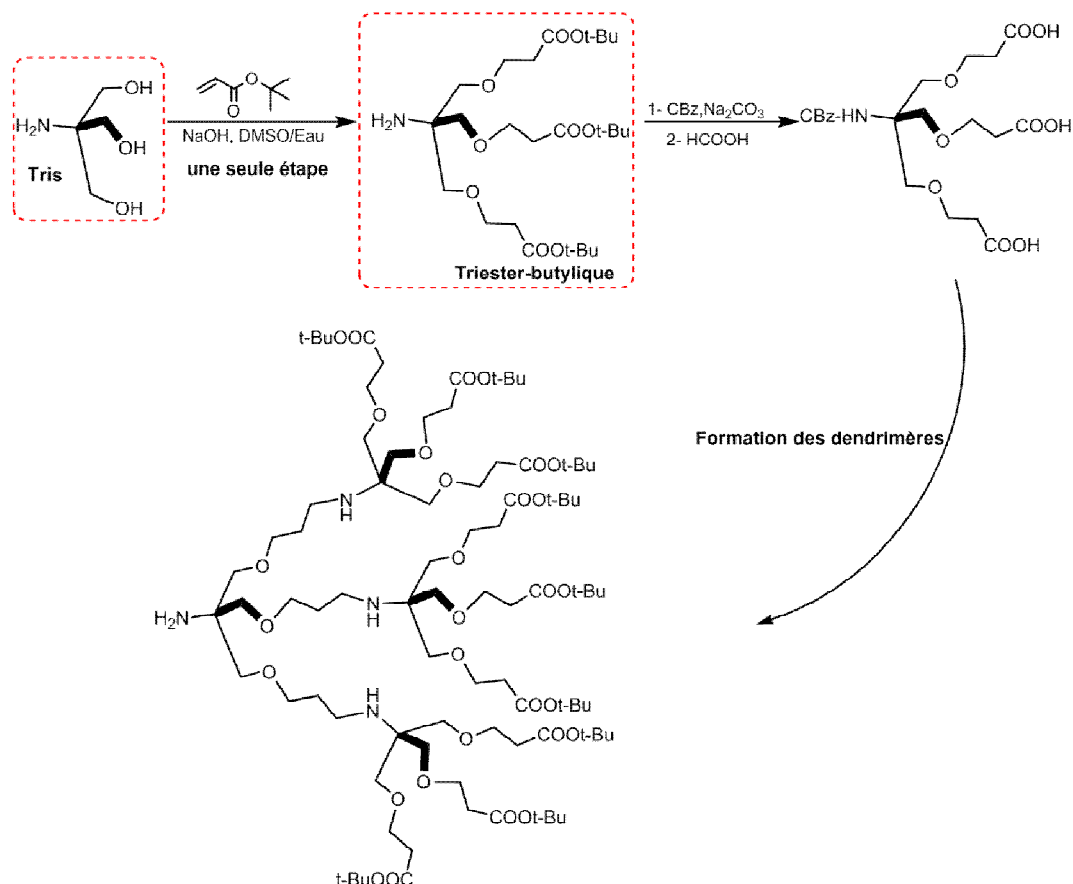
Dans le même objectif, Dupuy et al.<sup>196</sup> ont mis au point une méthode de synthèse basée sur une réaction de 1.4-addition du Tris sur le *tert*-butyle acrylate en utilisant un catalyseur de transfert de phase pour arriver à un triester *tert*-butylique avec un rendement de 38 %. Afin d'améliorer le rendement, Cardonna et al.<sup>197</sup> se sont inspirés de leur travaux pour proposer une nouvelle alternative qui consiste à changer les conditions opératoires en travaillant dans un mélange de DMSO : eau en présence de la soude comme base. Cette méthode partant du même produit de départ, permet d'obtenir le même triester *tert*-butylique avec un rendement plus élevé (Schéma III.18).

Contrairement au triester éthylique utilisé par Newkome, ces voies de synthèse font intervenir comme intermédiaire le triester *tert*-butylique, qui présente l'avantage d'être rapidement et facilement hydrolysé en présence de l'acide formique.

<sup>196</sup> Dupraz, A. ; Guy, P. ; Dupuy, C., *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 1237.

<sup>197</sup> Cardona, C. M. ; Gawley, R. E. ; Gawley, C., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 1411-1413.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome



**Schéma III.18 :** Méthode de Cardona pour la synthèse de dendrimères en passant par un ester tert-butyle

À la lumière de ces travaux, une voie de synthèse d'analogues du ferrichrome, plus facile, a été développée au sein du laboratoire. Un analogue fluorescent, qu'ait été synthétisé et caractérisé, par H. Ouchetto, dans le cadre de sa thèse en cotutelle Angers/Beni-Mellal, a permis de mettre en évidence le transport actif de ce type de sidérophore chez *C. albicans*.<sup>198,199</sup> Cette étude est le fruit d'une collaboration bien établie avec une équipe de biochimistes dirigée par J. M. Camadro (DR2 – Paris VI).

Ces analogues du ferrichromes développés au laboratoire sont semblables aux molécules décrites par Shanzer mais possèdent une fonction amine au lieu d'une fonction éther (Schéma III.19).

<sup>198</sup> Ouchetto, H. ; Dias, M. ; Mornet, R. ; Lesuisse, E. ; Camadro, J-M., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2005**, 13, 5, 1799-803.

<sup>199</sup> Ouchetto, H., Synthèse de sondes biologiques, analogues à des inhibiteurs de flavoenzymes et à des sidérophores. Thèse d'état marocaine. Directions : M. Dias, A. Benharref et R. Regragrui. Soutenue le 31/01/2005 à Marrakech (Maroc)

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome



Schéma III.19

Le tripode proposé et synthétisé par Ouchetto et al. dans lequel R=H nous a semblé être une structure de base idéale. En effet, les auteurs ont montré que la disposition des bras permettait de former des complexes ferriques de grande stabilité. Ils ont également constaté que la modification du tripode au niveau de l'amine ne modifie pas ses propriétés biologiques.

Notre objectif est donc d'utiliser ces analogues du ferrichrome se comportant vis-à-vis du fer comme le ferrichrome naturel et pouvant se prêter à des variations structurales permettant son immobilisation sur une surface métallique en utilisant les monocouches auto-assemblées (Schéma III.20).

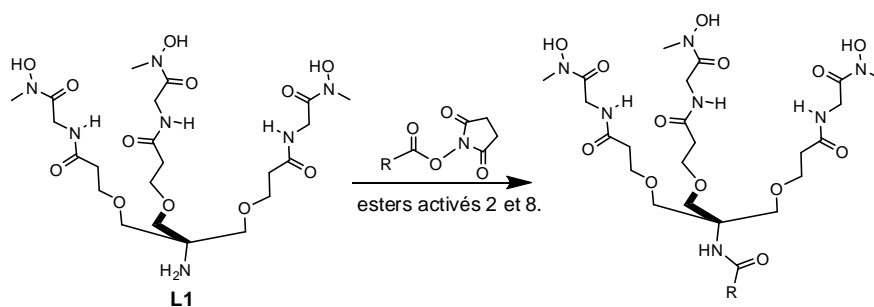


Schéma III.20

Pour cela, nous avons entrepris la synthèse de l'analogue L1 du ferrichrome précédemment obtenu au laboratoire. La présence de la fonction amine terminale dans ce composé va nous permettre d'insérer facilement des chaînes de nature variable.

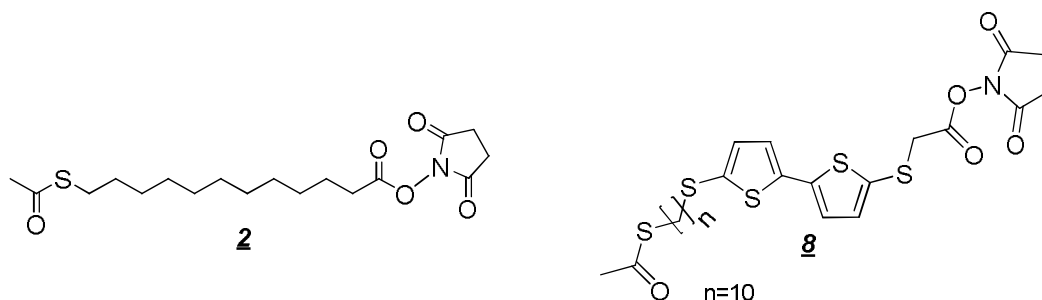
### I.3.2. Première approche : via un précurseur amino-triamide:

#### I.3.2.1. Schéma rétrosynthétique :

Dans cette optique, nous nous sommes penchés vers la conception de molécules immobilisables sur surface d'or. Nous avons envisagé d'incorporer les esters activés 2 et 8,

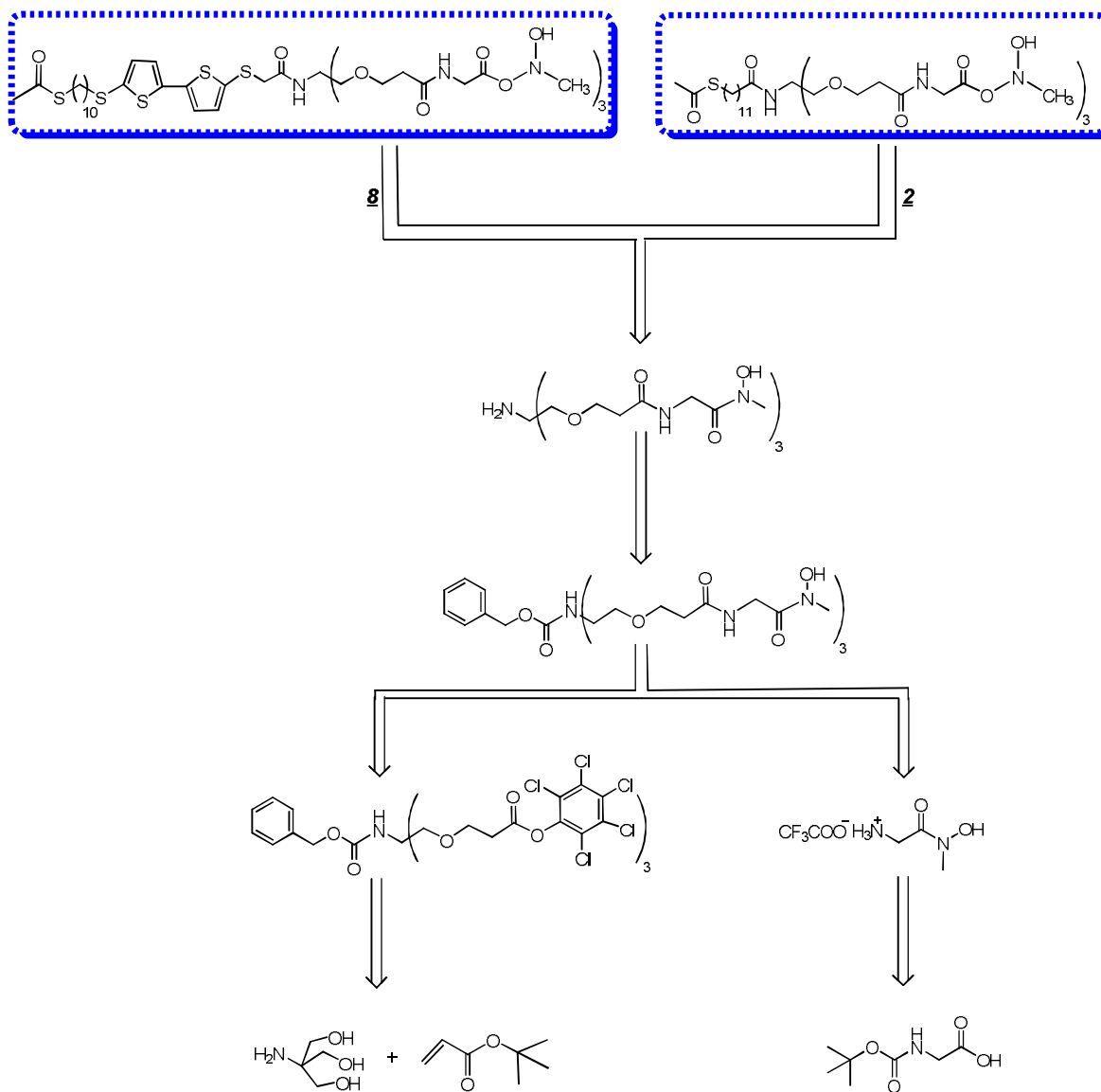
## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

respectivement avec sonde bithiophénique et sans sonde (*Schéma III.21*), dans le tripode possédant une amine primaire terminale.



**Schéma III.21**

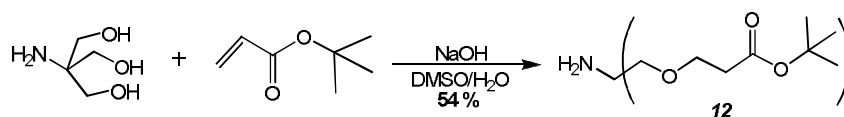
Nous proposons d'appliquer le schéma rétrosynthétique suivant :



**Schéma III.22**

### I.3.2.2. Synthèse du triester-butylique :

Suivant le mode opératoire proposé par Cardonna et al.<sup>200</sup>, la synthèse du tris{[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy]méthyl}méthylamine est réalisée au départ du tris(hydroxyméthyl)aminométhane. Il s'agit d'une réaction de type Mickaël du triol commercial sur le *tert*-butyl acrylate. Le produit désiré **12** est obtenu sous la forme d'une huile jaune avec un rendement de 54 % (*Schéma III.23*).



*Schéma III.23*

### I.3.2.3. Protection de la fonction amine :

Les groupements protecteurs fréquemment utilisés en synthèse peptidique sont le 9-fluorényl-méthoxycarbonyl<sup>201</sup>(Fmoc), le Carboxybenzyle (CBz), le *tert*-butoxycarbonyl (Boc), comme cela a déjà été rapporté dans plusieurs travaux. Nous avons choisi le chloroformiate de benzyle pour protéger la fonction amine. Ce groupement protecteur est compatible avec le schéma évalué précédemment (*Schéma III.24*) pour plusieurs raisons :

- il est stable en milieu acide,
- il absorbe en UV,
- il est aisément clivable par hydrogénation catalytique en présence de Pd/C<sup>202</sup>.

Pour introduire ce groupement protecteur, nous avons adapté un mode opératoire proposé par Zanda et al.<sup>203</sup>. En pratique, l'amine réagit avec le chloroformiate de benzyle en présence de bicarbonate potassium dans le dioxane (*Schéma III.24*). Après cinq heures d'agitation à température ambiante, une purification au moyen d'une chromatographie sur gel de silice permet de recueillir l'amine protégée **13** avec un rendement de 85 %.

<sup>200</sup> Cardona, C. M. ; Gawley, R. E., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 1411-1413.

<sup>201</sup> Kim, B.M. ; Cho, J.H., *Tetrahedron letters*, **1999**, 40, 5333-5336.

<sup>202</sup> Cameron, M. ; Wilson, R.D., *Applied catalysis A : General*, **2000**, 202, 307-310.

<sup>203</sup> Bravo, P. ; Cavicchio, G. ; Zanda, M. *Tetrahedron Asymmetry*, **1997**, 8, 2811-2815.

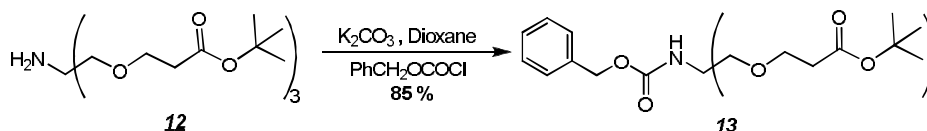


Schéma III.24

#### I.3.2.4. Déprotection des fonctions ester *tert*-butyliques :

Dans cette étape de déprotection des fonctions esters *tert*-butyliques, nous avons suivi les conditions générales décrites par de Chandrasekaran et al.<sup>204</sup> qui emploie un excès d'une quantité catalytique d'acide formique. La méthode mise au point par l'auteur permet d'hydrolyser sélectivement les esters *tert*-butyliques sans cliver les amines protégées par les groupements Cbz.

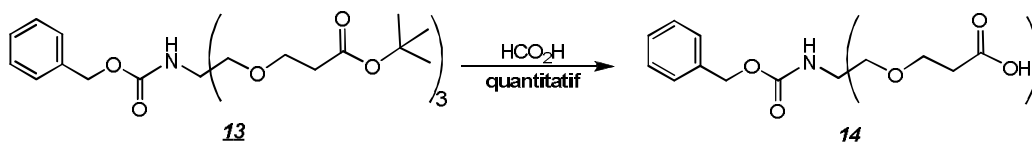


Schéma III.25

Nous observons effectivement l'hydrolyse des esters après dix-neuf heures d'agitation à température ambiante. Un spectre de masse en impact électronique nous assure de la présence unique du produit souhaité. L'évaporation de l'acide formique sous pression réduite permet ensuite de récupérer quantitativement le triacide carboxylique **14** (Schéma III.25).

#### I.3.2.5. Activation des fonctions acides carboxyliques :

Parmi les différentes méthodes d'activation des acides carboxyliques (NHS,...), nous avons choisi celle utilisant le pentachlorophénol car celui-ci présente plusieurs avantages<sup>205,206,207</sup>. En effet, les esters de pentachlorophényle obtenus sont d'une part plus réactifs que le NHS, et d'autre part absorbent fortement en UV, ce qui permet donc de suivre facilement la réaction d'activation des trois fonctions acides.

La conversion du triacide carboxylique **14** en ester activé a été effectuée suivant le mode opératoire proposé par Shanzer. Le triacide carboxylique réagit avec le

<sup>204</sup> Chandrasekaran, S. ; Kluge, A. F. ; Edwards, J. A., *J.Org.Chem.*, **1977**, 42, 3972-3974.

<sup>205</sup> Tanaka, Y. ; Nakahara, Y. ; Hojo, H. ; Nakahara, Y., *Tetrahedron*, **2003**, 59, 4059-4067.

<sup>206</sup> Bodanszky, M. ; Bednarek, M. A., *J.Protein Chem.*, **1989**, 8, 461-469.

<sup>207</sup> De Leon-Rodriguez, L. M. ; Kovacs, Z. ; Dieckmann, G. R. ; Sherry, A. D., *Chem.Eur.J.*, **2004**, 10, 1149-1155.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

pentachlorophénol en présence de DMAP et DCC dans le THF sec. Après deux jours d'agitation à température ambiante, les solvants sont évaporés sous vide. Après traitement, le brut réactionnel est purifié par filtration sur alumine neutre et par chromatographie sur gel de silice, ce qui nous permet d'isoler le composé attendu **15** avec un rendement de 87 % (Schéma III.26).

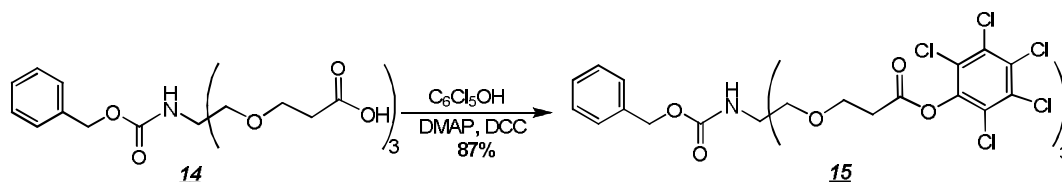


Schéma III.26

### I.3.2.6. Synthèse de l'acide hydroxamique :

Le composé **16** est préparé en deux étapes au départ de la *N*-t-Boc-glycine<sup>208</sup>. Nous avons envisagé la même procédure d'activation que pour le composé **15**, par formation d'un ester activé en présence d'un agent de couplage de type DCC et de pentachlorophénol dans le dichlorométhane anhydre. L'ester activé ainsi formé est directement engagé dans la réaction de couplage sans caractérisation préalable. Le couplage est ensuite effectué dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine et d'un excès de chlorure de *N*-méthylhydroxylamine pour conduire à l'acide hydroxamique **16** (Schéma III.27).

L'analyse RMN du proton du produit obtenu a permis de confirmer la présence d'une seule extension oxyamine. Le groupe oxyamine est facilement apparent sur le spectre grâce au signal caractéristique du groupe *tert*-butyle du groupement Boc à 1.4 ppm.

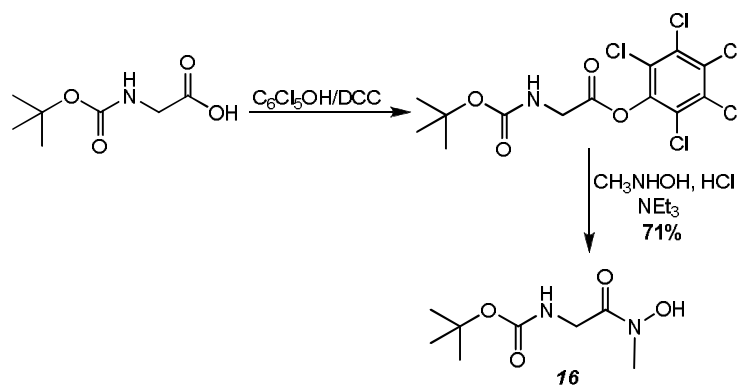


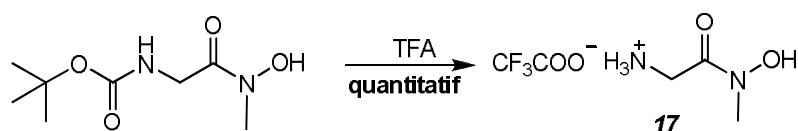
Schéma III.27

<sup>208</sup> Dayan, I. ; Libman, J. ; Agi, Y. ; Shanzer, A., *Inorg. Chem.*, **1993**, 32,1467-1475.



## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

L'étape suivante de déprotection par hydrolyse des groupements *tert*-butoxycarbone est réalisée classiquement en traitant par une solution de TFA à 50 % dans le dichlorométhane. La réaction est menée à température ambiante. Après 12 heures d'agitation, la phase aqueuse est évaporée sous pression réduite et la présence de l'amine libre est confirmée par la disparition du signal du *tert*-butyle à 1.4 ppm dans le spectre RMN-<sup>1</sup>H. Le composé attendu **17** est obtenu avec un rendement quantitatif (*Schéma III.28*).



*Schéma III.28*

### I.3.2.7. Synthèse du triamide :

Le couplage est ensuite réalisé dans un mélange THF<sup>209</sup> en présence d'un excès de triéthylamine (6 éq.). L'addition du dérivé activé se fait rapidement et à froid afin de réduire l'hydrolyse du tris(aminohydroxamate). Le pH apparent est ajusté et maintenu aux environs de 8 par ajout de triéthylamine. La solution est ensuite agitée à température ambiante et l'évolution est suivie par spectrométrie de masse (MALDI-TOF). Après quatre jours, le produit attendu est majoritaire en masse et la réaction ne semble plus évoluer. Un test rapide au moyen d'une solution acide de chlorure de Fe(III) montre la coloration rouge caractéristique de la présence de fonctions hydroxamates.

Après traitement, la purification du produit obtenu est délicate car la séparation des différents produits issus de la mono-, di- et tri-substitution ainsi que l'acide hydroxamique de départ en excès nécessite d'une part plusieurs chromatographies sur colonne et d'autre part, des lavages successifs avec un mélange de méthanol et d'éther éthylique afin d'éliminer le 2,2,2-trifluoroacétate de triéthylammonium. Le triamide **18** est isolé avec un rendement de 55 % (*Schéma III.29*).

<sup>209</sup> Ouchetto, H. ; Dias, M. ; Mornet, R., ; Lesuisse, E. ; Camadro, J.-M., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 1799

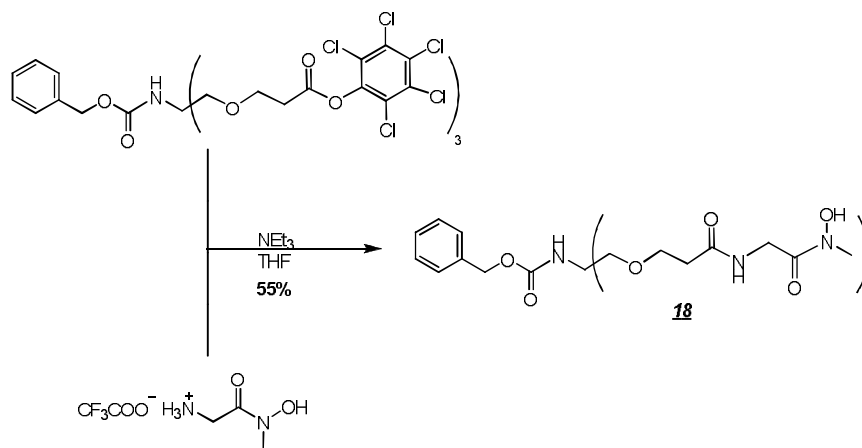


Schéma III.29

### I.3.2.8. Déprotection de la fonction amine par hydrogénolyse :

La dernière étape consiste à réaliser la débenzylation<sup>210</sup> par hydrogénation catalytique en présence d'un catalyseur Pd/C. L'amine protégée est dissoute dans le méthanol et après addition du catalyseur, la suspension est agitée sous 3 bars d'hydrogène. L'évolution de la réaction est suivie par spectrométrie de masse en impact électronique et par chromatographie sur couche mince (CCM). Après environ 4 heures de réaction, la réaction est complète. Après filtration du catalyseur et évaporation du solvant, on récupère quantitativement le ligand **L1** sous la forme d'un solide marron clair très hygroscopique (Schéma III.30).

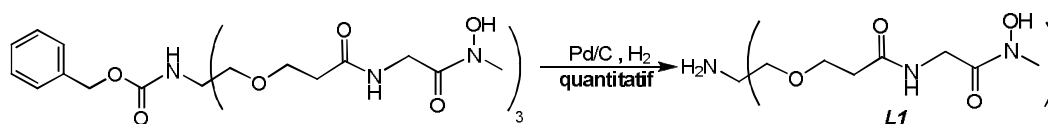


Schéma III.30

### I.3.2.9. Couplage du **L1** avec les esters activés :

Les conditions opératoires pour la réaction de couplage ont été dictées par les résultats déjà obtenus au sein du laboratoire pour ce type de composés (Schéma III.31).

Nous avons tenté un premier couplage *via* l'ester activé **2** dont la synthèse a été décrite auparavant. Le sel de TFA du tris(aminohydroxamate), obtenu selon les conditions décrites ci-dessus, est dissous dans quelques millilitres de DMF sec. On ajoute ensuite goutte à goutte une solution du l'ester activé **2** (3 équivalents dans le DMF sec). En pratique, on utilise un

<sup>210</sup> Lin, Y. ; Libman, J. ; Miller, M.J, *J.org. Chem.*, **1999**, 64,7451-7458.

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

excès d'ester activé afin de favoriser une substitution complète. La solution est ensuite agitée à température ambiante et sous atmosphère d'azote. Après 3 jours, on n'observe pas la formation de produit attendu, même partielle (spectrométrie de masse). Après traitement, le spectre de masse du brut révèle de nombreux pics dont un correspond au produit de départ L1. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  est très complexe et difficilement interprétable.

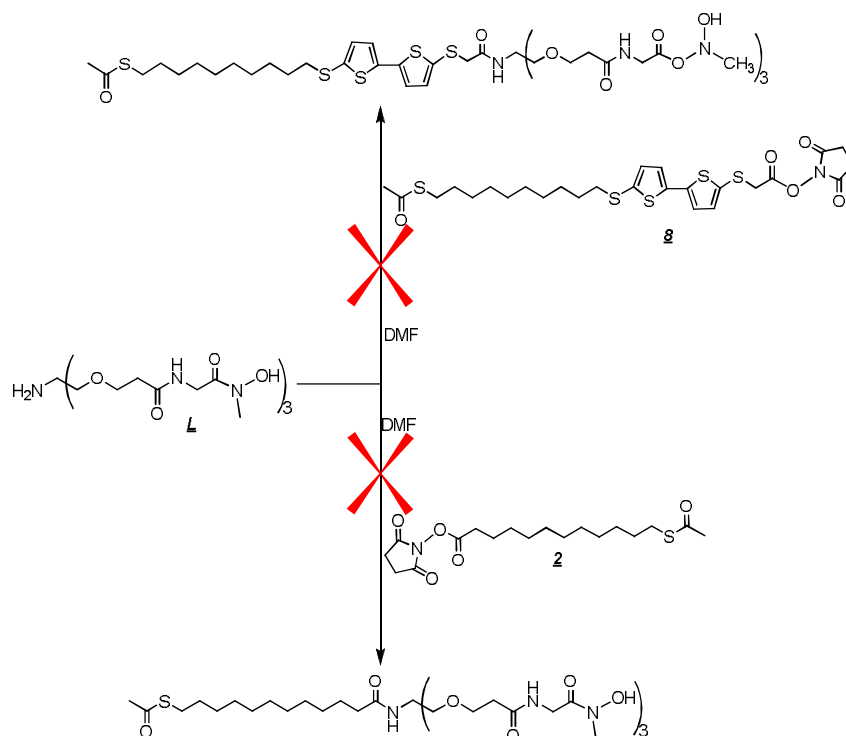


Schéma III.31

Nous ne sommes pas parvenus à obtenir la molécule désirée quelles que soient les conditions opératoires mises en œuvre en faisant varier l'ester activé (2 et 8), le solvant de réaction et la température de chauffage.

Toutes les possibilités de couplage ont été testées mais sans succès. Les différents essais réalisés en modifiant les conditions opératoires n'ont pas permis d'isoler le composé attendu. Ouchetto et coll. ont également remarqué cette non réactivité lors des tentatives de substitution nucléophile par l'intermédiaire du ligand L1.

Plusieurs raisons pourraient expliquer ces essais infructueux :

- le caractère très hygroscopique du ligand L1,
- l'encombrement stérique qui rend l'amine peu accessible,

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

- l'hydroxamate déprotonné qui pourrait agir en compétition avec l'amine. Plusieurs réactions sont donc possibles et il est difficile de confirmer la présence du produit formé.

### I.3.3. Deuxième approche : via un couplage peptidique entre l'amino-triester butylique et les esters activés **2** et **8** :

#### I.3.3.1. Introduction :

Afin de contourner les différents problèmes énoncés précédemment qui proviennent à *priori* de la présence des trois bras hydroxamates, nous avons envisagé une nouvelle voie de synthèse dans laquelle les trois fonctions acide hydroxamiques sont insérées après la réaction de couplage dans la dernière étape.

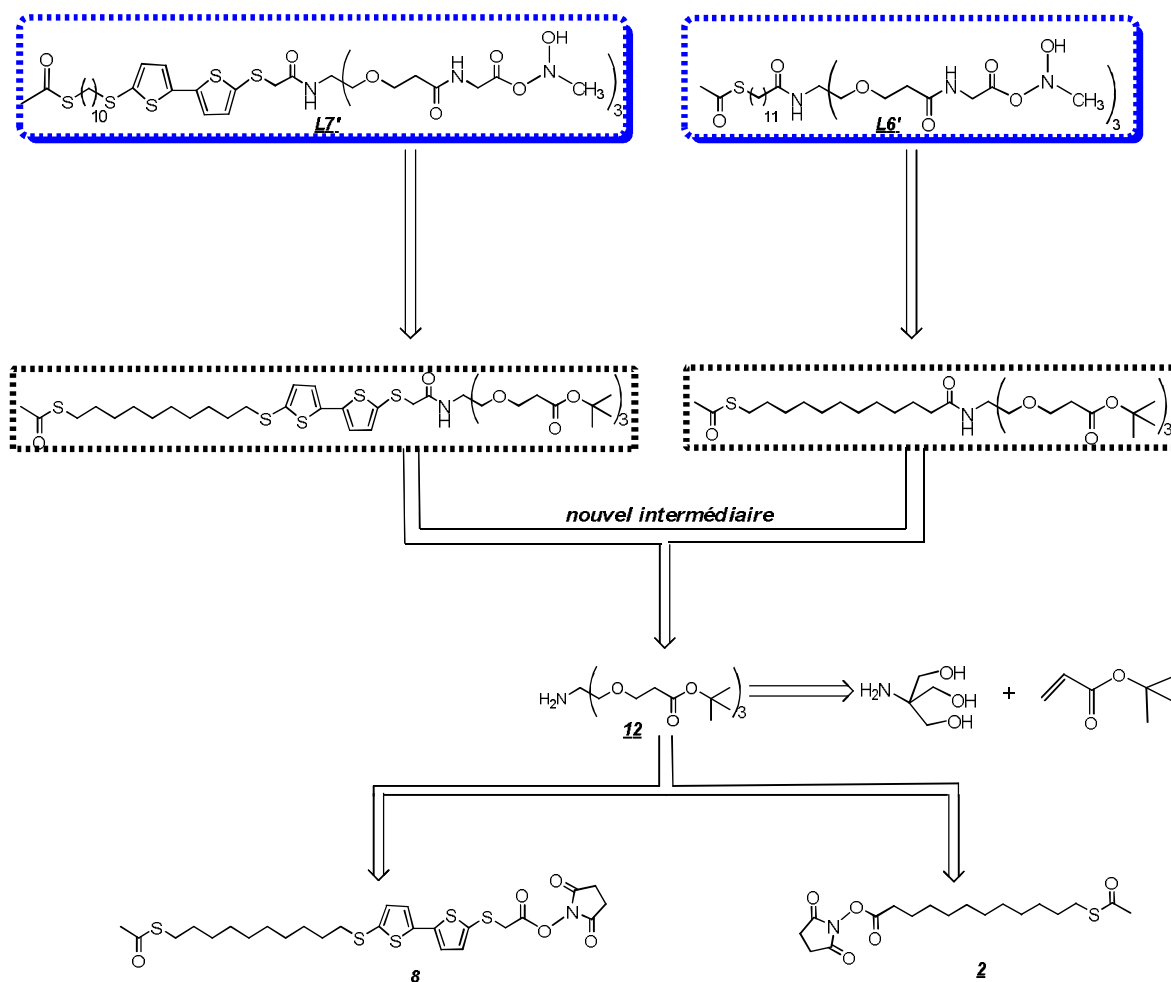


Schéma III.33

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

Cette voie de synthèse, dans laquelle les couplages peptidiques entre l'ester activé (**2** et **8**) et l'amine sont réalisés à une étape antérieure, est envisagée.

Sur ce constat, nous avons opté pour cette nouvelle stratégie pour l'obtention du ligand **L6'** et **L7'**, comme représenté dans le schéma ci-dessus. De cette manière, nous avons formé un nouvel intermédiaire qui subira les mêmes conditions, et avec moins de sélectivité dans la synthèse par rapport à la première approche.

### I.3.3.2. Synthèse du ligand **L6'**:

#### I.3.3.2.1. Schéma retrosynthétique :

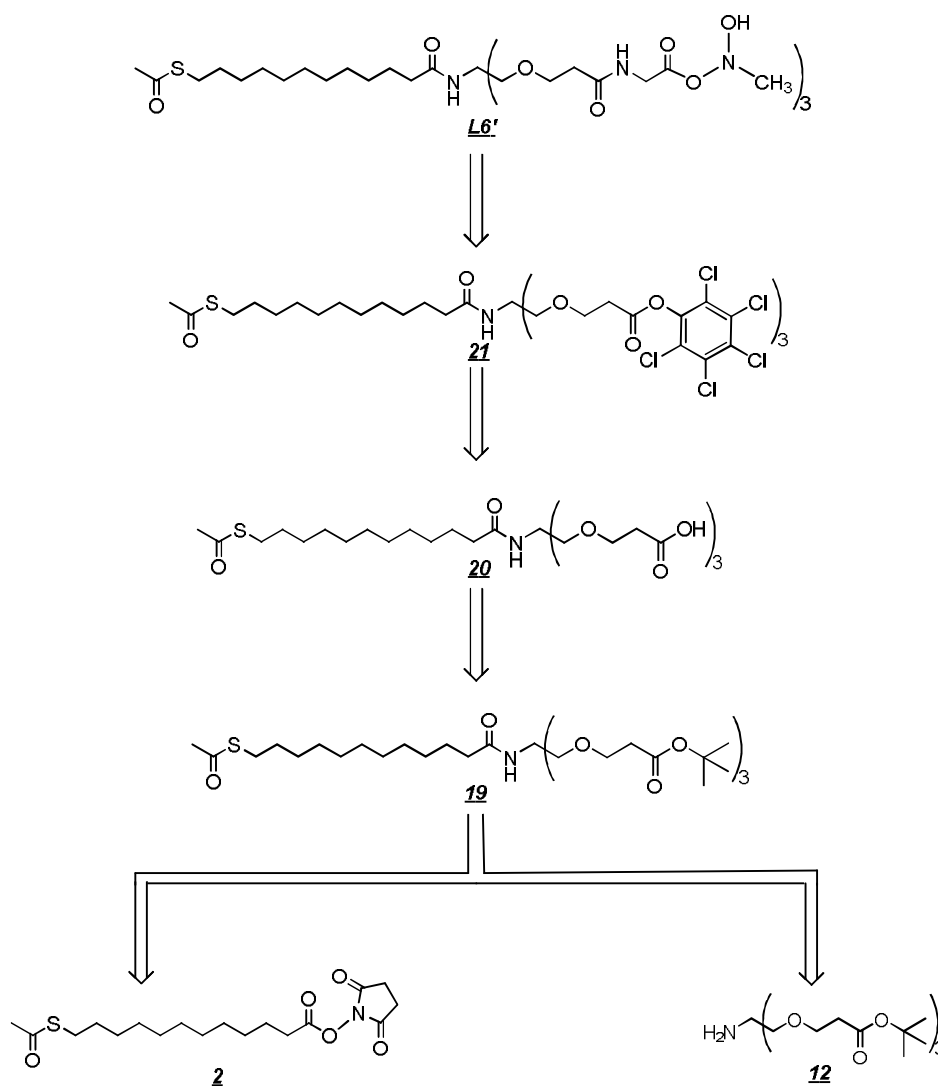


Schéma III.33

### I.3.3.2.2. Couplage peptidique : introduction du dérivé **2** :

La réaction de couplage s'est avérée être plus performante lorsqu'elle est réalisée dans le DMF sec à partir du **2** (Schéma III.34). Le mélange est agité à température ambiante pendant deux jours et après purification sur colonne de silice, on récupère le produit **19** avec un rendement de 85%. Dans ces conditions, l'ester activé **2** est complètement dissous dans le DMF permettant des synthèses reproductibles avec un très bon rendement. La faisabilité de cette étape indique clairement que les problèmes rencontrés lors de la première approche ne viennent pas de l'amine primaire mais sûrement de la partie tripode (bras hydroxamiques).

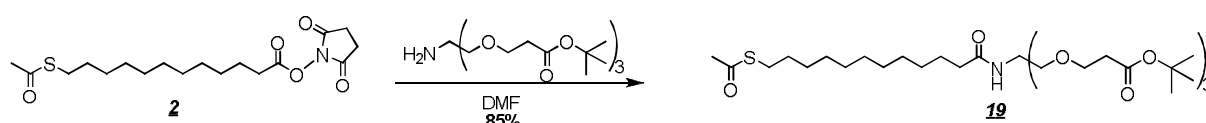


Schéma III.34

### I.3.3.2.3. Déprotection des fonctions triester-butylques :

L'insertion de la chaîne alcanethiol (à la place de CBz) dans cette approche, nous a permis d'utiliser l'hydrolyse au moyen du TFA qui déprotège sélectivement les fonctions ester *tert*-butyle en présence d'une fonction thioester (Schéma III.35).

En effet, l'hydrolyse des groupements *tert*-butyle est menée classiquement dans le TFA à 50 % dans le dichlorométhane à température ambiante. Après une heure d'agitation, la solution est évaporée et le résidu est repris plusieurs fois par quelques millilitres de toluène afin d'éliminer l'excès de TFA. On n'observe aucun produit de dégradation et l'on obtient le produit **20** pur quantitativement.

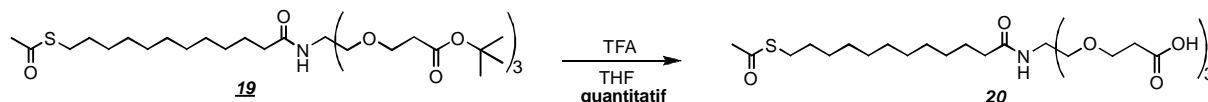


Schéma III.35

### I.3.3.2.4. Activation du triacide :

Pour former le dérivé activé **21**, nous avons appliqué un mode opératoire similaire à celui effectué pour la synthèse du produit **15** (Schéma III.36). En pratique, à une solution de triacide carboxylique **20** et de pentachlorophénol dans le THF sec, on ajoute la *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et une quantité catalytique de DMAP. La solution est agitée

## Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

sous atmosphère inerte à température ambiante. Après un jour de réaction, le précipité de *N,N'*-dicyclohexylurée est filtré. Le brut obtenu est ensuite purifié sur alumine neutre puis par chromatographie sur gel de silice. On isole ainsi le produit désiré **21** avec un rendement de 41%.

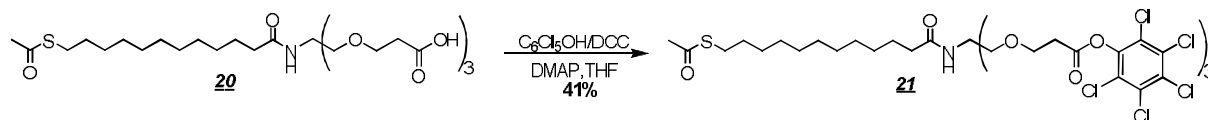


Schéma III.36

### I.3.3.2.5. Synthèse du triamide :

Le couplage est ensuite effectué dans le THF en présence de triéthylamine et d'un excès de l'ester de pentachlorophénol afin d'assurer une tri-substitution (Schéma III.37). La solution est agitée à température ambiante et le suivi de la réaction par CCM au moyen d'une solution acide de chlorure de Fe(III) indique la formation d'un produit présentant des fonctions hydroxamates (coloration rouge caractéristique).

Après trois jours, la réaction est complète. Le solide obtenu après traitement est chromatographié sur gel de silice pour obtenir le trihydroxamate protégé **L5'** avec un rendement de 50 %.

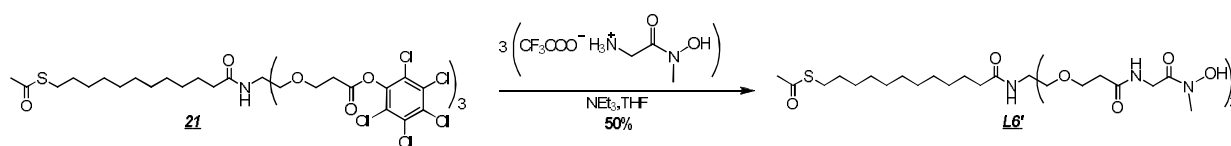


Schéma III.37

### I.3.3.3. Introduction du dérivé bithiophénique **8** :

Au vu du succès rencontré dans la synthèse du ligand **L6'** (cf. partie I.3.3.2.), nous avons suivi un schéma réactionnel similaire pour synthétiser le ligand **L7'** (Schéma III.38).

Dans un souci de clarté, nous reproduisons ci-dessous les différentes étapes menant à la formation du ligand **L7'**. Celles-ci ont déjà été commentées auparavant, c'est pourquoi nous n'en parlerons que brièvement.

### Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

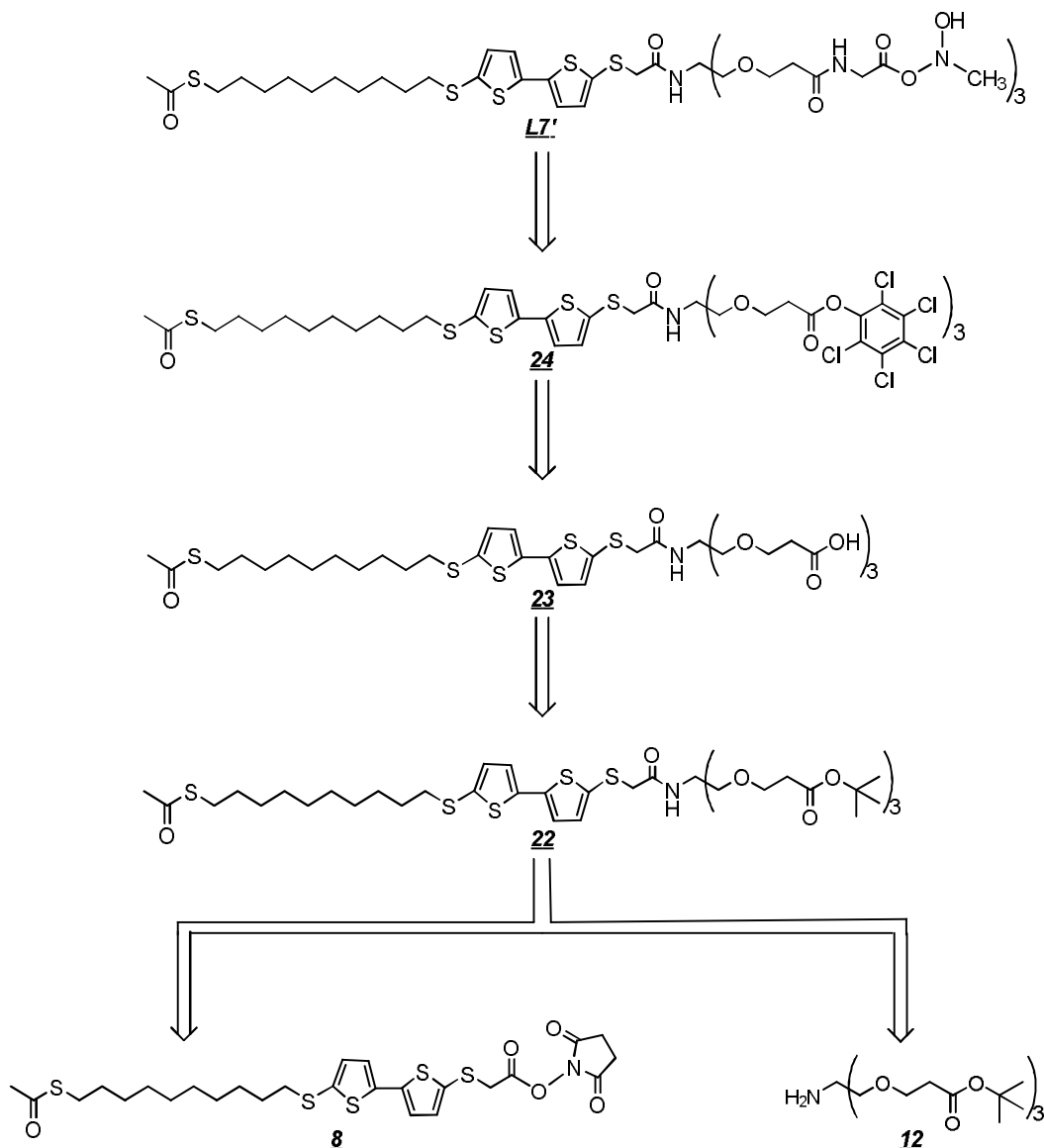


Schéma III.38

Dans une première étape, l'ester activé **8** est substitué par le triester *tert*-butylique **12** dans le DMF (Schéma III.38). Après traitement et purification, on récupère le produit **22** avec un rendement de 95 %. Puis, par hydrolyse en milieu acide, on obtient quantitativement le triacide carboxylique **23**. Cette réaction d'hydrolyse est effectuée au moyen du TFA. Après vérification de sa pureté par spectrométrie de masse (EI), nous avons converti celui-ci en ester activé **24** en présence de pentachlorophénol. Cette méthode permet d'obtenir le produit attendu avec un rendement de 40 %.

La synthèse du ligand **L7'** est ensuite réalisée dans des conditions identiques à celles appliquées pour la synthèse du ligand **L6'**, à savoir en présence de triméthylamine. Le



### Chapitre III : Synthèse des précurseurs immobilisables, analogues de la ferrioxamine B et du ferrichrome

composé désiré est purifié par chromatographie sur gel de silice et obtenu avec un rendement de 60 %.

Ces quarts étapes nous ont permis d'obtenir deux intermédiaires-clés, le tris(carboxyhydroxamate) **L6'** et **L7'** (Schéma III.39), de manière assez rapide et avec de bons rendements au départ du triester *tert*-butylique **12**.

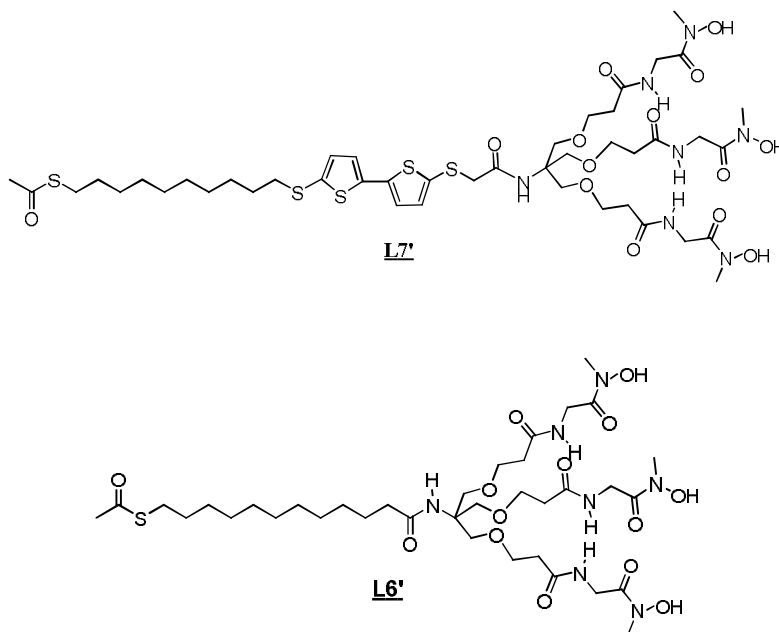


Schéma III.39

# **Chapitre IV :**

# **Évaluation des propriétés de**

# **complexation**



### I.Introduction :

Après avoir décrit la synthèse des différents ligands, ce chapitre est dédié à l'étude du comportement des complexes de Fe(III) en solution.

La première partie pose la problématique générale et met en lumière les difficultés à surmonter pour permettre de comprendre et de mettre en application de tels systèmes. Dans cette partie seront également présentées les méthodes expérimentales nécessaires à la compréhension des résultats et des interprétations.

Une étude complète des différentes caractéristiques optiques et électrochimiques de la première série de ligand contenant la DFOB est exposée dans la deuxième partie du chapitre.

La troisième partie est consacrée à l'évaluation des propriétés complexantes des analogues du ferrichrome (L1, I8) ainsi que leur caractérisation optique et électrochimique en solution pour déterminer les propriétés de chélation du Fe(III).

### II.Choix du solvant :

Dans le but d'étudier avec précision et rigueur la complexation des composés cibles (L2, L3', L4', L1, et I8), il est nécessaire d'éviter les interférences avec tout phénomène acido-basique susceptible de masquer les propriétés recherchées.

Dans un milieu aqueux, un premier facteur important est le pH de la solution. En effet, le pH a un impact à la fois sur la forme chimique du métal et sur celle du ligand (diverses formes acido-basiques) en solution. Par conséquent, plusieurs paramètres doivent converger afin d'obtenir le meilleur compromis possible et de fixer définitivement le pH de la solution.

- La précipitation des cations n'est pas souhaitable, puisqu'elle limite considérablement toute étude quantitative de la complexation.
- La complexation compétitive des cations avec les ions hydroxyles présents dans les solutions les plus basiques entrave la complexation par les ligands et doit être évitée dans la limite du possible.
- Les ligands peuvent adopter plusieurs formes acido-basiques en fonction du pH. Certaines d'entre elles peuvent s'avérer très défavorables à une détection efficace des cations.

Pour cela, un solvant organique se révèle alors adapté et paraît un compromis satisfaisant pour permettre une solubilité suffisante pour les études de complexation. Cependant, les dérivés de la DFOB ainsi que les analogues du ferrichrome ne sont soluble que dans des solvants

fortement polaires tels que le DMF et le DMSO. Ces solvants présentent l'avantage de solubiliser aisément la majorité des sels de fond et leur constante diélectrique est suffisante pour tester la complexation de façon satisfaisante.

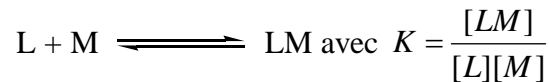
Nous avons donc choisi ces deux solvants pour les différentes études physico-chimiques.

### III. Dispositifs et conditions expérimentales :

#### III.1. Mesures par spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-visible peut-être utilisée comme méthode d'étude du phénomène de complexation, si le ligand absorbe différemment à l'état libre ou complexé. Ainsi la variation des absorbances observée sur le spectre électronique permet de déterminer la stœchiométrie du complexe ainsi que sa constante de stabilité.

Considérons l'équilibre chimique où le complexe formé est de stœchiométrie 1/1 :



En l'absence de cation métallique (M), l'absorbance ( $A_0$ ) est donnée par la loi de Beer Lambert :

$$A_0 = \varepsilon_L \ell [L]_0$$

Avec :  $[L]_0$  : Concentration en ligand en absence du métal.

Après addition d'un cation, en considérant qu'il n'absorbe pas dans le domaine de longueur d'onde utilisé, l'absorbance (A) peut s'écrire :

$$A_0 = \varepsilon_L \ell [L] + \varepsilon_{LM} \ell [LM] \text{ avec } [L] = [L]_0 - [LM]$$

$$\text{Alors } A = \varepsilon_L \ell [L]_0 + \varepsilon_{LM} \ell [LM] - \varepsilon_L \ell [LM]$$

$$A = \varepsilon_L \ell [L]_0 + (\varepsilon_{LM} - \varepsilon_L) \ell [LM] \text{ et } A - A_0 = (\varepsilon_{LM} - \varepsilon_L) \ell [LM]$$

On note  $\varepsilon_{LM} - \varepsilon_L = \Delta\varepsilon$  et  $A - A_0 = \Delta A$ , et avec  $[LM] = K[L][M]$ , on obtient :

$$\Delta A = K \Delta\varepsilon \ell [L][M]$$

A partir des équations,  $[L] = [L]_0 - [LM]$  et de la constante K, on peut exprimer [L] :

$$[L] = \frac{[L]_0}{1 + K[M]}$$

La combinaison des équations 1 et 2 donne alors :  $\frac{[\Delta A]}{\ell} = \frac{K \Delta\varepsilon [L]_0 [M]}{1 + K[M]}$

L'inverse de cette expression permet d'obtenir l'équation de Benesi-Hildebrand :

$$\frac{\ell}{\Delta A} = \frac{1}{K\Delta\varepsilon[L]_0} \cdot \frac{1}{[M]} + \frac{1}{[L]_0\Delta\varepsilon}$$

Ainsi, si en traçant la courbe  $\frac{\ell}{\Delta A} = f\left(\frac{1}{[M]}\right)$ , on obtient une droite (d'équation  $y=ax+b$ ) le complexe est alors de stœchiométrie 1/1, et par régression linéaire on détermine sur le graphe les valeurs des paramètres  $\Delta\varepsilon$  et la constante de complexation  $K$ .

En pratique, afin d'effectuer les mesures, des ajouts de 1  $\mu$ L d'une solution de perchlorate de fer  $[\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3]$  dans le DMF ou DMSO sont introduits successivement dans une cuve en quartz de 1 cm contenant 2 mL de la solution du ligand (*Figure VI.1*).



*Figure VI.1 : Cuves en quartz*

### III.2. Mesures par les méthodes électrochimiques

L'électroactivité des complexes de fer formés incorporant ou non une unité rédox permet une caractérisation simple par voltampérométrie cyclique. Cette technique est fiable et facile à mettre en œuvre.

**La voltampérométrie cyclique** consiste à enregistrer les courbes intensité-potentiel  $i = f(E)$  donnant l'intensité du courant d'électrolyse  $i$  en fonction du potentiel  $E$  appliqué à une électrode de travail fixe inattaquable (en platine).

Les études électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'une cellule d'électrolyse comportant trois électrodes (*Figure VI.2*) :

- une électrode de travail (disque de platine de section connue) sur laquelle s'effectuent les réactions d'oxydation ou de réduction,
- une électrode auxiliaire (fil de platine) permettant de fermer le circuit d'électrolyse,
- une électrode de référence (une électrode  $\text{AgCl}/\text{Ag}$  ou un fil d'argent) par rapport à laquelle est mesuré le potentiel de l'électrode de travail.

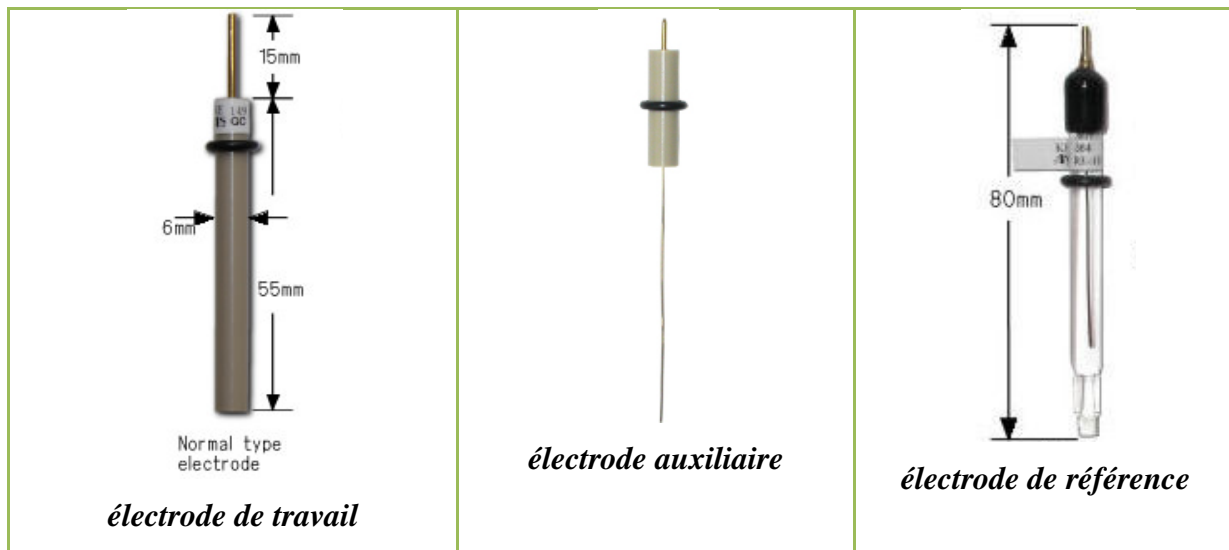


Figure VI.2

Le composé à analyser ( $10^{-3}$ - $10^{-4}$  M) est dissous dans un milieu contenant un solvant et un électrolyte support ( $10^{-1}$  M) de très grande pureté. Ce dernier sert à conduire le courant dans la solution électrolytique ; le solvant quant à lui, devra dissoudre l'électrolyte support et le composé à analyser (Figure VI.3).

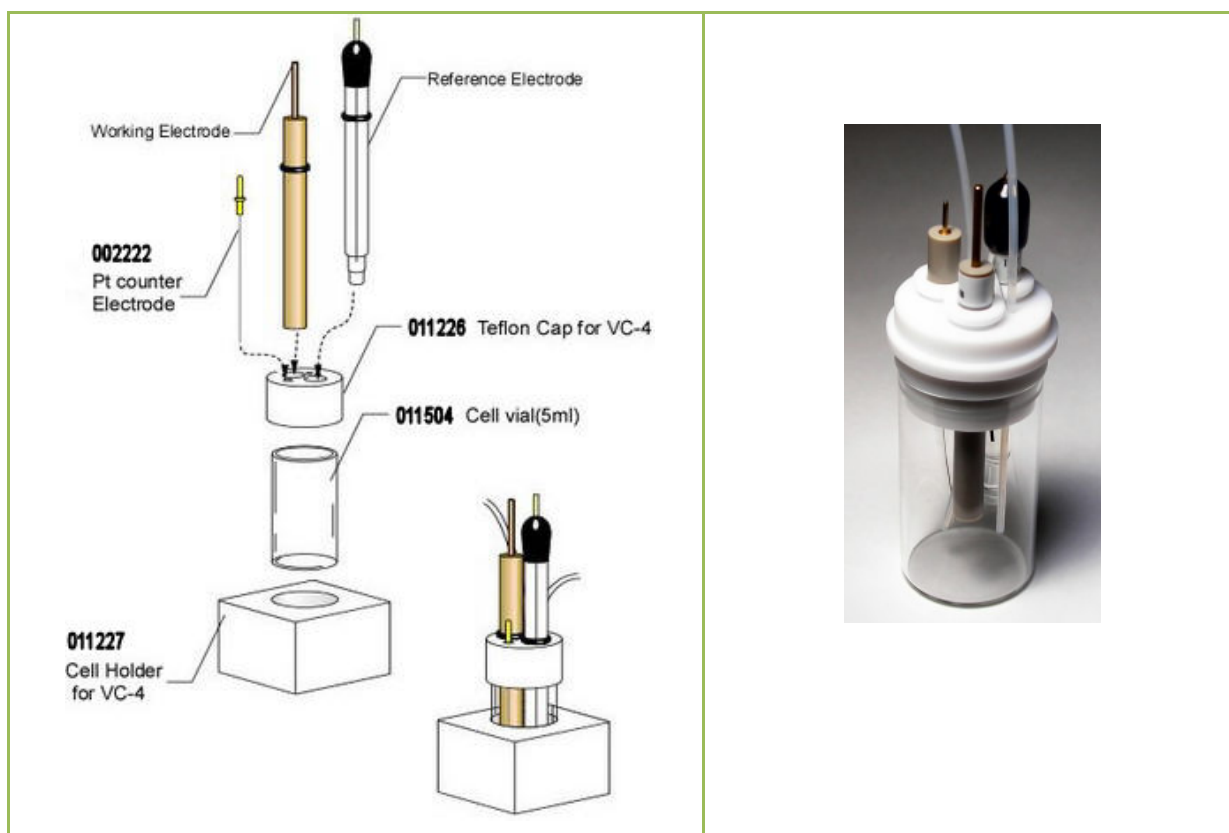
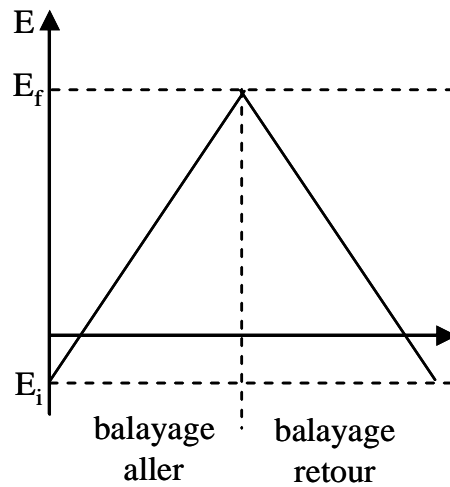


Figure VI.3

On enregistre la courbe  $i=f(E)$ . Le balayage des potentiels est effectué, à l'aller, entre une tension initiale  $E_i$  et une tension finale  $E_f$  et, au retour entre  $E_f$  et  $E_i$  (*Figure VI.4*).



**Figure VI.4.**

L'électrode de travail est fixe et aucune agitation n'a lieu dans la cellule. L'apport des espèces électroactives vers l'électrode de travail ne se fait que par diffusion. Dans ces conditions, la courbe  $i=f(E)$  présente un pic de courant dû au fait que l'état stationnaire n'est pas atteint immédiatement à l'électrode.

En régime de diffusion, le voltampérogramme d'un système en solution (*Figure VI.5*) est caractérisé par :

- une corrélation linéaire entre les valeurs de courants de pic  $i_p$  d'oxydation et de réduction et  $v^{1/2}$ , la racine carré de la vitesse de balayage de la différence de potentiel appliquée. La valeur du courant de pic ( $i_p$ ) est donnée par l'équation de Sevcik-Randles.

$$i_p = (2.69 \cdot 10^5) \cdot A \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2}$$

avec

$i_p$  : courant de pic

$A$  : surface de l'électrode

$n$  : nombre d'électrons échangés dans la réaction d'électrode

$D$  : coefficient de diffusion de l'espèce électroactive

$C$  : concentration de l'espèce électroactive

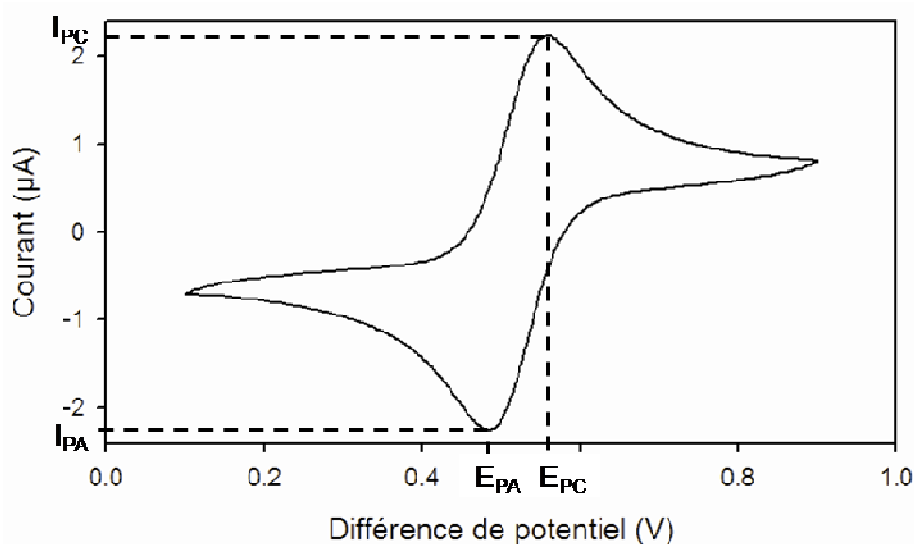
$v$  : vitesse de balayage



Donc, pour une électrode et une espèce électroactive à une concentration donnée, on a :

$$i_p = k \cdot v^{1/2}$$

- un potentiel de pic d'oxydation  $E_{pa}$  supérieur au potentiel de pic de réduction  $E_{pc}$ .
- pour un système rapide, l'écart entre ces deux potentiels est :  $E_{pa} - E_{pc} = 56,5/n$  mV à 25°C.



*Figure VI.5 : Voltampérogramme cyclique du ferrocène en solution dans  $CH_2Cl_2/Bu_4NPF_6$  (0.1 M)*

En pratique, avant chaque utilisation, les électrodes de travail sont polies avec des suspensions diamantées de plus en plus fines. La contre-électrode est nettoyée par une flamme afin de détruire toutes traces de composés organiques résiduels.

L'effet de l'addition de Fe(III) a été suivi en temps réel, en utilisant l'hexafluorophosphate de tétrabutylammonium ( $Bu_4NPF_6$ , 0.1 M) comme électrolyte support. Outre le fait que cet électrolyte support soit soluble dans de nombreux solvants, son choix a été guidé par le souci de minimiser les paramètres pouvant influencer le potentiel d'équilibre. Ainsi, seule la présence de Fe(III) et le volume de la solution sont modifiés lors des ajouts de perchlorate de fer  $[Fe(ClO_4)_3]$ . Pour minimiser au maximum la variation de volume, une solution concentrée ( $10^{-2}$  M) a été utilisée.

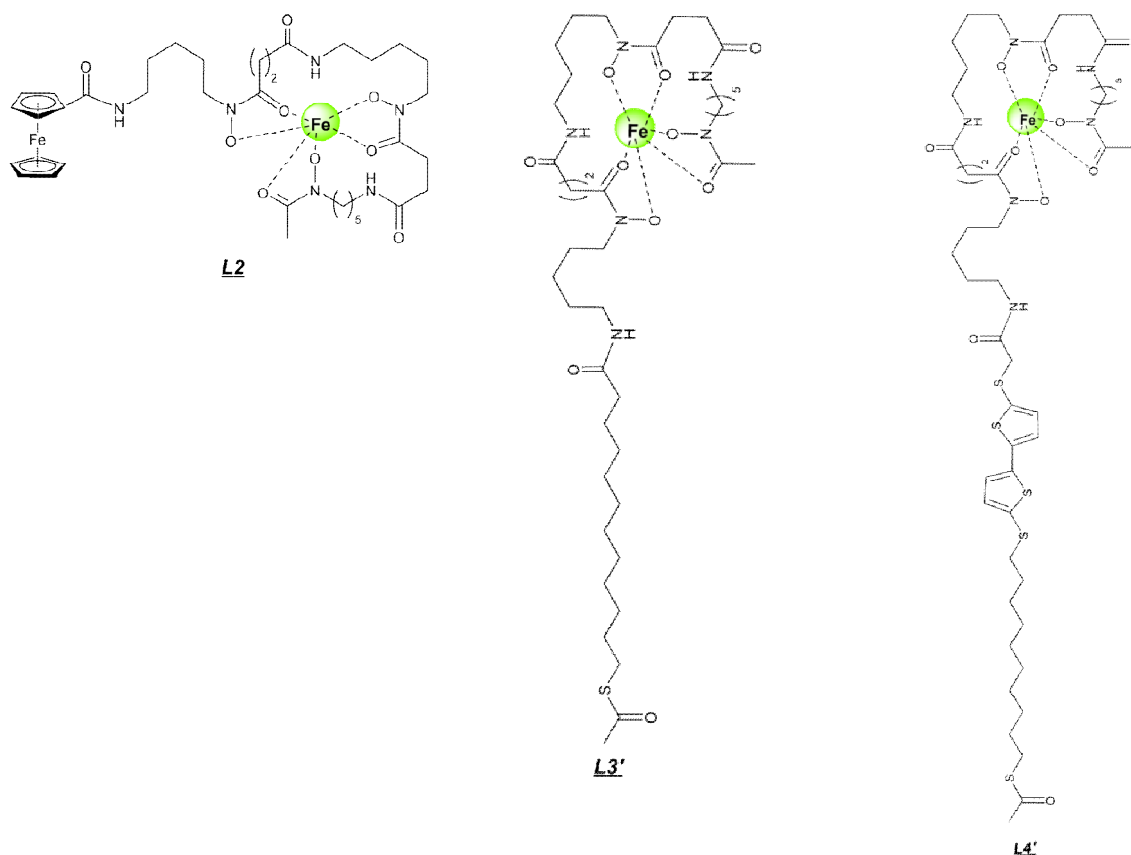
Enfin, toutes les caractérisations électrochimiques ont été réalisées en boîte à gants afin d'éviter des interférences possibles avec l'oxygène ou l'eau.

#### IV.Complexation du Fe(III) par les dérivés de la DFOB :

Cette partie s'attache à évaluer les propriétés de complexation des ligands **L2**, **L3'** et **L4'** à l'égard du fer ferrique (*Figure VI.6*). Cette étude est réalisée par spectrophotométrie UV-visible.

Il est bien établi que les groupements hydroxamates possèdent d'excellentes propriétés de coordination à l'égard de  $\text{Fe}^{3+}$ . Des études de complexation peuvent également contribuer à évaluer l'efficacité d'une connexion au sein de nos systèmes entre le centre rédox et le complexe de fer formé. En particulier, la coordination d'un cation ( $\text{Fe}^{3+}$ ) par la partie hydroxamate devrait, s'il y a existence d'un transfert de charge intramoléculaire (ICT) entre les unités électroactives et le fer complexé, être accompagnée de variations notables dans les comportements optiques et électrochimiques de ces composés.

Les ligands (**L2** et **L4'**) incorporant des entités électroactives (ferrocène et bithiophène), la voltampérométrie cyclique constitue également une méthode adaptée permettant d'apprécier leur capacité à complexer le  $\text{Fe}^{3+}$ . C'est cette méthode qui a été mise en œuvre.



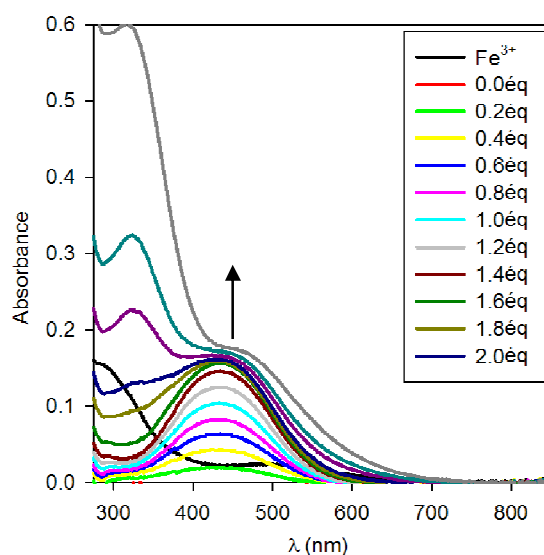
*Figure VI.6.*

## IV.1. Complexation du Fe(III) par des ligands non électroactifs :

### IV.1.1. Complexation du Fe(III) par la DFOB :

#### IV.1.1.1. Étude par spectroscopie UV-visible

Préalablement à l'étude de la complexation des ligands **L2**, **L3'** et **L4'**, nous avons examiné les propriétés spectroscopiques de la DFOB commerciale afin de déterminer les caractéristiques du complexe DFOB/Fe<sup>3+</sup> dans le DMF qui n'était connues qu'en milieu partiellement aqueux et de mettre au point les conditions opératoires pour une détection optimale.



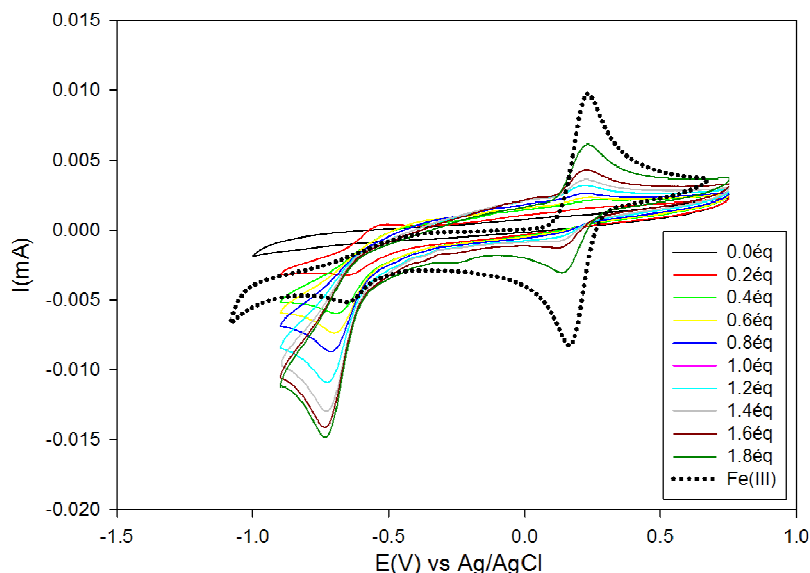
**Figure VI.7 :** Évolution du spectre UV-visible de la DFOB ( $C = 5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMF en fonction de la concentration de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $C = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMF

Étant donné la solubilité très limitée de la DFOB dans les solvants usuels, nous avons travaillé dans le DMF. Le spectre UV-visible du ligand (mésylate de déferrioxamine) est partiellement recouvert par celui du DMF qui absorbe à des longueurs d'onde inférieures à 280 nm (*Figure VI.7*).

Dès lors, nous avons réalisé un titrage du ligand par le Fe(III). Après un temps d'équilibre, nous avons enregistré les spectres d'absorption des solutions de rapport  $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{L}]$  variable, pour une concentration identique en ligand. On observe une augmentation régulière du pic d'absorption à 440 nm lors d'ajouts croissants de Fe(III) jusqu'à atteindre un plateau pour des rapports Fe(III)/ligand  $\geq 1$ . Cette augmentation est caractéristique de la formation d'un complexe (1/1) où l'ion ferrique est hexacoordonné ( $\lambda_{\text{abs}} = 440 \text{ nm}$ ).

### IV.1.1.2. Étude par voltampérométrie cyclique :

Le traitement d'une solution électrolytique de la DFOB dans le DMF par du perchlorate de fer  $[\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3]$ , entraîne l'apparition d'une vague de réduction irréversible du  $\text{Fe}^{3+}$  complexé en  $\text{Fe}^{2+}$  complexé à  $-0.7 \text{ V}$  (Figure VI.8).



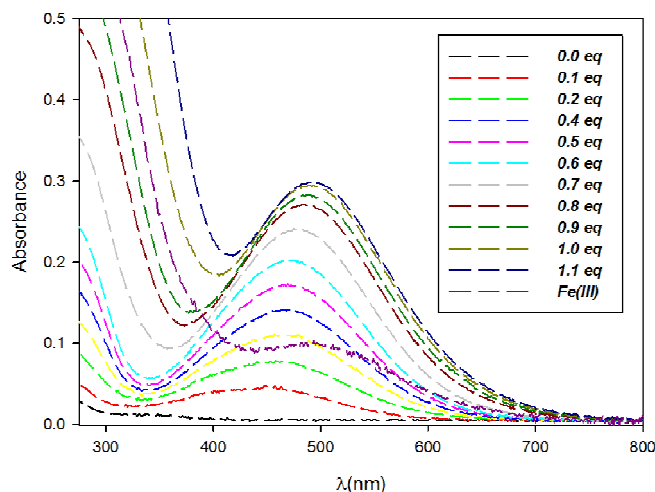
**Figure IV.8 :** Voltampérogramme cyclique de mésylate de la DFOB ( $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMF,  $V=100 \text{ mV. s}^{-1}$

Après addition d'un équivalent de  $\text{Fe}^{3+}$ , on observe l'apparition d'un pic qui correspond à la réduction du  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$  à  $-0.17 \text{ V}$ . Cela indique la formation d'un complexe 1:1 entre la DFOB et l'ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Par ailleurs, on observe l'augmentation du pic de réduction de  $\text{Fe}^{3+}$  complexé après ajout de 1 équivalent. Ce résultat peut être expliqué par la présence d'un pic de réduction de  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}$  qui se situe dans le même domaine de potentiel.

### IV.1.2.Complexation du Fe(III) par le ligand **L3** :

#### IV.1.2.1. Étude par spectroscopie UV-visible :

L'étude de la complexation du  $\text{Fe}^{3+}$  par le ligand **L3'** a été effectuée en utilisant le DMSO comme solvant à cause de la très faible solubilité du ligand. La superposition des spectres d'absorption du ligand **L3'** avec l'ajout progressif de  $\text{Fe}^{3+}$  est présentée en figure VI.9.



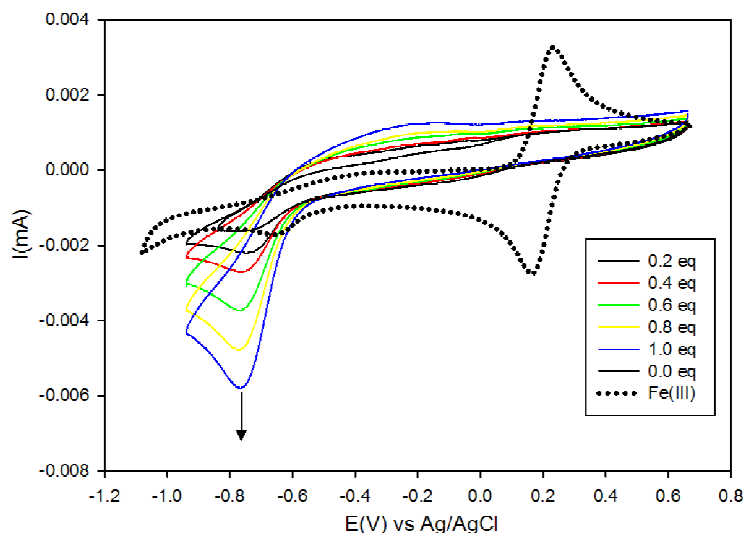
**Figure VI.9 :** Évolution du spectre UV-visible de  $L3'$  ( $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $Fe(ClO_4)_3$  ( $2.5 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMSO

En particulier, on observe l'apparition d'une bande de transfert de charge très large à 445 nm qui caractérise la complexation du fer. D'autre part, la complexation du Fe(III) par les fonctions hydroxamates est donc accompagnée par un déplacement bathochrome spectaculaire de +50 nm pour la bande de transfert de charge, ce qui illustre l'accroissement du caractère électro-attracteur du Fe(III) après complexation par les fonctions hydroxamates.

On peut également constater que la complexation est quasiment complète lors de l'ajout d'un équivalent de Fe(III) à la solution du ligand. C'est un résultat conforme à ceux déjà obtenus pour la DFOB montrant que les dérivés de la DFOB sont aussi fortement complexants du Fe(III), et ce indépendamment de la fonctionnalisation de la DFOB.

#### IV.1.2.2. Étude par voltampérométrie cyclique :

Les études électrochimiques ont été réalisées dans une solution constituées du DMSO :  $Bu_4NPF_6$  (0.1 M). Le voltampérogramme par balayage cyclique des potentiels obtenu est représenté sur la figure VI.10



**Figure VI.10 :** Voltampérogramme cyclique de  $L3'$  ( $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $Fe(ClO_4)_3$  ( $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMSO,  $V=100 \text{ mV. s}^{-1}$

Il est quasiment identique à celui obtenu pour la DFOB. L'ajout de  $Fe^{3+}$  à la solution conduit à l'apparition d'un pic de réduction du complexe  $L3'/Fe^{3+}$  à  $-0.76 \text{ V}$ , ce qui est comparable aux observations antérieures.

## IV.2. Complexation du Fe(III) par des ligands incorporant une sonde électroactive :

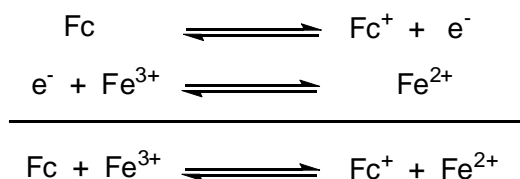
### IV.2.1. Analyses préliminaires

Pour rappel, l'insertion du Fe(III) dans la cavité réceptrice du sidérophore, a pour effet de rendre plus difficile l'oxydation de l'unité électroactive du fait des répulsions électrostatiques engendrées par la présence du Fe(III). Ce phénomène se traduit par une modification du voltampérogramme, associée à la détection du cation.

Pour qu'un tel système fonctionne, une bonne complémentarité Fe(III)-sidérophore n'est pas suffisante. En effet, ces récepteurs doivent non seulement autoriser une communication efficace entre ces deux entités afin que le processus de reconnaissance soit efficacement relayé jusqu'à l'unité électroactive, mais doivent aussi avoir une sonde électroactive dont le potentiel d'oxydation est compatible avec le pouvoir oxydant du Fe(III).

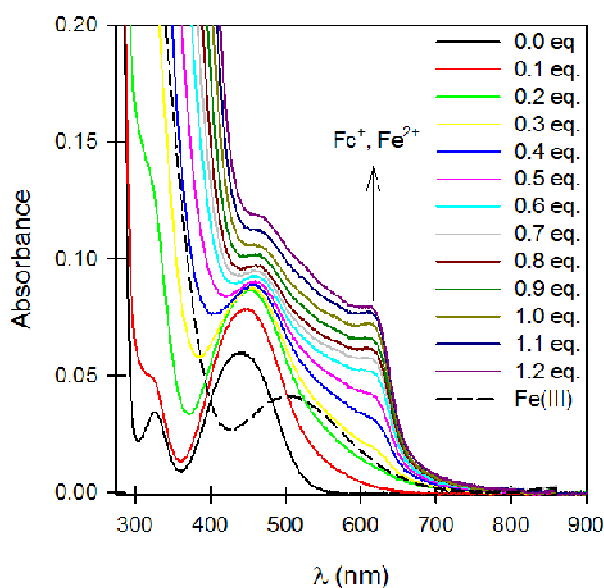
Compte tenu de son électroactivité bien établie (oxydation rapide et réversible à un électron), le ferrocène constitue un prototype largement étudié pour la construction de systèmes rédox

actifs. Par ailleurs, il est connu que le ferrocène, faible potentiel (environ 0.5 V vs ECS), peut être oxydé en présence du Fe(III) lors d'une réaction d'oxydoréduction, dont l'équation est :



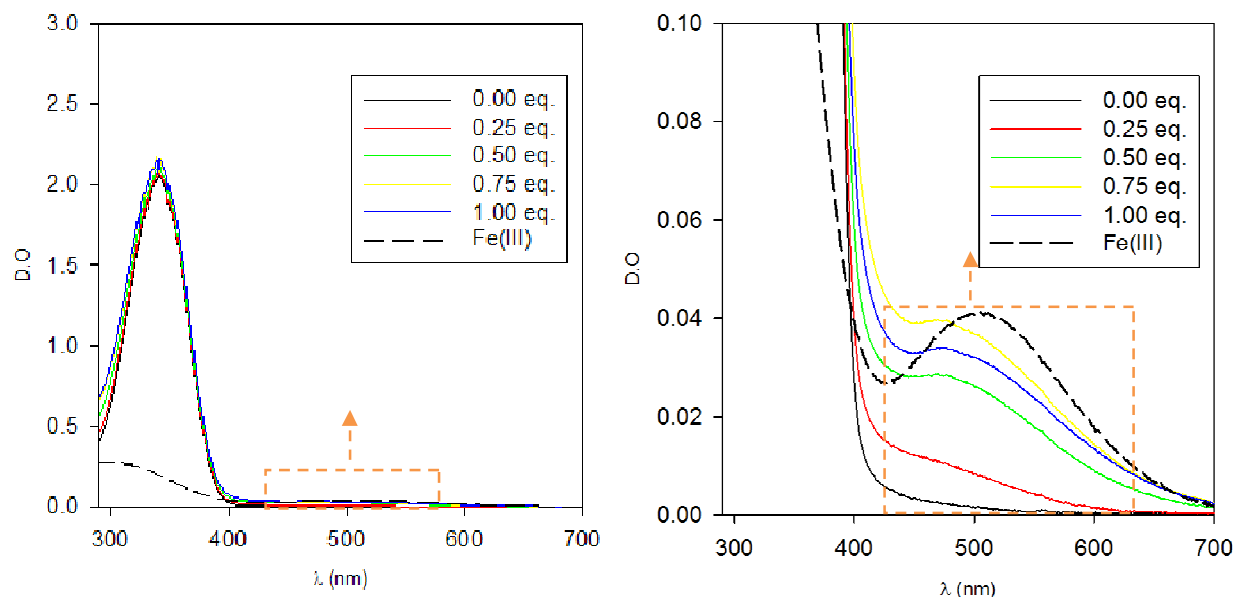
Cette réaction peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible en étudiant la variation du spectre optique d'une solution du ferrocène en fonction de l'ajout d'une quantité stœchiométrique du Fe(III).

En effet, on observe l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption centrée à 615 nm caractéristique de l'oxydation du ferrocène en ion ferricinium ainsi que la disparition de Fe(III) (*Figure IV.11*). La réaction entre le ferrocène et le Fe(III) a bien lieu.



**Figure IV.11** : Évolution du spectre UV-visible du ferrocène ( $5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMF

En revanche, contrairement aux résultats obtenus pour le ferrocène, le bithiophène ne subit aucune oxydation lors de l'ajout d'une quantité croissante de Fe(III). Cela est dû sans doute à son potentiel relativement élevé par rapport à celui du ferrocène (*Figure IV.12*).



**Figure IV.12 :** Évolution du spectre UV-visible du bithiophène (composé 4) ( $5 \times 10^{-4}$  mol. L<sup>-1</sup>) en fonction de la concentration de Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> ( $10^{-2}$  mol.L<sup>-1</sup>) dans le DMF

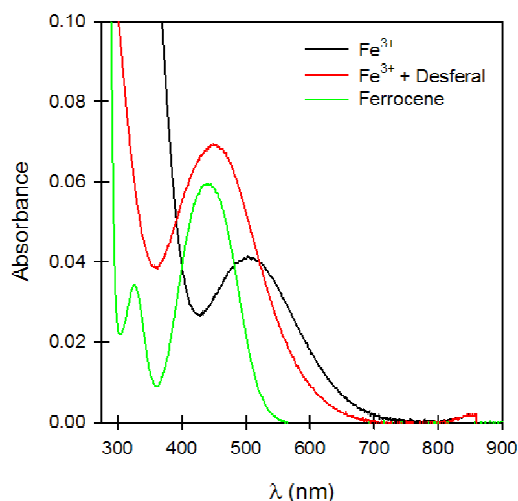
#### IV.2.2. Complexation du Fe(III) par l'analogue du DFOB incorporant un motif ferrocène L2 :

##### IV.2.2.1. Étude par spectroscopie UV-visible :

Préalablement à l'étude de la complexation du Fe<sup>3+</sup> par le ligand L2, nous avons examiné les propriétés spectroscopiques de trois solutions différentes contenant respectivement du fer sous la forme de Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, seul, puis avec de la DFOB et enfin avec du ferrocène. Tout d'abord, nous avons enregistré et comparé les spectres d'absorption afin de déterminer les longueurs d'onde  $\lambda_{\max}$  caractéristiques de ces composés. Celles-ci sont indispensables pour la suite des expériences.

Le Fe(III) libre présente un maximum d'absorption assez large aux alentours de 505 nm, caractérisé par un coefficient d'extinction molaire de l'ordre de  $600 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , tandis que les maxima d'absorption du fer complexé dans le ferrocène et la DFOB sont situés respectivement vers 440 et 450 nm (*Figure VI.13*).





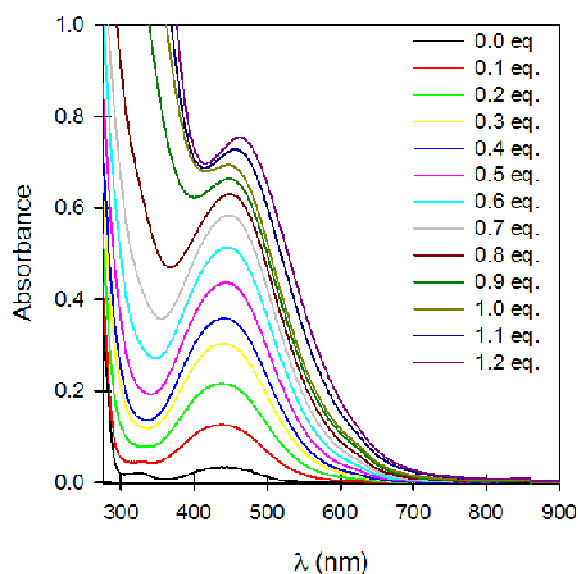
**Figure VI.13 :** Spectres UV-visible des trois solutions dans le DMF

Le tableau ci-dessous regroupe les maxima d'absorption des trois solutions étudiées.

Composé	$\lambda_{\max}$ (nm)
Fe(ClO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	505
Fe <sup>3+</sup> + DFOB	450
Ferrocène	440

**Tableau IV.1**

Nous avons ensuite suivi l'évolution des spectres d'absorption électronique du ligand **L2** en présence de quantités variables de Fe(III) en solution dans le DMF à température ambiante. Les résultats obtenus sont portés sur le graphique ci-dessous

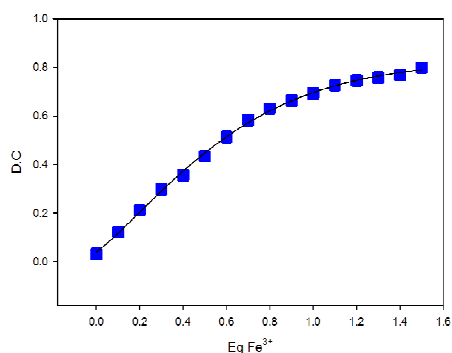


**Figure IV.14 :** Évolution du spectre UV-visible de L2 ( $5 \times 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup>) en fonction de la concentration de Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> ( $10^{-2}$  mol.L<sup>-1</sup>) dans le DMF

Le maximum d'absorption du ligand **L2** est centré à 440 nm, corroborant ainsi les valeurs de la littérature pour un ferrocène substitué<sup>211</sup> L'addition de quantités croissantes de  $\text{Fe}^{3+}$  à une solution diluée du ligand entraîne un déplacement bathochrome et hyperchrome marqué du maximum d'absorption pour atteindre 450 nm après ajout d'un équivalent (*Figure IV.14*).

Par ailleurs, le maximum d'absorption des spectres d'absorption électronique se déplace vers la zone de formation des complexes sans apparition de la bande à 615 nm. Il semble donc que les complexes se forment dans cette zone de concentration en Fe(III) ce qui a pour effet d'inhiber l'oxydation du ferrocène.

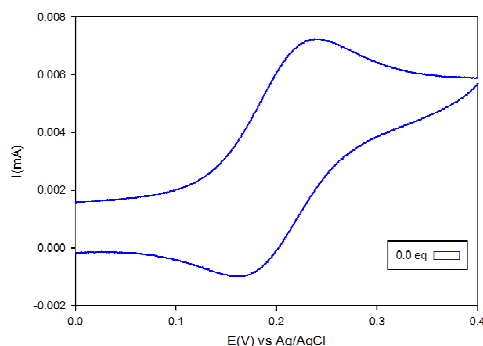
La variation de l'intensité en fonction de la quantité ajoutée de  $\text{Fe}^{3+}$  présente un plateau après un équivalent comme le montre la figure VI.15. Nous avons pu vérifier la stœchiométrie, grâce à l'ensemble de ces résultats, qui suggère la formation d'un complexe 1:1 entre le ligand **L2** et l'ion  $\text{Fe}^{3+}$ .



**Figure IV.15**

### IV.2.2.2. Étude par voltampérométrie cyclique :

La figure VI.16 présente le voltampérogramme cyclique du ligand **L2**.

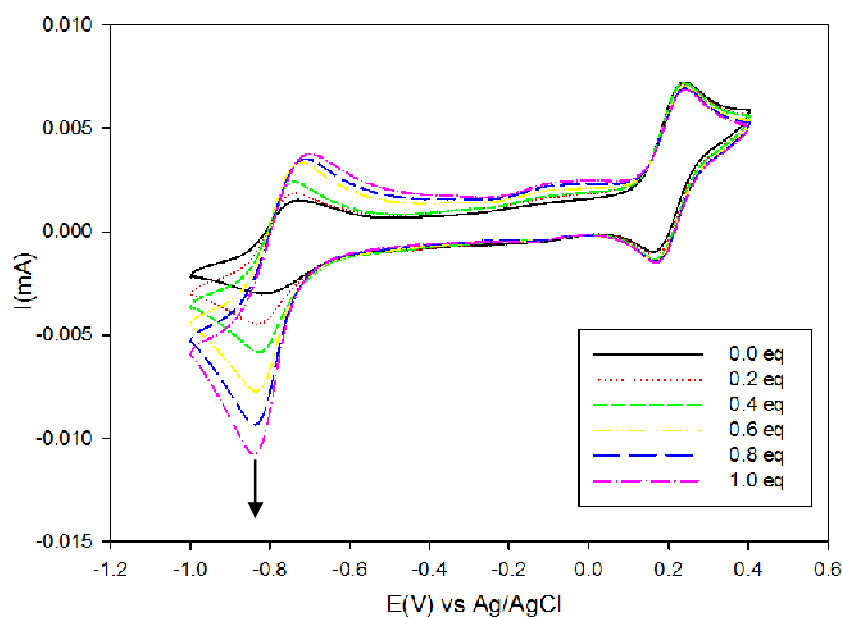


**Figure IV.16 : Voltampérogramme cyclique du ligand **L2**,  $V=100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$**

<sup>211</sup> Yamagucji, Y. ; Kutal, C., *Macromolecules*, **2000**, 33,1152-1156.

Comme attendu, on observe un système rédox réversible lié à l'oxydation et à la réduction de la sous-unité ferrocène.

Par rapport au ferrocène seul en solution, un décalage positif d'environ 0.04V des pics anodique et cathodique, respectivement situé à 0.23 et 0.16 V est observé. Ceci est dû aux effets inductifs et mésomères attracteurs du groupement carbonyle présent sur le motif chélatant qui se propagent jusqu'au squelette ferrocène.

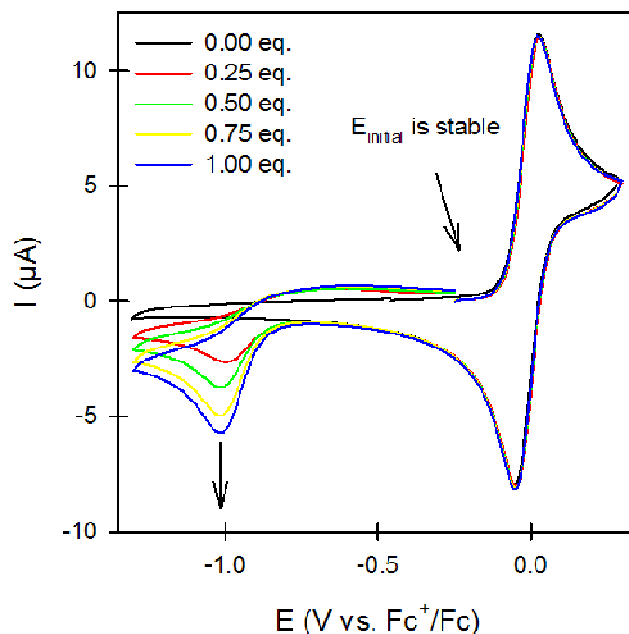


**Figure IV.17 :** Voltampérogramme cyclique du **L2** ( $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMF,  $V=100 \text{ mV. s}^{-1}$

Les changements produits sur le voltampérogramme cyclique du ligand **L2** par l'addition de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  sont présentés dans la figure VI.17.

En absence de  $\text{Fe}^{3+}$ , on observe logiquement une seule vague monoélectronique réversible à 0.2 V, caractéristique de l'oxydation du fragment ferrocène en ferricinium. L'ajout progressif des équivalents de  $\text{Fe}^{3+}$  a pour effet d'accroître l'intensité d'une vague de réduction qui correspond à la réduction du  $\text{Fe}(\text{III})$  complexé autour de -0.82 V. Cette attribution est due à l'absence du pic de réduction du fer libre qui se réduit à des potentiels plus positifs.

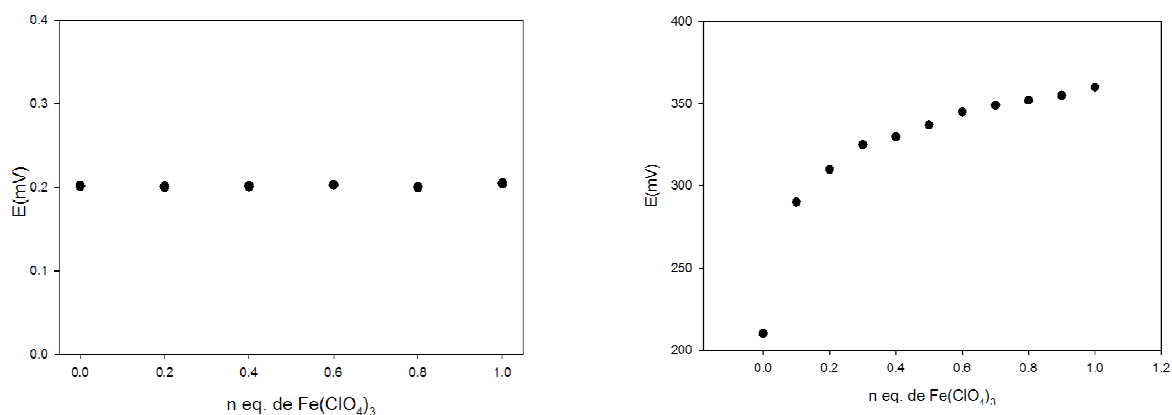
Un comportement similaire à celui du **L2** a été observé en ajoutant des quantités stœchiométriques de perchlorate de fer  $[\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3]$  sur un mélange composé de la DFOB et le ferrocène en solution (*Figure VI.18*). Cette fois, le ferrocène n'est pas lié de façon covalente à la DFOB.



**Figure IV.18 :** Voltampérogramme cyclique du mésylate de la DFOB et le ferrocène en solution dans le DMF en fonction des ajouts de  $Fe(ClO_4)_3$ ,  $V=100\text{ mV. s}^{-1}$

Pour confirmer le rôle joué par le complexe formé entre le ligand **L2** et le fer dans l'inhibition de l'oxydation du ferrocène par les ions ferriques, nous avons étudié l'effet de l'addition de ces ions sur le ferrocène seul et le ligand **L2** en solution en contrôlant le potentiel d'équilibre (Figure VI.19).

La comparaison des courbes d'évolution du potentiel d'équilibre de la cellule met clairement en évidence l'oxydation du ferrocène dès les premiers ajouts de perchlorate de fer  $[Fe(ClO_4)_3]$ . Concernant le ligand **L2**, l'addition du perchlorate de fer  $[Fe(ClO_4)_3]$  jusqu'à un équivalent n'entraîne aucune variation du potentiel d'équilibre.



**Figure IV.19 :** Variation du potentiel d'équilibre du ligand **L2** (à gauche) et du ferrocène (à droite) dans le DMF en fonction des ajouts de  $Fe(ClO_4)_3$

Ce résultat, ainsi que ceux obtenus en spectroscopie UV-visible semblent confirmer la formation d'un complexe 1 :1. Ce dernier, en se formant, protège le motif ferrocène de l'oxydation lié au Fe(III), raison pour laquelle aucune variation du potentiel d'équilibre n'est observée.

Au bilan, la complexation des cations métalliques par des ligands contenant un site rédox induit généralement un décalage positif du premier potentiel d'oxydation à cause de la répulsion électrostatique entre les charges positives du radical cation formé et du cation métallique<sup>212</sup>. Pour le ligand **L2** possédant un groupe rédox (ferrocène), le potentiel d'oxydation reste inchangé en présence du Fe(III) et cette invariance est attribuée au fait que :

- le site de complexation n'est pas dans d'un environnement suffisamment proche du centre rédox pour traduire cette interaction électrostatique.
- Le complexe formé 1:1 est de charge neutre, qui ne peut induire aucune déstabilisation électrostatique du cation ferricinium.

### IV.2.3. Complexation du Fe(III) par l'analogue du DFOB incorporant un motif bithiophène **L4'** :

La complexation du Fe<sup>3+</sup> est étudiée simultanément par absorption électronique et par voltampérométrie cyclique : les spectres d'absorption et les voltampérogrammes cycliques des composés dans le DMSO ou DMF sont enregistrés pour différentes concentrations en cations Fe<sup>3+</sup> à l'aide d'ajouts croissants de perchlorate de fer [Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>] en solution. La concentration en ligand est maintenue constante tout au long du dosage. Le contrôle temporel de la complexation de Fe<sup>3+</sup> dans les trois solutions montre que la réaction, suffisamment rapide, a lieu dans le temps du mélange.

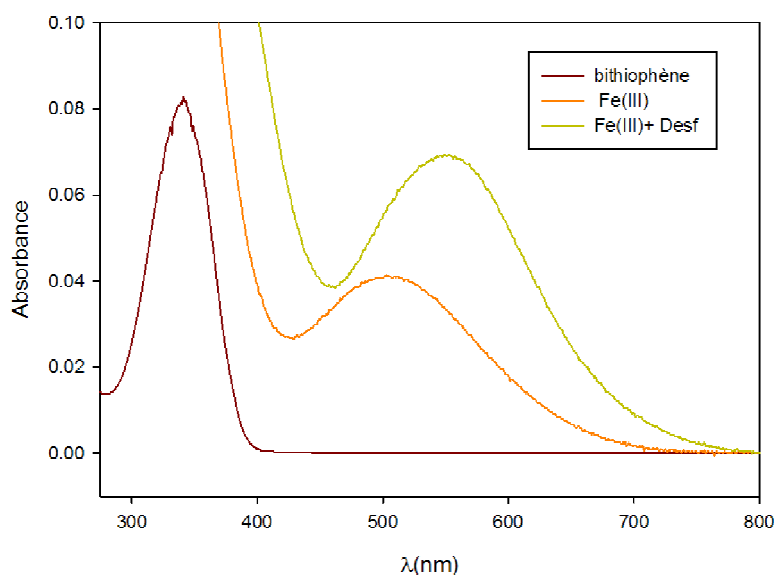
#### IV.2.3.1. Étude par spectroscopie UV-visible

Préalablement à l'étude de complexation de Fe(III), nous avons examiné les propriétés spectroscopiques de trois solutions différentes contenant respectivement du fer sous la forme de Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, seul, puis avec la DFOB et enfin avec un dérivé du bithiophène (composé **4**). Tout d'abord, nous avons enregistré et comparé les spectres d'absorption afin de déterminer les longueurs d'onde  $\lambda_{\max}$  caractéristiques de ces composés.

---

<sup>212</sup> Ma, Y. ; Luo, W. ; Quinn, P. J. ; Liu, Z. ; Hider, R. C., *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 6349–6362

La figure VI.20 présente les caractéristiques optiques du dérivé bithiophénique. La transition électronique caractéristique du chromophore bithiophénique, observée à 345 nm et caractérisée par un coefficient d'extinction molaire de l'ordre de  $20000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , est en accord avec les résultats de la littérature<sup>213</sup>. Le coefficient d'extinction molaire élevé du ligand L1 ( $\sim 20\,000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) permet de travailler avec des solutions de faible concentration ( $0.5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ).



**Figure IV.20 : Spectres UV-visible des trois composés dans le DMF**

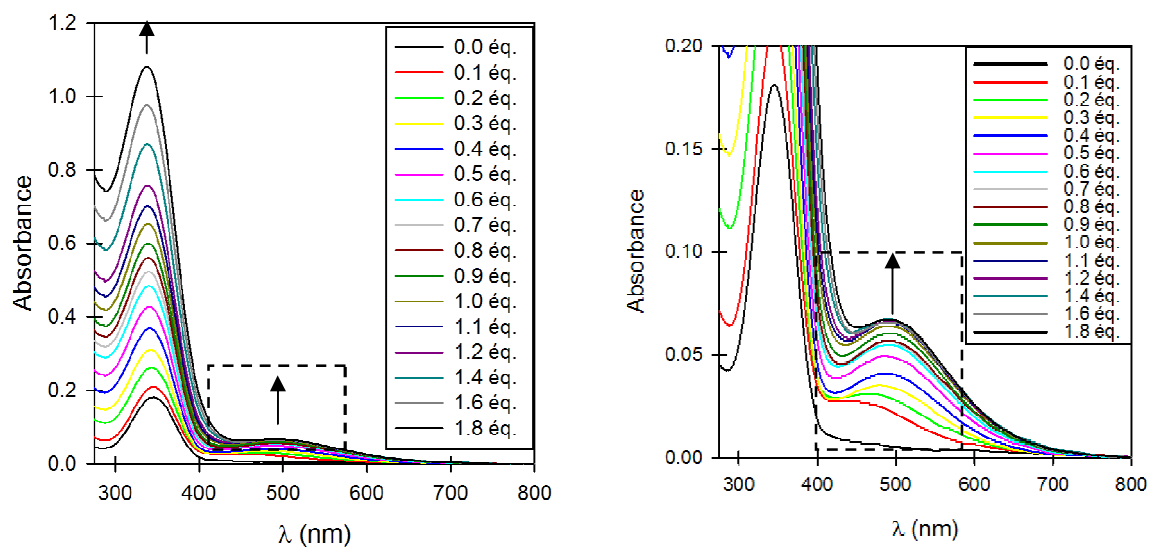
Le tableau ci-dessous regroupe les maxima d'absorption des trois solutions étudiées.

Composé	λ <sub>max</sub> (nm)
Fe(ClO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	<b>505</b>
Fe <sup>3+</sup> + DFOB	<b>450</b>
bithiophène	<b>345</b>

**Tableau IV.2**

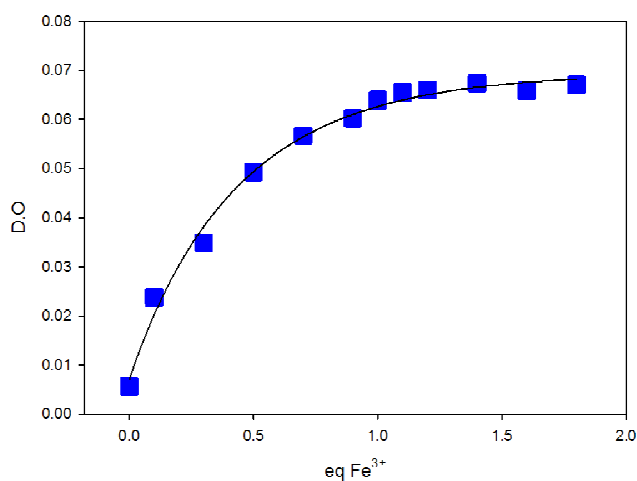
À nouveau pour le ligand bithiophène **L4'**, l'addition d'un équivalent de Fe<sup>3+</sup> entraîne une augmentation du coefficient d'absorption molaire avec l'ajout de Fe<sup>3+</sup> de la bande à 345 nm qui correspond au bithiophène. On observe surtout l'apparition d'une bande à 492 nm accompagnée par un léger déplacement bathochrome. Celle-ci est caractéristique de la formation d'un complexe où l'ion ferrique est hexacoordonné et sa saturation après ajout de 1 équivalent de Fe<sup>3+</sup> suggère la formation d'un complexe **L4'**- Fe<sup>3+</sup> 1:1.

<sup>213</sup>. Guyard, L. ; Hapiot, P. ; Jouini, M. ; Lacroix, J.-C. ; Lagrost, C., *J. Phys. Chem. A.*, **1999**, 10, 4009-4015.



**Figure IV.20 :** Évolution du spectre UV-visible de  $L4'$  ( $5 \times 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $Fe(ClO_4)_3$  ( $2.5 \times 10^{-2} \text{ mol. L}^{-1}$ ) dans le DMSO

Par ailleurs, l'étude de l'évolution de l'intensité en fonction de la quantité ajoutée de  $Fe^{3+}$  à 487 nm se traduit par l'apparition d'un palier pour un équivalent en cation, ce qui met bien évidence d'une part la stœchiométrie 1:1 du complexe et d'autre part sa stabilité (*Figure VI.21*).



**Figure IV.21**

#### IV.2.3.2. Étude par voltampérométrie cyclique :

Nous avons ensuite entrepris l'étude par voltampérométrie cyclique de la complexation des ions  $Fe(III)$ . Malgré la solubilité restreinte du ligand, différentes conditions ont été testées.

Le cahier des charges requiert l'utilisation du DMSO ou DMF, nous avons tout d'abord travaillé dans le DMF, dans des conditions similaires à celles employées pour le ligand **L2** (cf. IV.1.2.2.2).

L'apparition d'une vague de réduction irréversible à -0.81 V (figure non représentée) montre que les trois fonctions hydroxamates présentes sur le composé **L4'** assurent une coordination complète du Fe(III) en formant rapidement un complexe stable. Cependant, dans le cas présent, nous n'observons pas la signature électrochimique qui correspond au motif bithiophène. Cela est dû d'une part au potentiel élevé du motif bithiophène et d'autre part à l'oxydation du solvant avant l'apparition de la vague du bithiophène. Afin de palier ce problème, nous avons changé plusieurs facteurs (sel de fond, température, électrode de travail) qui permettent d'élargir la zone électroactive du solvant.

Les essais effectués n'ont pas donné de meilleur résultat quelles que soient les conditions employées. Toutefois, il est difficile d'évaluer l'importance que pourraient avoir la sonde bithiophénique dans le processus de détection de la complexation. Cette sonde ne nous a pas permis de pousser plus loin nos recherches. Au vu de ces premières observations, le ligand **L5** qui contient le radical TEMPO ( $E_{TEMPO} < E_{Bithiophène}$ ) nous semblerait être le bon candidat qui pourrait donner de meilleurs résultats.

## V. Évaluation des propriétés de complexations des analogues du ferrichrome

Une étude complète des complexes Fe(III)-ferrichrome (**L6'** et **L7'**) n'a pas pu être réalisée dans le temps imparti à ce travail de thèse. En revanche, pour avoir une première idée des effets optiques induits par la complexation, nous présentons les caractérisations électrochimiques et spectrophotométriques UV-visible du ligand **L1** et sa comparaison avec celles du composé **18**.

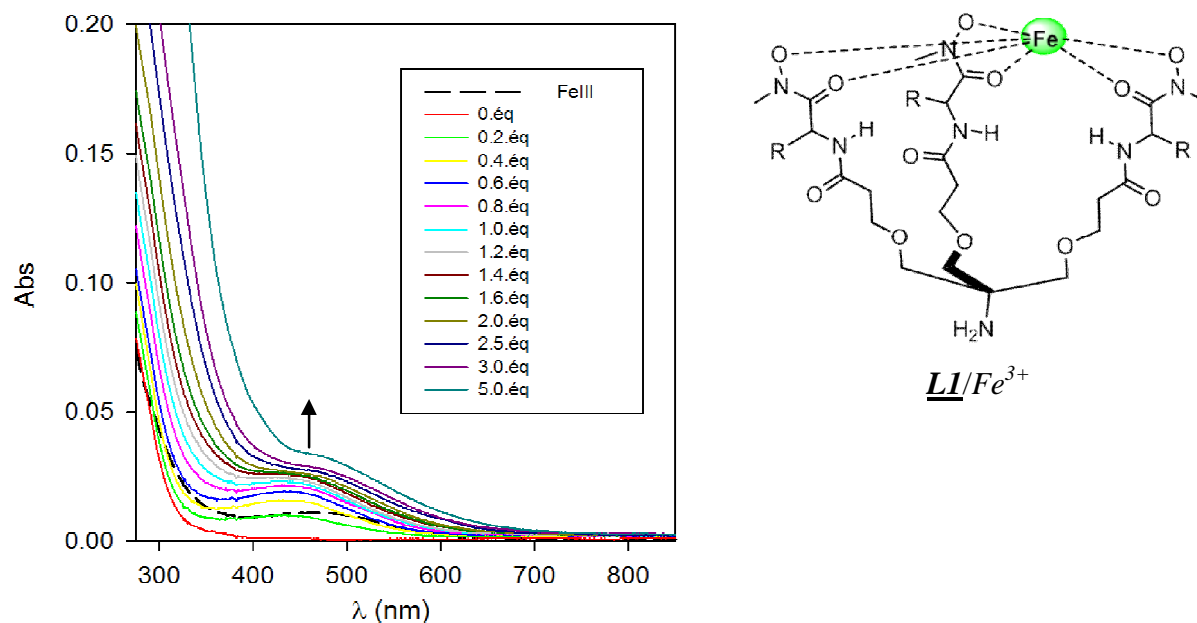
### V.1. Complexation du Fe(III) par **L1** :

#### V.1.1. Étude par spectroscopie UV-visible

La figure VI.22 présente les changements du spectre UV-visible du ligand **L1**, lors d'ajouts successifs de Fe(III). Une bande à 497 nm apparaît et augmente en intensité. On note aussi, qu'au-delà d'un équivalent de Fe<sup>3+</sup>, le spectre UV-visible n'évolue plus. En

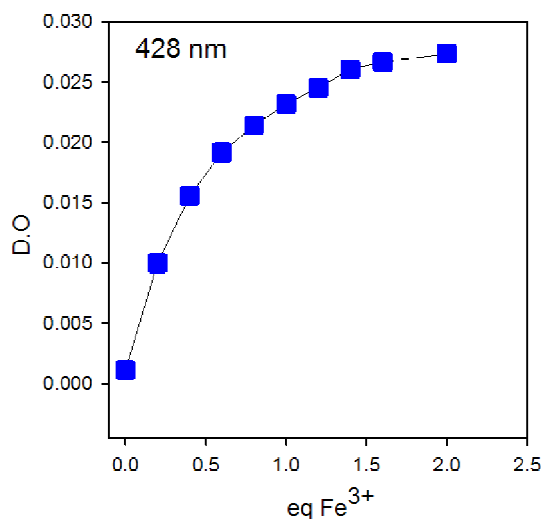


conséquence, ce résultat conforte l'attribution de la transition à 497 nm associée au complexe de stœchiométrie 1/1 ( $\underline{\text{LI}}/\text{Fe}^{3+}$ ).



**Figure IV.22 :** *Évolution du spectre UV-visible du ligand  $\text{LI}$  ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans DMF*

On note également qu'il n'y a plus de changement du spectre d'absorption (paliers) à partir d'un équivalent de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ajouté ce qui est en accord avec la formation d'un complexe 1:1 (Figure VI.23).



**Figure IV.23**

## V.2. Complexation du Fe(III) par le composé **18** :

### V.2.1. Étude par spectroscopie UV-visible

Afin de confirmer les résultats obtenus précédemment, une étude de complexation de  $\text{Fe}^{3+}$  en solution du composé **18** (Figure VI.24) qui présente une meilleure solubilité que le ligand **L1** dans le DMF a été effectuée.

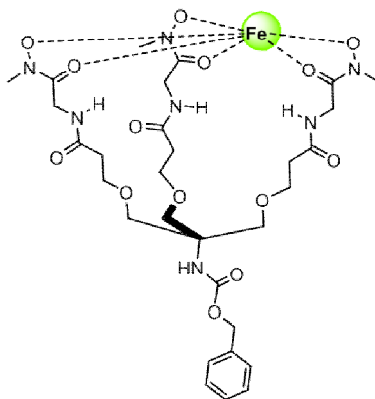


Figure IV.24 : **18**/Fe (III)

La bande spécifique due à la formation du complexe à 497 nm est attribuée au complexe **18**/Fe (III) (Figure VI.25), par analogie à **L1**.

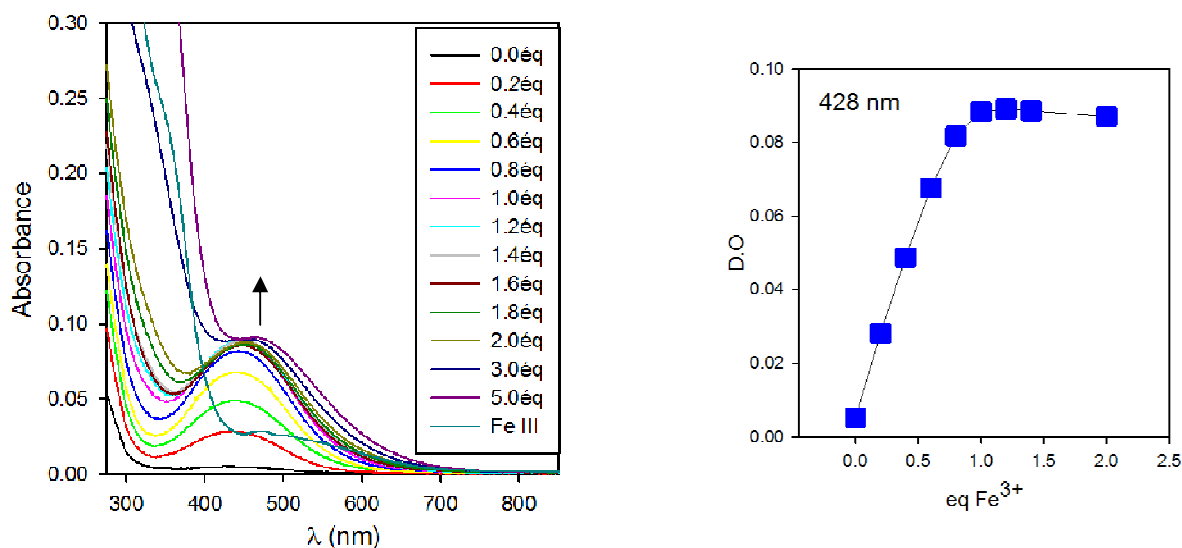


Figure IV.25 : Évolution du spectre UV-visible du composé **18** ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) en fonction de la concentration de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans DMF

Au bilan, les ligands hydroxamiques du ferrichrome forment avec les ions ferriques des complexes présentant une large bande d'absorption dans le visible par transfert de charge

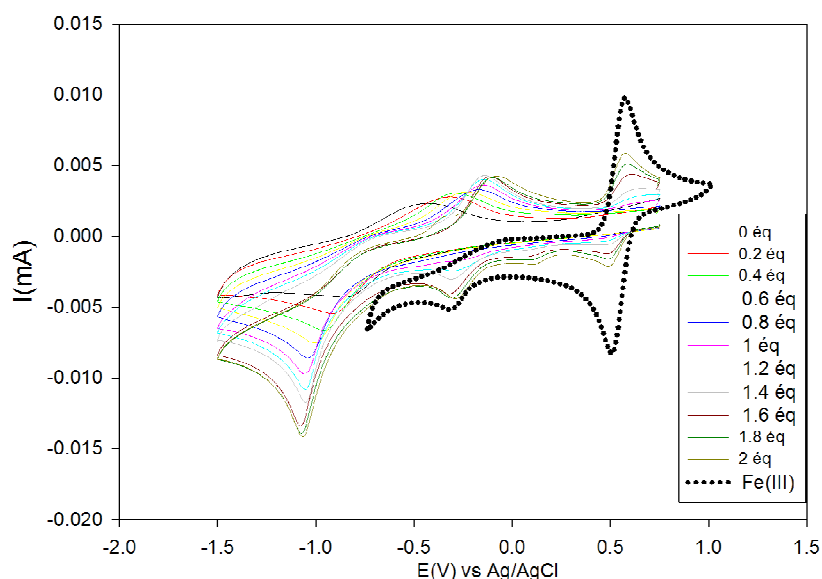
ligand-métal (LMCT). La longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption est fonction du mode de coordination de l'ion ferrique et ce indépendamment de la structure du ligand<sup>214</sup>.

### V.2.2. Étude par voltampérométrie cyclique :

Le voltampérogramme du composé **18** (Figure VI.25), enregistré dans le DMF, présente en particulier la vague monélectronique irréversible à -1.1 V correspondant à la réduction du complexe Fe(III)/**18**.

L'addition de quantité croissante de perchlorate de fer [Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>] sur le ligand **18** entraîne l'accroissement de la vague de réduction du complexe formé. Au delà d'un équivalent en cation, on observe l'apparition de deux vagues, la première associée à la réduction du Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>, et une deuxième correspondant à la réduction du Fe<sup>2+</sup> en Fe.

Ces observations confirment la formation d'un complexe 1/1 entre le ligand **18** et Fe(III), par analogie aux études faites sur les analogues de la DFOB.



**Figure IV.25 :** *Voltampérogramme cyclique du composé **18** en solution ( $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans le DMF en fonction des ajouts de  $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$  ( $10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ ),  $V=100 \text{ mV. s}^{-1}$*

Il est important de signaler que le potentiel de réduction du complexe Fe(III)/**18** est inférieur aux valeurs annoncés pour les analogues de la DFOB. Cela a permis de visualiser clairement l'apparition de la vague de réduction du Fe(II) en Fe après ajout d'un équivalent en cation.

<sup>214</sup> Dhungana, S. ; Heggemann, S. ; Gebhardt, P. ; Mollmann, U. ; Crumbliss, A.L., *Inorg.Chem.*, **2003**, 42, 42-50.

**Chapitre V :**  
**Électrode modifiée par auto-**  
**assemblage sur monocouche :**



### I. Électrode modifiée par auto-assemblage sur monocouche :

#### I.1. Introduction :

Un des buts de la reconnaissance électrochimique de cations est l'élaboration de capteurs chimiques. La réalisation de ces capteurs requiert l'immobilisation de ces ligands au sein d'une couche sensible déposée sur une surface conductrice. En dépit de l'importance de l'étape d'immobilisation, les méthodes d'immobilisation de composés moléculaires à la surface d'un solide sont nombreuses et variées. On peut citer la technique sol-gel<sup>215,216,217,218,219</sup> la formation de monocouches de type Langmuir-Blodgett<sup>220</sup>, la formation de monocouches auto-assemblées basée sur l'interaction forte entre un groupement thiol ou disulfure et une surface d'or<sup>221</sup>, ou l'électropolymérisation de dérivés du pyrrole<sup>222</sup>. Parmi toutes ces possibilités, sans doute grâce à leur simplicité et leur efficacité, l'électropolymérisation et la formation de monocouches auto-assemblées sont les techniques les plus utilisées pour la modification de surface d'électrodes par des matériaux rédox-actifs.

#### I.2. Les monocouches organiques auto-assemblées sur surface d'or :

##### I.2.1. Substrats :

Plusieurs types de recouvrements métalliques de surface permettent une bio-fonctionnalisation du support. Parmi eux, les plus utilisés sont l'or, argent, cuivre, palladium, platine, et mercure. Une grande majorité des études menées aux interfaces ont lieu sur des surfaces d'or. Tout d'abord, l'or est un métal relativement inerte et ensuite il peut facilement former des films minces qui peuvent être utilisés comme support d'étude pour différentes techniques de caractérisation telles que la voltampérométrie, la microbalance à cristal de quartz (QCM), microgravimétrie, la SPR ou encore l'ellipsomètre. Les surfaces d'or sont principalement modifiées par la formation d'une monocouche auto-assemblée, notée SAM pour Self-Assembled Monolayer.

---

<sup>215</sup> Yoldas, B. E., *J. Non-Cryst. Solids*, **1986**, 83, 375.

<sup>216</sup> Zerda, T. W. ; Artaki, I. ; Jonas, J., *J. Non-Cryst. Solids*, **1986**, 81, 365.

<sup>217</sup> Chen, K. C. ; Tsuchiya, T. ; MacKensie, J. D., *J. Non-Cryst. Solids*, **1986**, 81, 227.

<sup>218</sup> Debsikdar, J. C., *Adv. Ceram. Mater.*, **1986**, 1, 93.

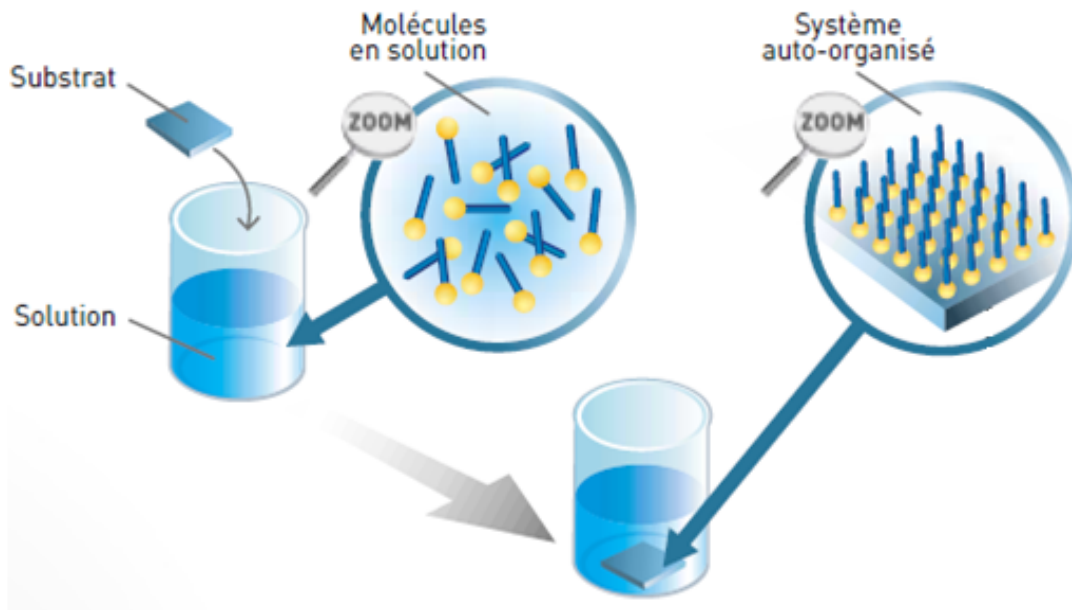
<sup>219</sup> Dvorak, O.; De Armond, M. K. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 2464.

<sup>220</sup> Facci, J. S.; Falcigno, P. A.; Gold, J. M. *Langmuir* **1986**, 2, 732.

<sup>221</sup> Flink, S.; Van Veggel, F. C. J. M.; Reinhoudt, D. N. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 6515.

<sup>222</sup> McQuade, D. T.; Pullen, A. E.; Swager, T. M. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 2537.

La modification d'une surface d'or par des monocouches auto-assemblées a suscité beaucoup d'intérêt depuis la première publication, en 1983 (Nuzzo et Allara<sup>223</sup>), décrivant cette technique d'immobilisation. La formation de monocouches auto-assemblées est réalisée spontanément par simple trempage d'une électrode d'or dans une solution contenant un dérivé thiol ou disulfure (*Figure V.1*). Comme la modification par adsorption, cette technique permet d'obtenir un recouvrement maximal d'une fine monocouche.



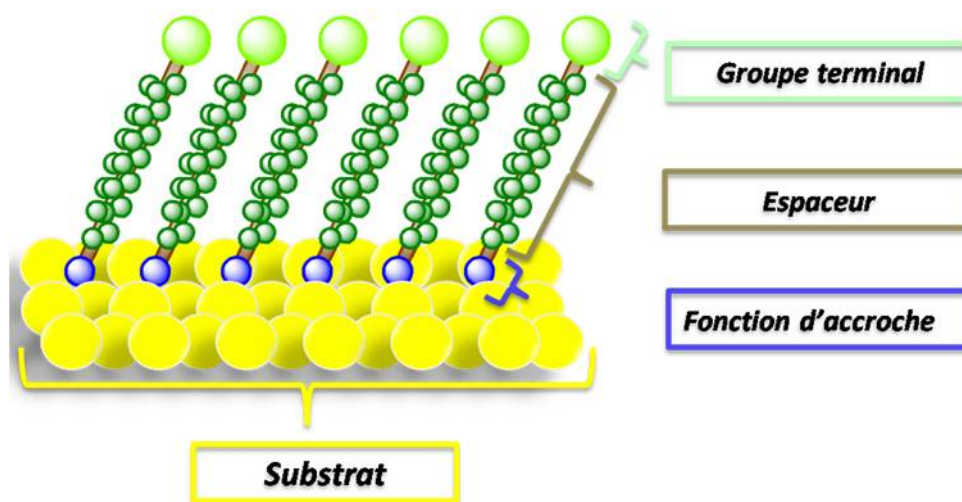
**Figure V.1 :** *Schéma de la technique de formation des monocouches autoassemblées.*

### I.2.2. Définition et méthodes d'élaboration d'une SAM :

#### I.2.2.1. Définition :

Comme nous l'avons évoqué dans le deuxième chapitre, les molécules précurseur de SAMs comportent généralement trois parties qui ont chacune un rôle à jouer (*Figure V.2*).

<sup>223</sup> Nuzzo, R. G. ; Allara, D. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 4481.



**Figure V.2 :** *Représentation schématique d'une SAM sur un substrat métallique.*

**Un site d'ancrage :** qui possède un atome (dans le cas du thiol ou sulfure) ou un disulfure. La chimisorption du thiol se fait grâce à une addition oxydative de la liaison SH, conduisant à la formation d'une liaison S-Au et à la libération d'une molécule de dihydrogène. L'adsorption des disulfures s'effectuerait, quant à elle, par addition oxydative des thiolates issus du clivage de la liaison S-S. Ce mécanisme conduirait à la formation de deux liaisons S-Au. Il a été prouvé que les monocouches formées à partir de thiols et de disulfures ne diffèrent pas au niveau de leurs propriétés physiques.

**Un espaceur :** c'est la partie qui sépare la fonction d'accroche de la fonction terminale. De nombreuses études ont montré que la longueur et le type d'espaceur choisis avaient une influence importante sur les caractéristiques structurales de la monocouche<sup>224,225,226</sup>. L'espaceur le plus souvent utilisé est une chaîne alkyle linéaire comportant 8 à 15 carbones, ce qui correspond aux longueurs connues pour fournir des monocouches stables et bien organisées<sup>227,228</sup>. La stabilité et l'organisation d'une monocouche sont obtenues essentiellement grâce à l'établissement d'interactions de van der Waals entre les chaînes aliphatiques. En revanche, les interactions de type liaisons H ou dipôle-dipôle peuvent contribuer à la formation des SAMs<sup>229,230,231</sup>.

<sup>224</sup> Bareman, J. P. ; Klein, M. L., *Journal of Physical Chemistry*, **1990**, 94, 5202-5205.

<sup>225</sup> Ulman, A., *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 1533.

<sup>226</sup> Brust, M. ; Walker, M. ; Bethell, D. ; Schiffrin, J. ; Whyman, R., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1999**, 737.

<sup>227</sup> Valiokas, R. ; Stblom, M. ; Svedhem, S. ; Svensson, S. C. T. ; Liedberg, B. *Journal of Physical Chemistry B*, **2002**, 106, 10401-10409.

<sup>228</sup> Ferguson, M. K. ; Lohr, J. R. ; Day, B. S. ; Morris, J. R., *Physical Review Letters*, **2004**, 92, 732011-732014.

<sup>229</sup> Love, J.C. ; Estroff, L.A. ; Kriebel, J. K. ; Nuzzo, R.G. ; Whitesides, G.M., *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 1103.

<sup>230</sup> Schreiber, F., *J. Phys. Condens. Matter*, **2004**, 16, 881.

<sup>231</sup> Schreiber, F., *Progress in Surface Science*, **2000**, 65,151.



**Un groupe terminal** : est la partie qui représente l'extrémité de la molécule. La possibilité d'insérer des groupes fonctionnels différents sur la partie terminale des monocouches permet d'accéder à une grande variété de surfaces qui présente des propriétés mécaniques, chimiques et physiques différentes. Grâce à ses possibilités, la modification de surfaces par des SAMs a rapidement trouvé des applications liées à la protection des métaux contre la corrosion et au contrôle des propriétés de mouillabilité et de friction des surfaces. Par la suite, des SAMs plus élaborées ont été développées dans le domaine des capteurs chimiques ou biologiques, de l'électronique plastique et de l'électronique moléculaire.

Par ailleurs, il existe un certain nombre de facteurs expérimentaux qui peuvent affecter la structure de la SAM et la vitesse de sa formation : le solvant, la température, la concentration, le temps d'immersion, la teneur d'oxygène dans la solution, la rugosité de surface du substrat, la longueur de la chaîne et la structure de la fonction terminale.

### **I.2.2.2. Méthodes de formation des SAMs :**

L'introduction du groupement terminal d'intérêt peut se faire avant ou après formation de la SAM. En effet, la préparation des monocouches auto-assemblées peut s'effectuer *via* deux stratégies différentes :

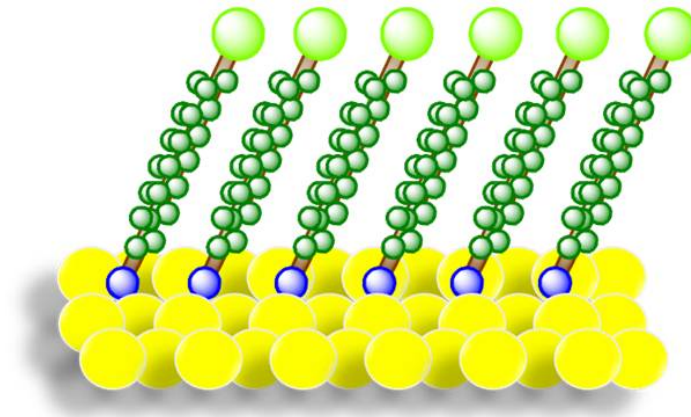
- Méthode directe : greffage d'une molécule dont le groupement terminal est déjà fixé.
- Méthode indirecte : la post-fonctionnalisation d'une électrode modifiée, le groupement terminal étant introduit postérieurement<sup>232</sup>.

#### **I.2.2.2.1. Méthode directe :**

Les thiols (R-SH), les sulfures (R-S-R) et les disulfures (R-S-S-R) s'autoassemblent rapidement sur l'or (moins d'une heure) par leur simple mise en contact avec la surface. Dans le cas où les thiols présentent une longue chaîne alkyle (>8), la SAM formée a une structure cristalline : une fois que les molécules sont adsorbées sur la surface, elles se réorganisent pour donner une monocouche parfaitement ordonnée. Ce processus prend plusieurs heures après l'adsorption initiale de la monocouche (*Figure V.3*).

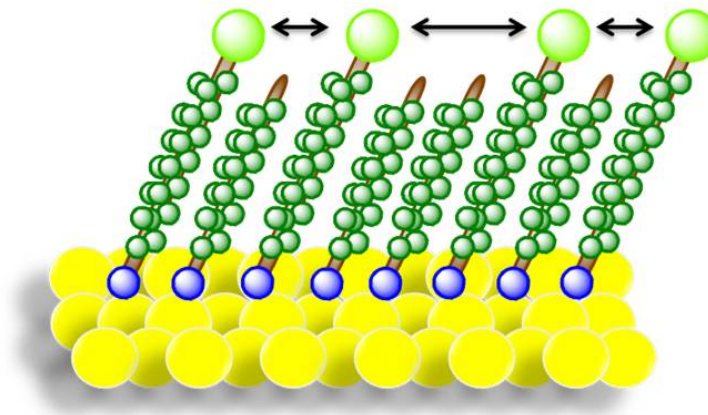
---

<sup>232</sup> Zhang, Y. ; Luo, S. ; Tang, Y. ; Yu, L. ; Hou, K.-Y. ; Cheng, J.-P. ; Zeng, X. ; Wang, P. G., *Analytical Chemistry*, **2006**, 78, 2001-2008.



**Figure V.3 :** *Représentation schématique d'une SAM formée par la méthode directe.*

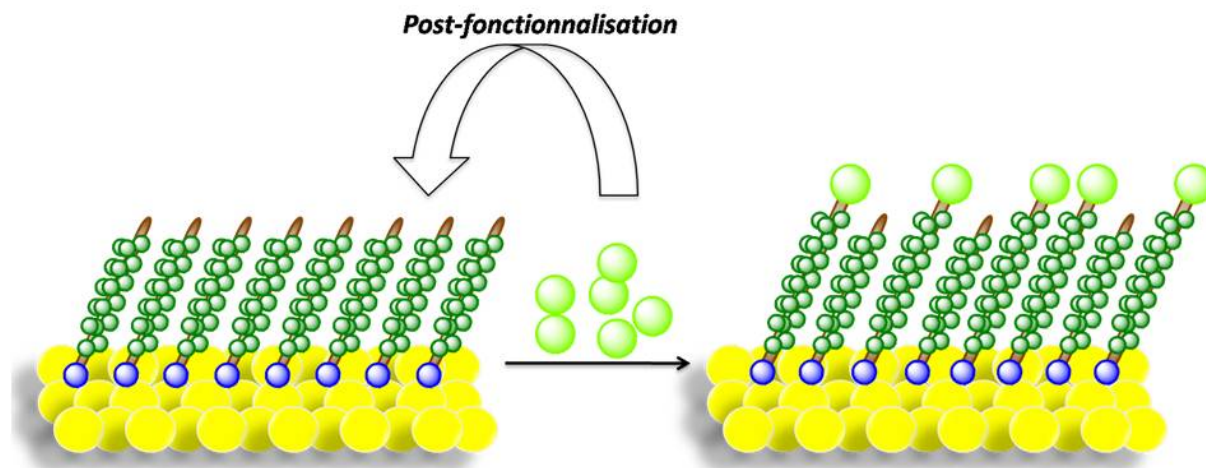
Dans le cas où le groupe terminal présente une structure tridimensionnelle ramifiée, qui provoque des gênes stériques au sein de la monocouche, une stratégie alternative consiste à mélanger la molécule cible et des thiols aliphatiques conduisant à une SAM mixte (*Figure V.4*). Celle-ci est capable d'améliorer la stabilité et l'organisation de la monocouche *via* la rigidification du système par l'augmentation des interactions de type *van der Waals* entre les chaînes de thiols aliphatiques.



**Figure V.4 :** *Représentation schématique d'une SAM mixte*

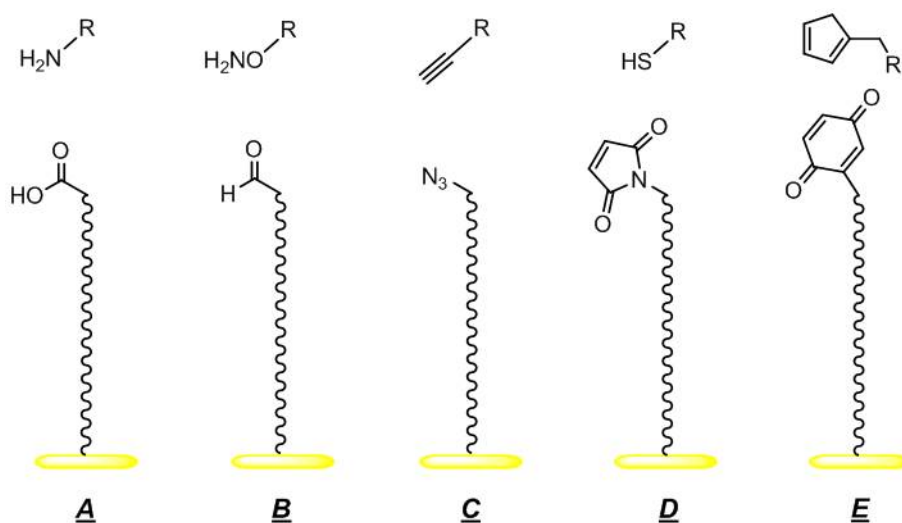
#### I.2.2.2.2. Méthode indirecte :

Dans le cas où la monocouche, dépourvue du groupement terminal, est préalablement formée (*Figure V.5*).



**Figure V.5 :** Représentation schématique d'une SAM élaborée par post-fonctionnalisation (méthode indirecte)

De multiples réactions sélectives peuvent ensuite être utilisées pour la post-fonctionnalisation : formation d'un lien amide<sup>233</sup> (A) ou d'un lien oxime<sup>234, 235, 236</sup> (B), cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgens<sup>237</sup> (C), réaction entre un maléimide et un thiol<sup>238</sup> (D), réaction de Diels-Alder<sup>239,240</sup> ... (Figure V.6).



**Figure V.6 :** Représentation des différentes possibilités de couplage d'une molécule R sur une SAM. A) lien amide B) lien oxime C) cycloaddition 1,3-dipolaire (Click) D) thiol/maléimide E) réaction de Diels-Alder.

<sup>233</sup> Choi, S. ; Murphy, W.L. *Langmuir*, **2008**, 24, 6873-6880.

<sup>234</sup> Westcott, N.P. ; Pulsipher, A. ; Lamb, B.M. ; Yousaf, M.N. *Langmuir*, **2008**, 24, 9237-9240.

<sup>235</sup> Park, S. ; Yousaf, M.N. *Langmuir*, **2008**, 24, 6201-6207.

<sup>236</sup> Chan, E.W.L. ; Yousaf, M.N. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 15542-15546

<sup>237</sup> Hudalla, G.A. ; Murphy, W.L., *Langmuir*, **2009**, 25, 5737-5746.

<sup>238</sup> Houseman, B.T. ; Gawalt, E.S. ; Mrksich, M., *Langmuir*, **2003**, 19, 1522-1531.

<sup>239</sup> Mrksich, M. *Chem. Soc. Rev.*, **2000**, 29, 267-273.

<sup>240</sup> Kato, M. ; Mrksich, M., *Biochemistry*, **2004**, 43, 2699-2707.

Chaque méthode d'immobilisation présente des avantages et des limitations. La formation du lien amide est la méthode la plus utilisée car elle se fait entre deux fonctions naturellement présentes dans beaucoup de molécules biologiques mais nécessite l'activation de l'acide (**A**). Dans le couplage par lien oxime (**B**), la grande réactivité des oxyamines utilisées peut être source de réactions secondaires. La présence de cuivre dans la réaction de cycloaddition peut s'avérer toxique par la suite lors des tests biologiques, il est donc nécessaire de stabiliser le cuivre au degré d'oxydation (I) (**C**). Le groupement thiol utilisé dans le couplage (**D**) peut être tout simplement celui d'une cystéine alors que les deux groupements utilisés dans la réaction de Diels-Alder (**E**) doivent être introduits. Le couplage (**E**) offre cependant la possibilité de suivre facilement la réaction par électrochimie en voltampérométrie cyclique grâce au groupement rédox quinone immobilisé sur la surface. La caractérisation électrochimique pour les autres types de couplage covalent est également possible par couplage avec une sonde rédox fonctionnalisée avec un groupement précurseur ce qui permet alors d'évaluer le taux de greffage. Chaque situation devra donc être adaptée en fonction des molécules à étudier et des conditions expérimentales mises en œuvre.

### I.3. Les techniques d'étude appliquées aux monocouches :

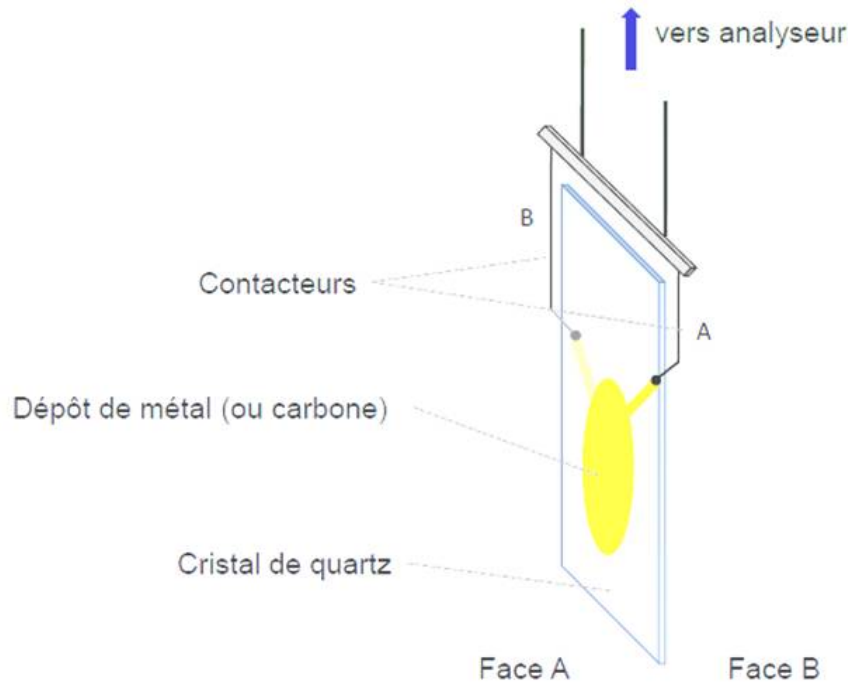
#### I.3.1. Microbalance à quartz :

Le principe de la microbalance a été énoncé par Sauerbrey, qui découvrit que la variation de la fréquence de vibration d'un quartz piézo-électrique est proportionnelle à la masse du film déposé sur ce quartz<sup>241</sup>. Cette découverte a connu un regain d'intérêt au début des années 1980 pour la mesure des vitesses de dépôt. Au cours de ces dernières années, de nombreuses applications ont vu le jour dans des domaines aussi variés que la chimie analytique, l'analyse de surfaces, la corrosion, l'électrochimie et les cinétiques de dissolution de composés ou de photodéposition de films organiques<sup>242</sup>. Le cristal de quartz utilisé en QCM (Quartz Cristal Microbalance) est recouvert d'une surface conductrice (*Figure V.7*). L'établissement d'un champ électrique alternatif à travers le cristal de quartz provoque un mouvement vibrationnel à la fréquence de résonance du quartz. Cette fréquence de résonance est sensible à la variation de masse du cristal.

---

<sup>241</sup> Sauerbrey, G. Z., *Physik Verhandl.*, **1957**, 8, 113.

<sup>242</sup> Lu, C. ; Czanderna, A. W., *Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances*, Elsevier, **1984**.



**Figure V.7 :** *Schéma d'un cristal de quartz utilisé en QCM*

Le cas le plus simple concerne le dépôt ou la dissolution d'une couche solide et rigide en surface d'une des électrodes du quartz. La variation de masse ( $\Delta m$ ) se traduit par une variation de la fréquence d'oscillation (ou de résonance) du quartz ( $\Delta f_m$ ). Dans le cas d'une prise de masse, cette fréquence diminue, tandis que dans le cas d'une dissolution, cette fréquence augmente. Si les épaisseurs en jeu ne sont pas trop importantes (variation de 2 % de la fréquence initiale, soit  $1,77 \text{ mg.cm}^{-2}$  dans le cas d'un quartz 5 MHz), la relation de Sauerbrey s'applique<sup>243</sup>:

$$\Delta f_m = -N \frac{2f_0^2}{\sqrt{\rho_q \mu_q}} \frac{\Delta m}{S}$$

Avec :

- S : l'aire de l'électrode (en  $\text{cm}^2$ ),
- N : le rang de l'harmonique (avec  $N = 1, 3, 5, 7 \dots$ ),
- $\rho_q$  : la masse volumique du quartz (en  $\text{g.cm}^{-3}$ ),
- $\mu_q$  : son module de cisaillement (en  $\text{g.cm}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

<sup>243</sup> Sauerbrey, G., *Z. Phys.*, **1959**, 155, 206.

Lorsque les variations de masse en surface de l'électrode sont plus élevées, les propriétés physiques du dépôt ( $\rho_f$ ,  $v_f$ ) ne peuvent plus être négligées<sup>244</sup>. Lu et Lewis<sup>245</sup> ont donné l'expression simplifiée suivante :

$$\tan \left[ \frac{\pi f}{f_0} \right] = \frac{\rho_f v_f}{\rho_q v_q} \tan \frac{\pi f}{f_f}$$

Avec :

- $\rho_f$  : la masse volumique du film,
- $v_f$  et  $v_q$  : les vitesses de propagation de l'onde dans le film et dans le quartz,
- $f$  : la fréquence de résonance du résonateur composite quartz-film.

$f_0$  est la fréquence de résonance propre du quartz et  $f_f$  celle associée au film seul définie par :

$$f_f = \frac{v_f}{2e_f} \quad \text{Avec} \quad e_f : \text{l'épaisseur du film.}$$

La masse  $\Delta m$  du film déposé s'écrit sous la forme :

$$\frac{\Delta m}{S} = \frac{\rho_f v_f}{2\pi f} \arctan \left( \frac{\rho_q v_q}{\rho_f v_f} \tan \pi \left( \frac{f_0 - f}{f_0} \right) \right)$$

D'une façon générale, la formule de Lu et Lewis peut être utilisée pour des variations de fréquence relatives allant jusqu'à 40 %<sup>246</sup>.

### **1.3.2. Mesures par les méthodes électrochimiques: voltampérométrie cyclique :**

Il existe, en électrochimie, plusieurs méthodes pour caractériser les monocouches auto-assemblées. Pour notre part, nous avons utilisé la voltampérométrie cyclique. Cette méthode nous donne accès à des informations sur les propriétés des matériaux étudiés principalement. L'électroactivité des molécules cibles permet une caractérisation simple des matériaux en

<sup>244</sup> Denison, D.R., *J. Vac. Sci. Technol.*, **1973**, 10, 126-129.

<sup>245</sup> LU, C.S. ; LEWIS, O., *J. Appl. Phys.*, **1972**, 43, 11, 4385-4390.

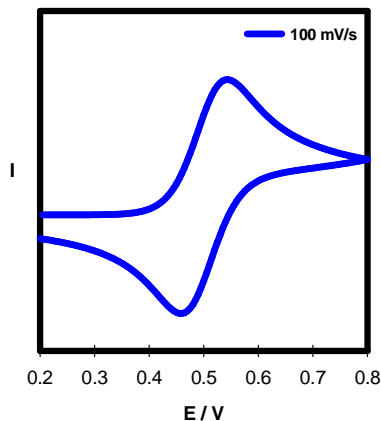
<sup>246</sup> BUTTRY, D.A., *The quartz crystal microbalance as in situ tool in electrochemistry*. Chap. 10 dans *electrochemical interfaces: modern techniques for in situ interface characterization*, édité par Abruna (H.D.), VCH, New York (**1991**).

## Chapitre V : Élaboration de monocouches auto-assemblées sur surface d'or

termes d'organisation, de stabilité et d'estimation de taux de recouvrement ( $\Gamma$ ). Cette technique est fiable et facile à mettre en œuvre à partir du moment où la monocouche est électroactive. Néanmoins, il faut avoir à l'esprit que le comportement électrochimique d'une molécule en solution et d'une molécule immobilisée ou adsorbée sur une électrode est très différent comme la montre la figure ci-dessous.

### Caractérisation attendue en conditions

#### de diffusion semi-infinie



$$\Delta E = 2.2 \frac{RT}{nF} \text{ en V}$$

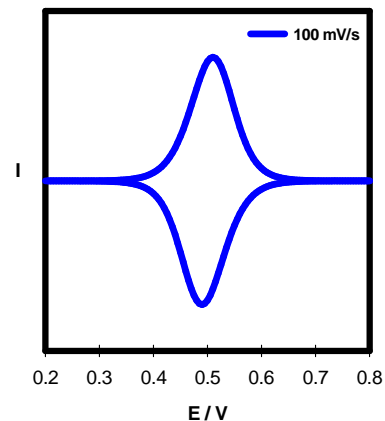
$$i_p = 2.69 \cdot 10^5 n^{3/2} S D^{1/2} v^{1/2} C \text{ en A}$$

avec

- $n$  : nombre d' $e^-$
- $D$  : coefficient de diffusion ( $\text{cm}^2 / \text{s}$ )
- $v$  : vitesse de balayage ( $\text{V} / \text{s}$ )
- $C$  : concentration analytique ( $\text{mol} / \text{m}^3$ )
- $S$  : surface ( $\text{cm}^2$ )

### Caractérisation attendue en couche mince

#### ou pour une espèce adsorbée



$$\Delta E = 0 \text{ V}$$

$$i_p = \frac{n^2 F}{4 RT} S v \Gamma \text{ en A avec } \begin{cases} S = 0.20 \text{ cm}^2 \\ \sigma_s = 0.01 \text{ cm}^2 \end{cases}$$

#### **Taux de recouvrement ( $\Gamma$ ) :**

$$Q = n F S \Gamma \text{ avec } \begin{cases} \Gamma \text{ en mol.cm}^{-2} \\ Q \text{ en C} \end{cases}$$

$$\text{Erreur sur } \Gamma : \sigma_{\Gamma} = \Gamma \cdot \sqrt{\left(\frac{\sigma_s}{S}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_Q}{Q}\right)^2}$$

Pour s'assurer de l'immobilisation effective d'une monocouche sur l'électrode d'or, il est nécessaire de vérifier que les critères analytiques suivants sont respectés :

- L'intensité des pics est proportionnelle à la vitesse de balayage,
- La différence de potentiel entre les pics d'oxydation et de réduction doit être faible, voire nulle, ce qui traduit une bonne communication entre le système rédox et l'électrode,

- Le taux de recouvrement doit être reproductible et de l'ordre de  $10^{-10}$  mol.cm<sup>-2</sup>, lorsque l'organisation est quasi-parfaite,
- La monocouche reste stable au cyclage de potentiels.

D'autre part, un calcul simple permet d'estimer le taux de recouvrement  $\Gamma$  de la surface, ce qui correspond au nombre de molécules électroactives fixées par unité de surface, grâce à la relation :

$$\Gamma = Q/nfS$$

avec :

Q : aire sous le pic anodique ou cathodique ce qui correspond à la quantité de courant échangée pour oxyder ou réduire la totalité des molécules de la monocouche.

n : nombre d'électrons qui interviennent dans la réaction d'oxydoréduction.

F : constante de Faraday (= 96 484,6 C.mol<sup>-1</sup>)

S : surface de l'électrode

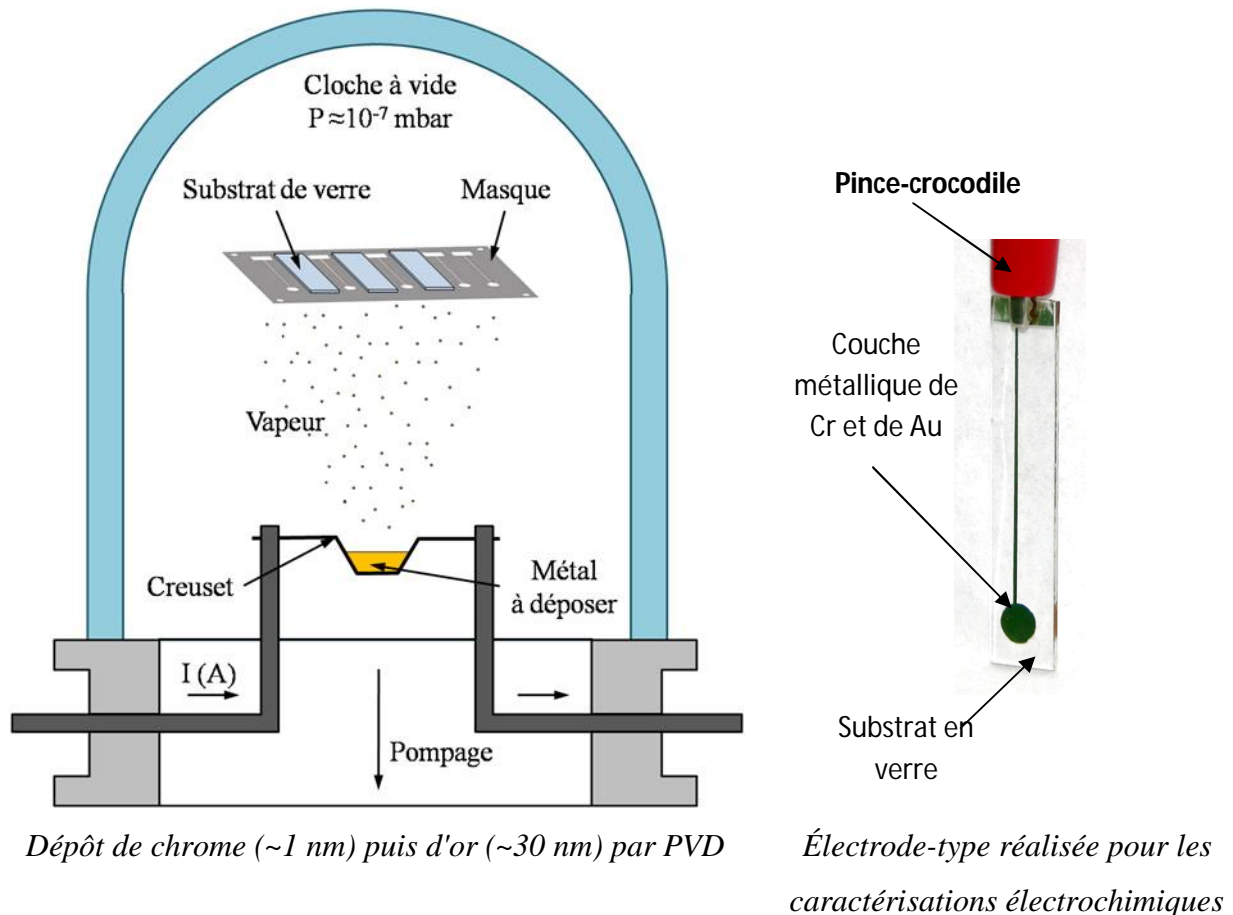
### I.4. Réalisation des supports en or :

#### I.4.1.Principe :

Les surfaces d'or sont réalisées par PVD (Physical Vapor Deposition) selon la procédure décrite ci-dessous. Cette préparation, couramment utilisée dans la littérature, permet d'obtenir des surfaces d'or de géométries reproductibles et parfaitement propres. La technique PVD présente l'avantage que les substrats formés ne subissent aucun post-traitement avant leur fonctionnalisation.

Ainsi, la méthode de dépôt d'une couche mince par PVD consiste à chauffer le matériau jusqu'à sa sublimation. Le processus d'évaporation d'un matériau dépend de plusieurs facteurs comme la température, la pression et la pression de vapeur du matériau. La sublimation est un passage de l'état solide à l'état gazeux sans passer par une phase liquide, elle intervient lorsqu'à la température de fusion de la matière chauffée, qui dépend notamment de la pression ambiante, cette pression est inférieure à la pression de vapeur du matériau. La sublimation est atteinte en chauffant sous vide le métal à déposer, les atomes qui passent en phase gazeuse atteignent le substrat sur lequel ils se condensent.





Dépôt de chrome ( $\sim 1$  nm) puis d'or ( $\sim 30$  nm) par PVD

Électrode-type réalisée pour les caractérisations électrochimiques

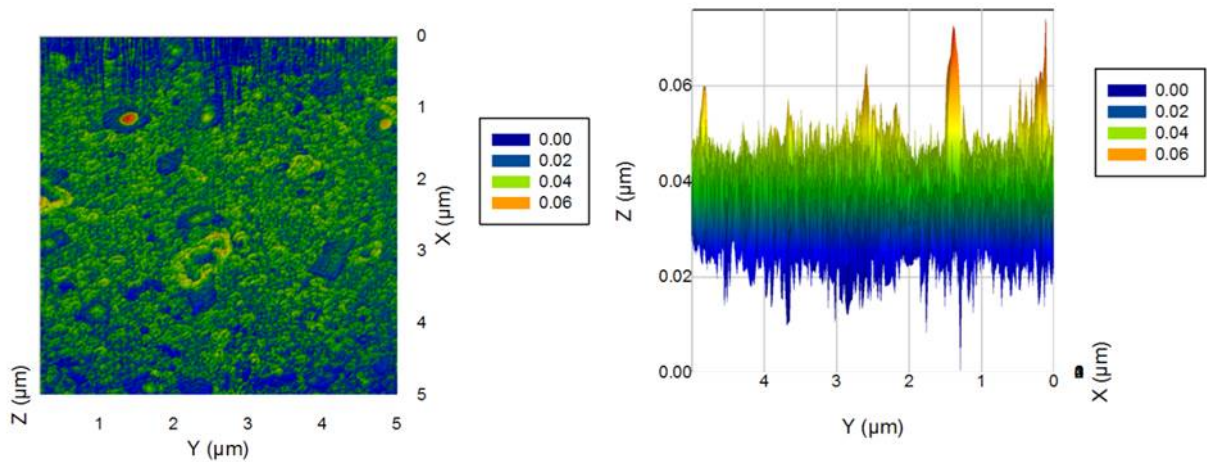
**Figure V.8 :** Schéma de fonctionnement d'un thermoévaporateur qui permet de réaliser des dépôts physiques en phase vapeur

La Figure décrit le principe d'une installation d'évaporation par sublimation thermique, ou thermoévaporation. Un vide suffisant dans l'enceinte ( $10^{-2}$  à  $10^{-50}$  Pa) garantit un dépôt de bonne qualité car le libre parcours moyen des particules est suffisant pour leur permettre de se déposer sur le substrat. Les particules se lient au substrat par affinité chimique, principalement avec l'oxygène. Les verres et la silice ont beaucoup de sites d'accrochage, c'est pourquoi ils sont préférentiellement utilisés. Au niveau de l'interface substrat/film mince, les premières couches d'atomes forment un matériau composite : alliage dans le cas du dépôt d'un métal sur un autre métal, ou oxyde dans le cas du dépôt d'un métal sur un substrat verre ou céramique. Ce composite participe grandement à l'adhérence de la couche sur le substrat. Ainsi, le dépôt d'un film mince d'un métal qui ne s'oxyde pas facilement, comme l'or, requiert le dépôt d'une première couche mince d'adhésion en titane, chrome ou nickel (1-5 nm) puis de la couche principale (10-200 nm). Par exemple, un dépôt d'or sera effectué sur verre par l'intermédiaire d'une couche d'accrochage de chrome. Le chrome adhère au verre par l'intermédiaire de la

formation d'une couche d'oxyde de chrome, alors que l'or adhère au chrome grâce à la formation d'un alliage chrome-or (*Figure V.8*).

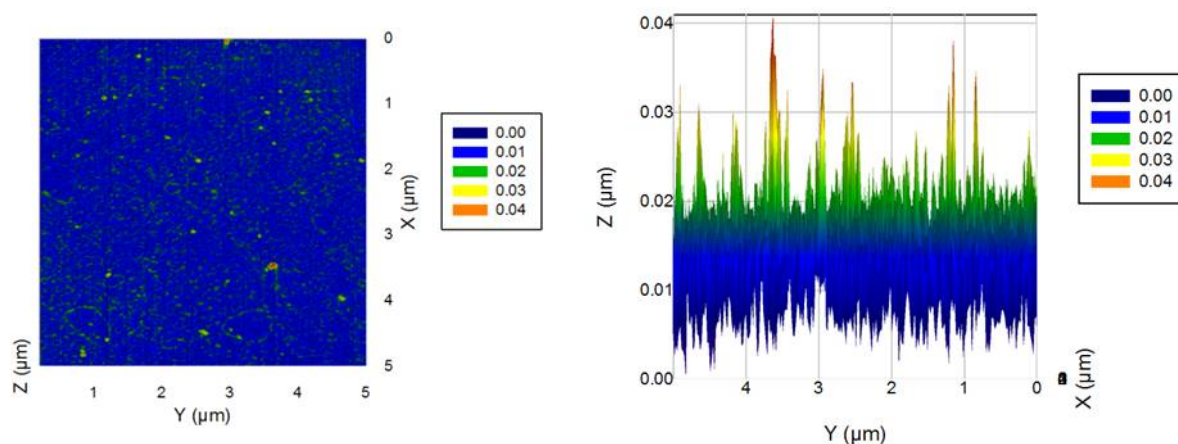
### I.4.2. Étude morphologique des substrats :

Pour voir l'influence de la méthode PVD sur la rugosité de la surface, des images prises par AFM nous montrent que la rugosité des surfaces est très homogène. La figure V.9 montre une image d'AFM des substrats de verre nue préparé par le protocole décrit ci-dessus. Cette image topographique montre un état de surface homogène avec un bon taux de rugosité.



**Figure V.9 :** Image AFM d'un substrat de verre nu (à gauche), image de profil transverse (à droite).

De plus, l'analyse de profil de surface recouverte d'or montre que cette surface est très lisse et que l'on peut considérer que la rugosité est parfaite (*Figure V.10*). Ce résultat que l'on prendra en compte pour les mesures que l'on va effectuer sur les monocouches auto-assemblées sur l'or par voltampérométrie cyclique.



**Figure V.10** : Image AFM d'un substrat d'or (à gauche), image de profil transverse (à droite).

## I.5. Élaboration de monocouches auto-assemblées sur surface d'or :

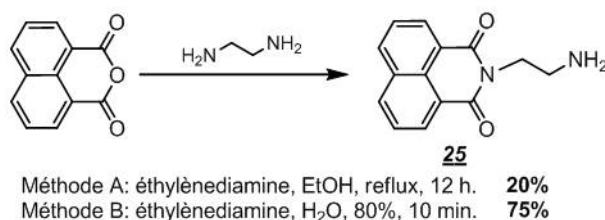
Disposant de peu d'informations concernant l'immobilisation des sidérophores, nous avons préalablement étudié l'aptitude d'une molécule, dont la structure est simple, à former de monocouches auto-assemblées sur surface d'or *via* une post-fonctionnalisation.

### I.5.1. Modification d'une électrode par post-fonctionnalisation :

#### I.5.1.1. Expérience préliminaire :

Afin de mettre au point les conditions opératoires pour réaliser une post-fonctionnalisation et avant d'évaluer l'aptitude de nos molécules à former des monocouches *via* une post-fonctionnalisation, nous avons effectué des expériences préliminaires de greffage avec un composé électroactif de type naphthalénediimide **25** contenant une fonction amine et dont la préparation nécessite une seule étape de synthèse (*Figure V.11*).

##### I.5.1.1.1. Synthèse :

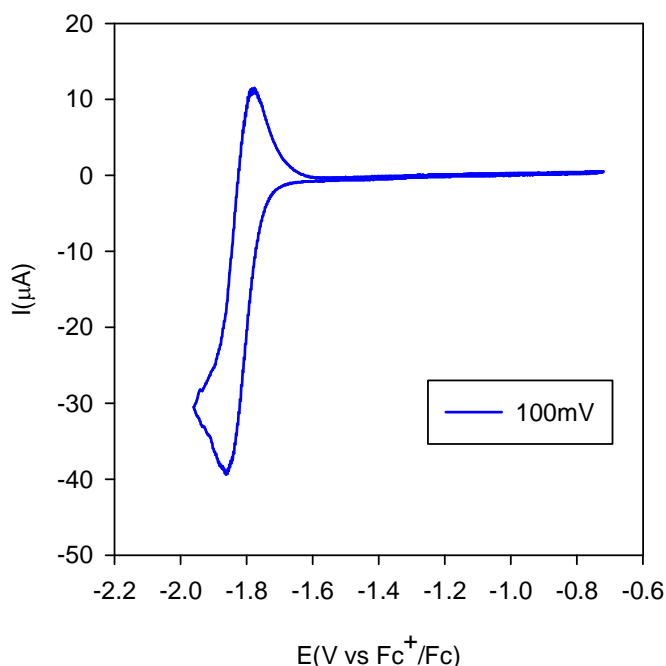


**Figure V.11**

L'incorporation de la fonction amine dans l'anhydride 1,8-naphtalique s'effectue selon deux méthodologies. La première méthode, décrite par Xiang<sup>247</sup>, est réalisée entre l'alcoolate du 1,8-naphthalimide et d'éthylènediamine à reflux dans l'éthanol pendant 24 h et le produit aminé est isolé avec un rendement de 20 %. La seconde, décrite par Lecchelli<sup>248</sup>, utilise les mêmes produits de départ. Elle se fait dans l'eau à 80°C et le produit final est obtenu au bout de 10 min par simple filtration du brut réactionnel et sans aucune purification avec un rendement de 75%.

### I.5.1.1.2. Étude en solution par voltampérométrie cyclique :

L'étude électrochimique des molécules cibles a permis de caractériser la stabilité rédox des transferts électroniques mis en jeu et d'estimer le potentiel rédox afin de comparer les résultats obtenus avec ceux de la littérature. Le voltampérogramme caractéristique de la molécule **25** est représenté sur la figure V.12. Le composé **25** se réduit selon un processus réversible monoélectronique vers -1.86 V vs Fc<sup>+</sup>/Fc dans l'acétonitrile (*Figure V.12*).



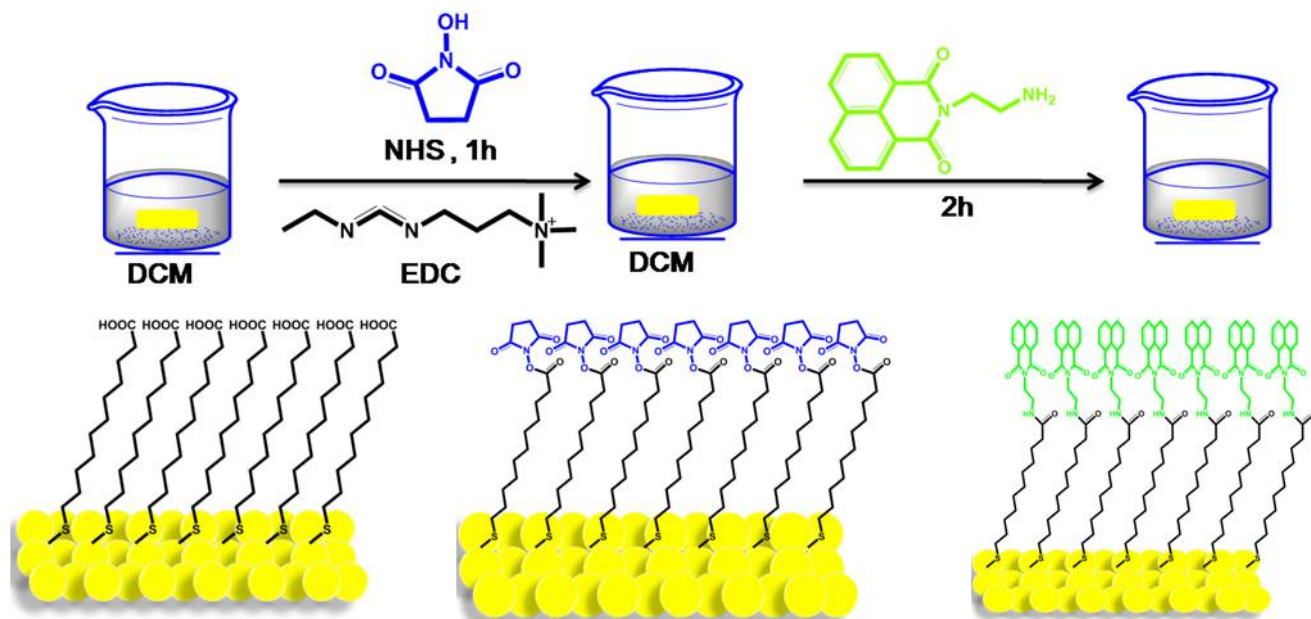
**Figure V.12** : Voltampérométrie cyclique de la molécule 25 en solution.

<sup>247</sup> Wen, G-T. ; Meng, X-M. ; Guo, Q-X., *Chinese Journal of Chemistry*, **2006**, 24, 1230-1237.

<sup>248</sup> Lecchelli, M. ; Zema, M., *Dalton Trans*, **2003**, 4537-4545.

I.5.1.1.3. Élaboration des monocouches :

L'accrochage du composé **25** sur l'or est réalisé grâce à l'utilisation de monocouches autoassemblées de thiols. Le thiol choisi pour cette expérience est l'acide 11-mercaptopundécanoïque (MUA) (*Figure V.13*) qui comprend une fonction acide carboxylique. L'immobilisation du composé **25** s'effectue par couplage peptidique développée par Patel et al.<sup>249</sup>. Cette fonctionnalisation s'effectue en trois étapes consécutives représentées dans le schéma suivant :



*Figure V.13 : Étapes de la post-fonctionnalisation*

- La première étape consiste à immobiliser une molécule thiolée contenant une fonction acide finale qui permettra ultérieurement de former une liaison amide avec le composé **25**.
- La deuxième étape consiste en l'activation des groupes carboxyles par un mélange de N-hydroxysuccinimide (NHS) / N-éthyl-N'-(3-diéthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) (NHS 0.1M + EDC 0.4 M) dans le dichlorométhane.
- La dernière étape conduit à l'immobilisation du composé **25** par trempage de la monocouche préformée dans une solution contenant le composé **25**.

Afin de garantir la reproductibilité des résultats, il est indispensable que la fixation du composé **25** soit reproductible d'une électrode à une autre. Les couches d'accroche Au /UMA, Au /UMA/NHS, Au /UMA/**25** ont donc été caractérisées par voltampérométrie cyclique et par microbalance à quartz.

<sup>249</sup> Davies, N. ; Hartshorne, MC. ; Heaton, M. ; Roberts, RJ. ; Tandler, SJB. ; Williams, PM., *Langmuir*, **1997**. 13, 24, 6485-6490.

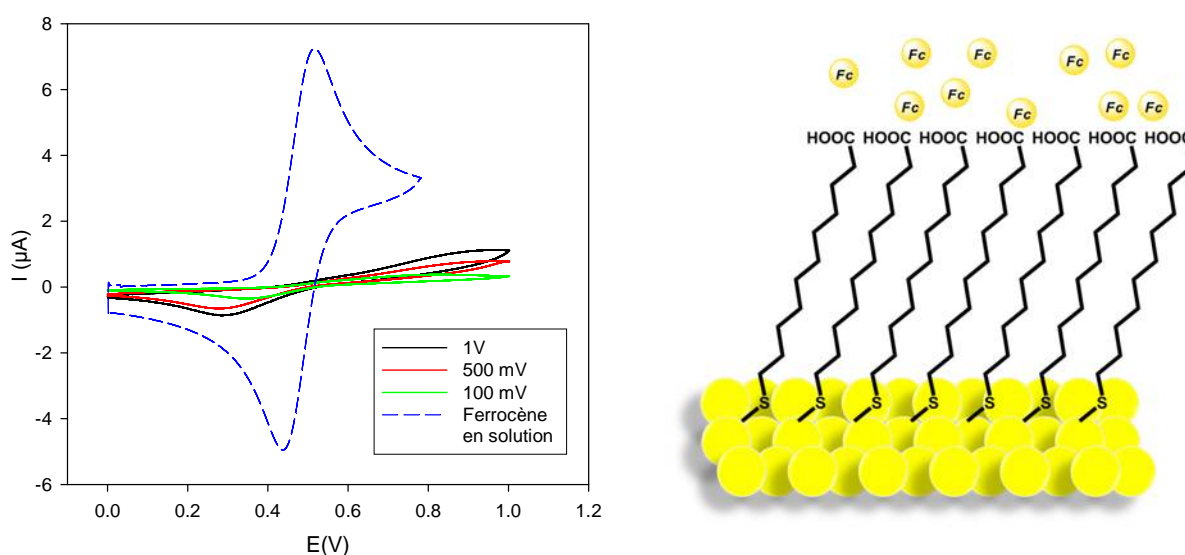
Toutes les monocouches ont été réalisées sur support d'or en boîte à gants afin d'éviter des interférences possibles avec l'oxygène ou l'eau. Les surfaces d'or, fraîchement préparées, sont immergées dans des solutions de thiols fraîchement préparées. L'optimisation des dépôts a été déterminée en fonction du temps d'immersion et de la concentration analytique des solutions. Les conditions de dépôt étaient d'un temps d'immersion de ~2h pour une concentration analytique de 1 mM dans le dichlorométhane.

### I.5.1.1.4. Caractérisation des matériaux :

#### I.5.1.1.4.1. Première étape : formation des SAMs d'UMA

##### a. Par voltampérométrie cyclique :

Afin d'obtenir des informations sur la compacité des SAMs formées lors de la première étape, nous avons étudié, en voltampérométrie cyclique, le comportement d'une sonde rédox diffusant à l'électrode en raison de l'absence d'électroactivité au sein de la monocouche formée. Le ferrocène est une molécule monoélectronique, neutre dont le processus d'oxydo-réduction est réversible. L'oxydation du ferrocène en radical cation  $Fc^+$  sera ralentie si la monocouche est suffisamment compacte pour limiter la diffusion du ferrocène à travers les défauts de la SAM (*Figure V.14*).



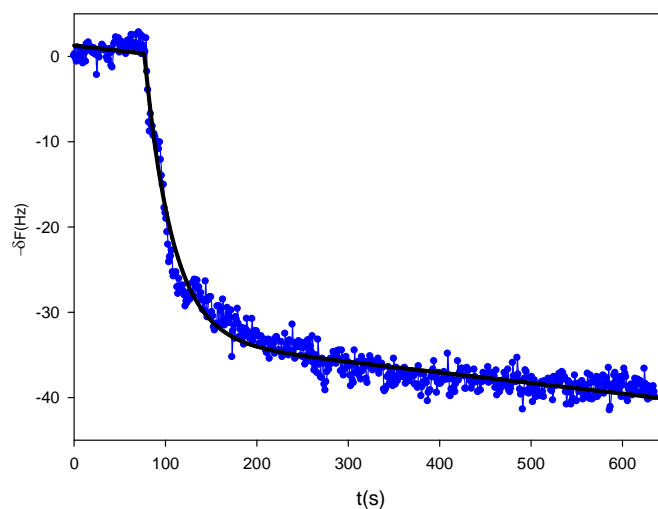
**Figure V.14 :** Voltampérométrie cyclique de la monocouche UMA sur une électrode d'or

La figure V.14 montre que la monocouche formée agit comme une barrière pour le transfert d'électron, ce qui ralentit la vitesse de transfert entre les espèces rédox en solution et l'électrode. Les différences observées entre le  $\Delta E$  du ferrocène sur l'or nu (60 mV) et le  $\Delta E$  de

la SAM formée de l'UMA (supérieur à 400 mV) indiquent que la monocouche limite la diffusion des sondes rédox permettant ainsi de confirmer que la SAM est compacte et organisée.

b. Par microbalance à quartz :

La figure V.15, qui présente les variations de fréquence enregistrées durant la première étape de la modification des quartzs métallisés, met clairement en évidence une diminution de la fréquence de vibration ( $33.4 \pm 0.25$ ) et donc une augmentation de la masse déposée après dépôt de la couche de thiols (UMA). Pour les quartzs testés, le dépôt de thiols est sensiblement reproductible et correspond à un dépôt de  $167 \pm 1.25 \text{ ng/cm}^2$ . Le taux de recouvrement obtenu est de  $7.7 \cdot 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$ . Cette valeur est comparable à celles rapportées dans la littérature. La nature de la monocouche auto-assemblée formée par les thiols explique la reproductibilité des dépôts. Les SAMs sont, en effet, des assemblages moléculaires ordonnés, formés grâce aux liaisons chimiques fortes entre les soufres et la surface d'or et par une forte cohésion entre les chaînes alkyles.



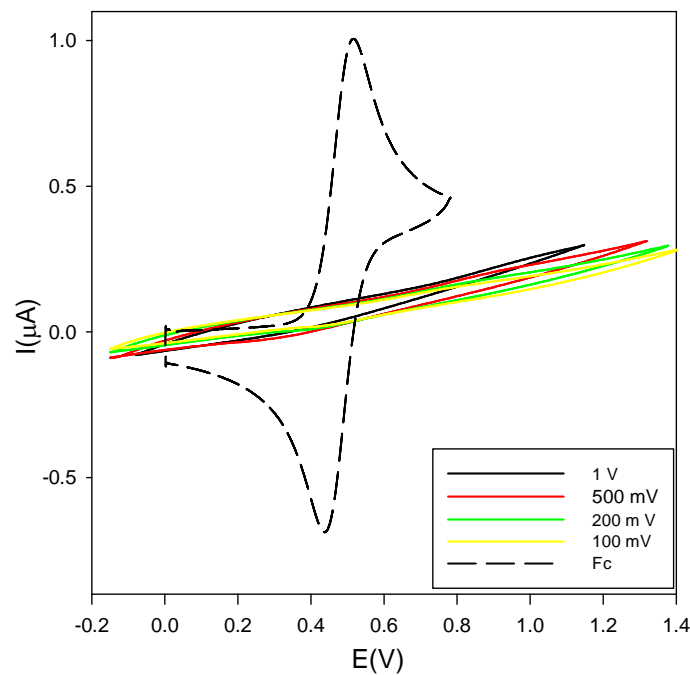
**Figure V.15 :** Variation de la fréquence de vibration du quartz piézoélectrique pour la première étape de modification de la surface d'or.

### I.5.1.1.4.2. Deuxième étape : activation des SAMs d'UMA

a. Par voltampérométrie cyclique :

La figure V.16 présente les réponses électrochimiques du ferrocène (Fc) obtenues pour une surface d'or nu superposée avec celle obtenue pour une surface de Au/UMA/NHS à différentes vitesses.

Ces résultats permettent d'observer pour la monocouche de Au/UMA/NHS l'absence du pic d'oxydation du ferrocène par rapport à l'or nu. La vague d'oxydation n'apparaît pas dans la zone de potentiel étudié. La couche activée forme un block contre le processus d'oxydo-réduction du ferrocène. En raison de la présence des groupements NHS, dont la structure est plane, qui pourraient donc augmenter l'organisation de la monocouche, et on ne constate pas de défaut qui laisserait diffuser la sonde rédox.

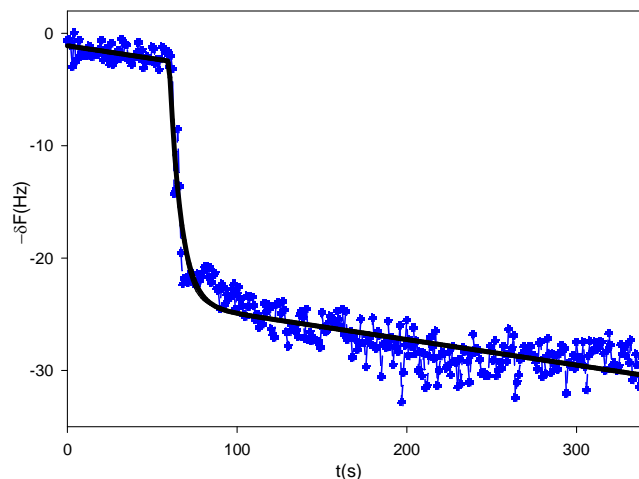


**Figure V.16 :** Voltampérogramme cyclique de la monocouche activée sur une électrode d'or

b. Par microbalance à quartz :

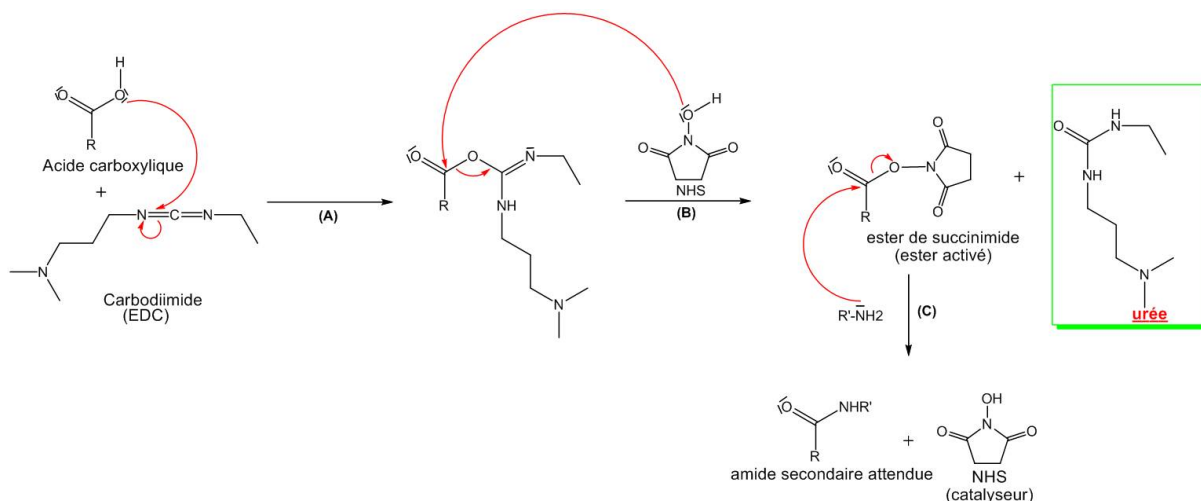
On observe sur figure V.17 que l'activation de la surface immobilisée provoque une diminution de fréquence de 21 Hz. Ces valeurs sont caractéristiques d'une couche rigide et bien ordonnée, solidaire des oscillations du cristal ce qui permet de calculer la masse de la couche de NHS immobilisée en utilisant l'équation de Sauerbrey.





**Figure V.17 :** Profil de QCM pour l'étape d'activation de la surface de Au/UMA.

La valeur ainsi obtenue est de  $128 \text{ ng/cm}^2$  et un taux de recouvrement de  $1.10^{-9} \text{ mol.cm}^{-2}$ . Ce dernier est très élevé en raison de la formation de l'urée au cours de cette étape. Le mécanisme de formation de l'urée est présenté figure V.18. Dans un premier temps, l'addition nucléophile (A) d'un acide carboxylique sur le carbodiimide permet l'activation du groupement carbonyle, sous la forme d'un anhydride mixte (O-acylisourée). Ce dernier, en présence de N-hydroxysuccinimide (NHS), forme en même temps l'urée ainsi qu'un ester par substitution nucléophile (B).



**Figure V.18. :** Mécanisme réactionnel du couplage peptidique réalisé avec le système EDC/NHS.

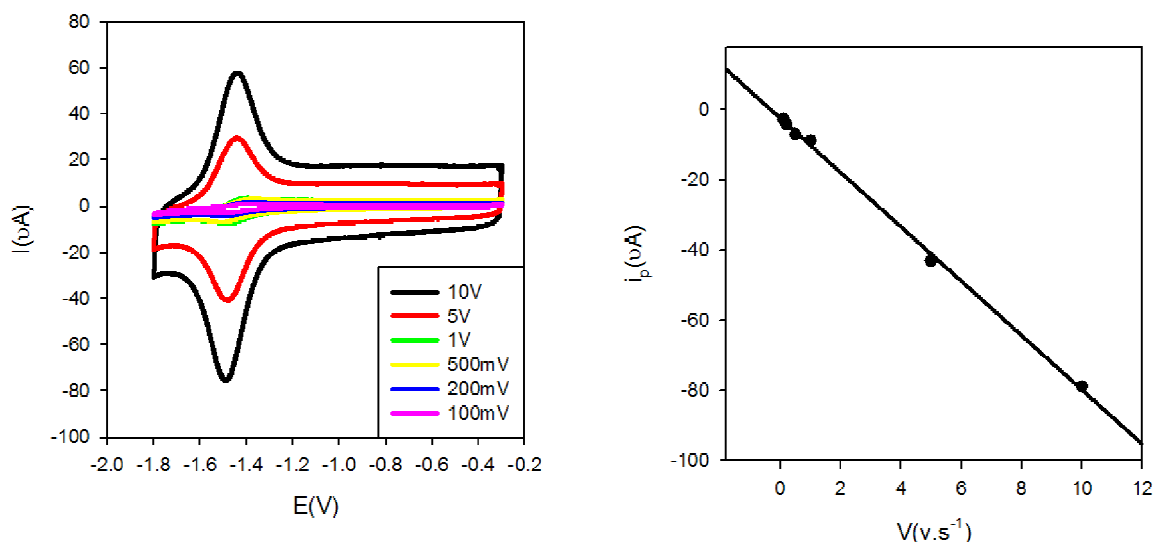
L'ester de succinimide obtenu est particulièrement électrophile car il est composé d'un groupement très nucléofuge. Cet ester activé est l'intermédiaire le plus efficace (pas de réactions secondaires, et bonne stabilité thermique et chimique, notamment vis-à-vis des

composés hydroxylés tels l'eau et les alcools) pour former une liaison amide par substitution nucléophile (C) avec une amine introduite dans le milieu.

### I.5.1.1.4.3. Troisième étape : étude des monocouches obtenues à partir du dérivé du naphthalimide

#### a. Par voltampérométrie cyclique :

Les monocouches, fraîchement activées par NHS /EDC, sont immergées dans des solutions de composé **25**. L'optimisation des dépôts a été déterminée en fonction du temps d'immersion et de la concentration analytique des solutions. Les conditions de post-fonctionnalisation étaient d'un temps d'immersion de ~2h pour une concentration analytique de 1mM de **25** dans le dichlorométhane. Le voltampérogramme cyclique des monocouches réalisées à partir du composé **25** est représenté ci-dessous

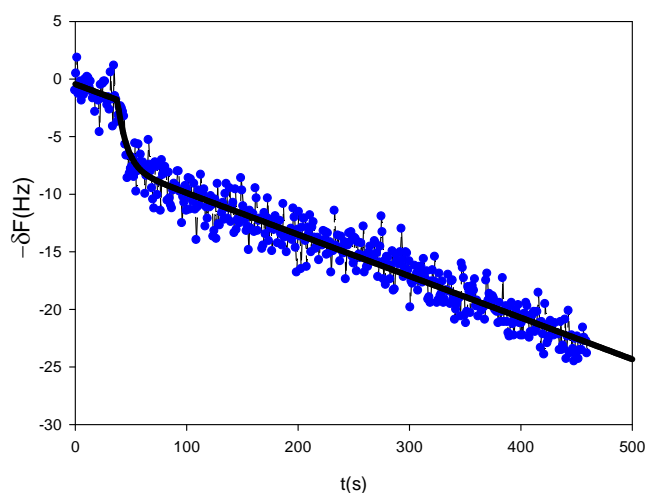


*Figure V.19 : Voltampérogramme cyclique de la monocouche adsorbée sur une électrode d'or pour plusieurs vitesses de balayage et évolution linéaire de l'intensité du pic d'oxydation en fonction de ces vitesses.*

L'ensemble des critères de formation d'une monocouche énoncés ci-dessus a été vérifié. Les monocouches sont stables et électroactives dans une très grande gamme de vitesse de balayage. Le taux de recouvrement des monocouches, réalisées à partir du composé **25**, ont été estimés à  $(2.5 \pm 0.5) \cdot 10^{-10} \text{ mol.cm}^{-2}$ .

### b. Par microbalance à quartz :

La figure V.20 représente la variation de la fréquence de la résonance du cristal pendant l'immobilisation du composé **25** sur la surface d'or. On observe bien une diminution de la fréquence de  $(5.8 \pm 0.26)$  Hz avec un dépôt de  $29 \pm 1.4$  ng/cm<sup>2</sup>. Ce profil a été obtenu un grand nombre de fois permettant de déterminer une incertitude faible de l'ordre de 0.26 Hz sur les variations de fréquence. La construction de l'assemblage est donc bien reproductible. Le taux de recouvrement est estimé à  $(2.3 \pm 0.2) \cdot 10^{-10}$  mol.cm<sup>-2</sup>.



**Figure V.20 :** Variations de fréquence obtenues pour l'adsorption du composé 25.

Au bilan, l'adsorption du composé **25** est détectée par les deux types de mesure : la microbalance à quartz et la voltampérométrie cyclique. De plus, les deux mesures donnent des résultats similaires en ce qui concerne le taux de recouvrement du composé **25**. Ces résultats sont très encourageants en ce qui concerne l'utilisation future de la microbalance à quartz électrochimique pour les molécules cibles synthétisées pour la détection des ions ferriques.

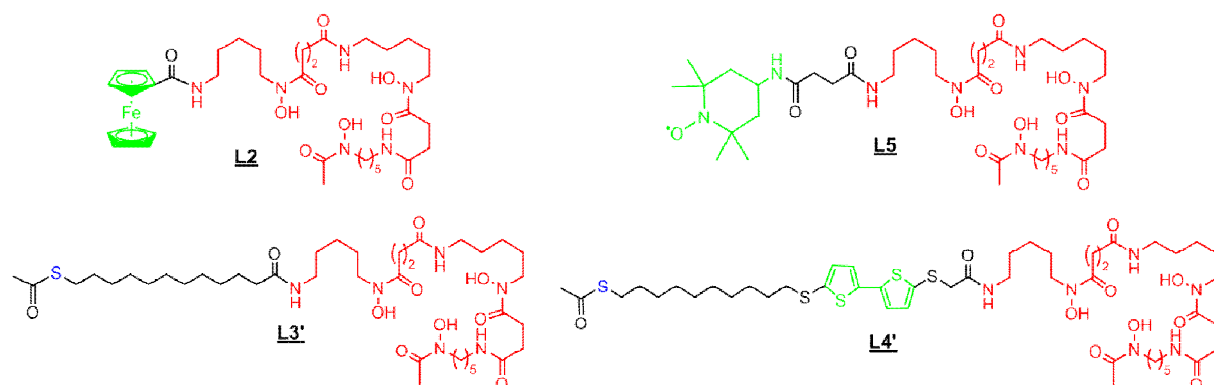
# **Conclusion générale et perspectives :**

## Conclusion générale et perspectives :

L'objectif de ce travail de thèse résidait d'une part dans la synthèse et la conception de nouveaux analogues de sidérophores, et d'autre part dans le développement d'une méthodologie d'étude pour mettre à profit les propriétés électrochimiques spécifiques des sidérophores fonctionnalisés ou non par une sonde redox. Le but à long terme est de développer des applications dans le domaine de la reconnaissance moléculaire (transduction électrochimique).

Le travail de synthèse a permis d'obtenir différentes molécules présentant les ligands (analogues du ferrichrome et desferrioxamine B) fonctionnalisés ou non par un groupement électroactif possédant une fonction thiol protégée et permettant ainsi leur immobilisation ultérieure sur surface d'or. Ces synthèses ont pu être menées à bien en utilisant diverses stratégies (couplage peptidique, organométallique,....)

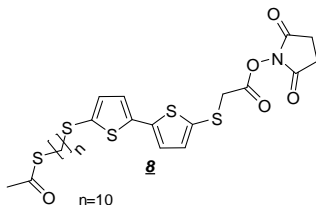
Au cours de la première partie de synthèse, le cheminement synthétique vers un large panel de ligands associant la DFOB à différentes sondes redox a été détaillé. Quatre ligands répondant au cahier des charges fixé ont été synthétisés, en particulier grâce à la mise en œuvre de nouvelles stratégies de synthèse autour des sondes redox et une chaîne alcanethiol. Les caractérisations structurales de ces systèmes ont pu être évaluées grâce à la RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT), la FTIR et la spectrométrie de masse (MALDI-TOF, Electrospray et HMRS).



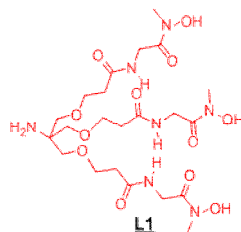
En particulier avec l'ester activé contenant la sonde bithiophène **8**, une synthèse multi étape de ce composé a été décrite. En effet, pour introduire ce dérivé bithiophénique dans la DFOB *via* un couplage peptidique, une méthodologie de synthèse a été développée pour la préparation de dérivés du 2,2'-bithiophène substitués par deux groupes thiolate protégés par les groupements 2-cyanoéthyle. Ensuite, l'introduction du groupement ester *tert*-butylique

## Conclusion générale et perspectives :

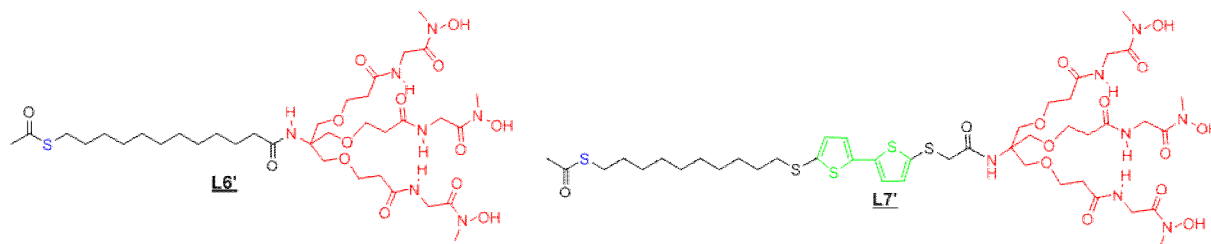
d'une part, et de la chaîne alkyle d'autre part, est réalisée en utilisant la voie de libération des thiolates en conditions douces. Enfin, la saponification de la fonction ester conduit sélectivement à l'acide, ce dernier ayant été activé au moyen du DCC/NHS pour arriver à l'ester succinimidyle.



Le ligand tris-hydroxamate **L1** a été obtenu par un jeu de déprotection–protection qui a permis d'introduire les trois fonctions hydroxamate sur le triester activé **18**. Ainsi, après couplage, nous avons aisément obtenu le ligand **L1** par hydrogénation catalytique. Les tentatives de synthèse des ligands **L6'** et **L7'**, couplant le ferrichrome **L1** aux esters activés **2** et **8**, n'ont pas abouti à cause de l'encombrement stérique des bras hydroxamiques.



La première approche envisagée pour obtenir les ligands **L6'** et **L7'** a dû être repensée en raison des problèmes rencontrés lors de la dernière étape. Grâce à des efforts synthétiques importants, nous avons également développé une alternative synthétique pour la préparation des ligands **L6'** et **L7'**. Cette stratégie comporte deux points importants. Premièrement, l'introduction des fonctions hydroxamate doit être réalisée après le couplage peptidique entre la fonction amine et les ester activés **2** et **8** afin d'éviter les gênes stériques provoquées par la présence des fonctions hydroxamate. Deuxièmement, la formation d'un nouvel intermédiaire a permis d'utiliser les mêmes conditions, et avec moins de sélectivité dans la synthèse par rapport à la première approche. De cette manière, le ligand **L6'** et **L7'** ont été obtenus avec de bons rendements.



## Conclusion générale et perspectives :

---

Il est important de signaler que les ligands **L6'** et **L7'** sont solubles dans des solvants organiques autres que le DMF ou le DMSO, ce qui permettra, lors des études physico-chimiques, de pallier les problèmes rencontrés avec le DMF et le DMSO.

Les propriétés complexantes de ces molécules hôtes ont été évaluées en solution à l'aide de la spectrométrie d'absorption électronique UV-Visible ainsi que par voltampérométrie cyclique. Toutes les mesures effectuées montrent que les ligands synthétisés forment un complexe stable de stœchiométrie parfaitement définie (1:1) avec le Fe(III).

Dans le cas du composé **L2**, il a été possible de mettre en œuvre la présence d'une réaction d'oxydoréduction entre le fer ferrique et le motif ferrocène. Cette oxydation, révélée par la variation du potentiel d'équilibre de la cellule, n'intervient que lorsqu'un excès de fer est ajouté par rapport au motif chélatant présent en solution.

Contrairement aux résultats obtenus pour le ferrocène, le bithiophène ne subit aucune oxydation lors de l'ajout d'une quantité croissante de Fe(III). Cela est dû sans doute à son potentiel relativement élevé par rapport à celui du ferrocène. En revanche, le dérivé bithiophénique n'a pas été caractérisé par voie électrochimique à cause de son potentiel élevé qui dépasse le potentiel d'oxydation du solvant utilisé. L'analyse électrochimique s'est révélée difficile et n'a pas pu apporter beaucoup d'informations concernant le comportement de la sonde bithiophène en présence du Fe(III) en solution.

D'après les résultats obtenus, le dérivé TEMPO semblerait être le meilleur candidat pour résoudre d'une part les problèmes de solubilité (électroactif dans l'eau) et d'autre part son potentiel qui se situe entre celui du ferrocène et du bithiophène.

Enfin, la méthodologie mise au point pour l'immobilisation du dérivé naphthalènediimide sur surface métallique pourrait être transposable à nos ligands cibles. En particulier, par sa rapidité et sa facilité de mise en œuvre, la post-fonctionnalisation devrait permettre le greffage efficace de toute unité fonctionnelle sur surface d'or.

Le laboratoire dispose donc maintenant d'un ensemble de molécules pour établir les premières règles d'ingénierie moléculaire afin de concevoir des matériaux mettant en jeu monocouches autoassemblées adaptées à la détection des ions ferriques.

En résumé, les objectifs que nous nous étions fixés ont été en grande partie atteints. Les molécules cibles ont été synthétisées et caractérisées par voie spectrophotométrique et par voie électrochimique. Ce travail a permis de développer plusieurs voies efficaces de synthèse. L'ensemble des outils synthétiques mis au point au cours de ce travail constitue selon nous une base solide pour la réalisation future d'un capteur de Fe(III) en utilisant les monocouches auto-assemblées sur or.

# **Partie expérimentale**



## ***Table des matières***

I. Modes opératoires .....	143
I.1. Matériel et méthodes .....	143
I.2. Synthèse d'un dérivé ester activé du bithiophène : (hydroxysuccinimidocarbonylméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12- thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'-bithiophène .....	146
I.2.1. 2,2'-Bithiophène .....	147
I.2.2. 5,5'-Bis (3-cyanoéthylsulfanyl)-2,2'-bithiophène.....	147
I.2.3. 5-(Tert-butoxycarbonylméthylsulfanyl)-5'-(3'-cyanobutanylsulfanyl) -2,2'- bithiophène.....	149
I.2.4. 5-(Tert-butoxycarbonylméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12- thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'-bithiophène.....	150
I.2.5. 5-(Carboxyméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'- bithiophène.....	151
I.2.6. 5-(Hydroxysuccinimidocarbonylméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12- thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'-bithiophène.....	152
I.2.7. Thioéthanoate de S-(10-bromodécyle).....	153
I.3. Synthèse du 12-(thioacétyl)dodécanoate de N-succinimidyle .....	154
I.3.1. Acide 12-(thioacétyl)dodécanoïque .....	154
I.3.2. 12-(Thioacétyl)dodécanoate de N-succinimidyle.....	155
I.4. Synthèse d'un dérivé ester activé du ferrocène.....	156
I.4.1. Ferrocèncarboxylate de N- succinimidyle.....	156
I.5. Synthèse des analogues de la desferrioxamine B.....	157
I.5.1. Ferrocénylcarboxamido- desferrioxamine B .....	158
I.5.2. 5-(Méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'- bithiophèneamide-desferrioxamine B.....	159
I.5.3. 12-(Thioacétyl)dodécanecarboxamido-desferrioxamine B.....	160
I.6. Synthèse d'un analogue du ferrichrome : via l'intermédiaire aminé trihydroxamate .....	162
I.6.1. Tris {[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy]méthyl}méthylamine.....	163
I.6.2. Benzyl N-Tris{[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy]méthyl}méthyl-carbamate .....	164
I.6.3. Benzyl N-Tris[2-carboxyéthoxy]méthylcarbamate .....	165
I.6.4. N-Tris{[2-(2,3,4,5,6-pentachlorophénoxy)éthoxy]méthyl} méthyl carbamate de benzyle.....	166

## Partie expérimentale

I.6.5. (N-Hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthylcarbamate de tert-butyle.....	166
I.6.6. 2,2,2 trifluoroacétate de N-hydroxy-N-méthylcarbamoylméthyl- ammonium.....	167
I.6.7. N-Tris{2[[(N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl]- aminocarbonyl]éthoxy)méthyl}méthylcarbamate de benzyle.....	168
I.6.8. Tris{[2-[(N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl]- aminocarbonyl]éthoxy)méthyl}méthylamine .....	169
I.6.9. Essai de couplage du dérivé bithiophénique 8 avec l'analogue du ferrichrome 12.....	170
I.7. Synthèse d'un analogue du ferrichrome : via un triester tert-buthylique .....	171
I.7.1. Synthèse du 12-(thioacétyl)dodécanamide N-Tris{2[[(N-hydroxy-N- méthylcarbamoyl)méthyl]- aminocarbonyl]éthoxy)méthyle}.....	171
I.7.1.1. {12-(Thioacétyl) dodécanamide}N-Tris{[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy] méthyle}.....	171
I.7.1.2. {12-(Thioacétyl)dodécanamide}N-Tris[2-carboxyéthoxy)méthyle.....	172
I.7.1.3. 12-(Thioacétyl)dodécanamide N-Tris{[2-(2,3,4,5,6- pentachlorophénoxy)carbonyl]éthoxy)méthyle}.....	173
I.7.1.4. 12-(thioacetyl)dodecanamide N-Tris{2[[(N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl) méthyl]- aminocarbonyl]éthoxy)méthyl}.....	174
I.7.2. Synthèse du [5-(méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanyl sulfanyl))-2,2'-bithiophène]N-Tris{2[[(N-hydroxy-N-méthyl carbamoyl)méthyl]-aminocarbonyl] éthoxy)méthyl}amide.....	175
I.7.2.1. [5-(méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanyl sulfanyl))-2,2'- bithiophène] N-Tris{[2-(tert-butoxycarbonyl) éthoxy)méthyl}amide .....	176
I.7.2.2. [5-(Méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanyl sulfanyl))-2,2'- bithiophène] N-Tris[2-carboxyéthoxy)méthyl]amide.....	177
I.7.2.3. [5-(Méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'- bithiophène]N-Tris{[2-(2,3,4,5,6-pentachlorophénoxy)carbonyl] éthoxy)méthyl}amide.....	178
I.7.2.4. [5-(méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'- bithiophène]N-Tris{2[[(N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl]- aminocarbonyl]éthoxy] méthyl}amide.....	179
I.8. N-(2-aminoéthyl)-1,8-naphthalimide.....	180
I.9. Microscopie à force atomique (AFM : Atomic Force Microscopy) : .....	181

## I. Modes opératoires

### I.1. Matériel et méthodes

Les réactifs commerciaux (généralement Aldrich, Acros, Fluka) ont été utilisés sans purification supplémentaire, sauf si mentionné. Tous les produits synthétisés ont été caractérisés par spectroscopie RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ , spectrométrie de masse et le cas échéant par mesure du point de fusion, au moyen des appareillages suivants :

Appareillages :

**Les spectres RMN** ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER ADVANCE DRX 500 ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125,7 MHz). Les déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pour le proton et le carbone. Les constantes de couplages J sont données en Hz. Les multiplicités sont exprimées par les abréviations suivantes :

- s : singulet ; s.e : singulet étalé
- t : triplet
- q : quadruplet
- qu : quintuplet
- m : massif ; m.e : massif étalé

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  sont décrits selon :  $\delta$  (multiplicité, nombre de protons, constante de couplage).

**Les points de fusion** (F) ont été mesurés sur un appareil BUCHI 510 melting point. Les températures sont données en degré Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ).

**Les spectres InfraRouge** (IR) ont été enregistrés sur un spectromètre FT-IR FTS 155 Bio-RAD. Les produits solides sont dispersés dans KBr et les huiles sous la forme d'un film entre deux fenêtres de NaCl. Les positions des bandes d'absorption sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$ .

**Les spectres UltraViolets** (UV) ont été enregistrés sur les spectrophotomètres Perkin Elmer Lambda 19 et 950. Les positions des bandes sont exprimées en nm.

Le gel de silice 60A de granulométrie 35-70  $\mu\text{m}$  (SDS) est utilisé pour les **chromatographies sur colonne**.

**Les chromatographies en couche mince** (CCM) ont été réalisées avec du gel de silice F254 déposé sur des feuilles d'aluminium.

## Partie expérimentale

---

Les solvants (Aldrich, Fisher Scientific ou Acros) ont été employés tels quels ou séchés suivant les techniques usuelles suivantes :

- Sodium/benzophénone pour le THF et Et<sub>2</sub>O
- P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pour CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

Les autres solvants (DMF, MeOH, EtOH) sont séchés sur tamis moléculaire (3A et 4A) puis dégazés avant utilisation.

**Les études de voltampérométrie cyclique** ont été réalisées avec un potentiostat-galvanostat EG&G PAR modèle 273 ou 273A. Le composé à analyser (concentration 10<sup>-3</sup> à 10<sup>-4</sup> M) est dissous dans un solvant (qualité HPLC) contenant l'électrolyte support (NBu<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> 10<sup>-1</sup>M). La cellule d'électrochimie est équipée de trois électrodes : une électrode de travail en platine, un fil de platine servant d'électrode auxiliaire et d'une électrode de référence en argent. Le potentiel exact est déterminé par rapport AgCl/Ag grâce au ferrocène.

### **Les spectres de masse :**

- de type MALDI-TOF ont été enregistrés sur un appareil Bruker Biflex-III TM, équipé d'un laser N<sub>2</sub> à 337 nm, à analyseur fonctionnant en mode linéaire ou réflectron. Ils ont été enregistrés en utilisant comme matrice le dithranol en solution dans un solvant, en mode positif (Angers, SCAS)

- de type DSQ ont été enregistrés sur un appareil DSQ-Trace (Thermo electron Corporation) en EI<sup>+</sup> (Angers, CIMA).

- de type piège à ions ont été effectués sur un spectromètre Bruker Esquire 3000 *plus* équipé d'une source électrospray. La vitesse d'introduction des solutions d'échantillons est de 3-7 µL/min (Angers, SCAS)

Certaines manipulations sous atmosphère inerte ont été effectuées dans une boîte à gants, munie d'une hotte à charbon actif et d'une purification continue de l'atmosphère. La quantité d'eau et d'oxygène n'excède pas 1 ppm.

Les rendements mentionnés ont été calculés sur la base de la masse molaire théorique pour des produits de pureté supposée égale à 100 %.

### **Abréviations utilisées:**

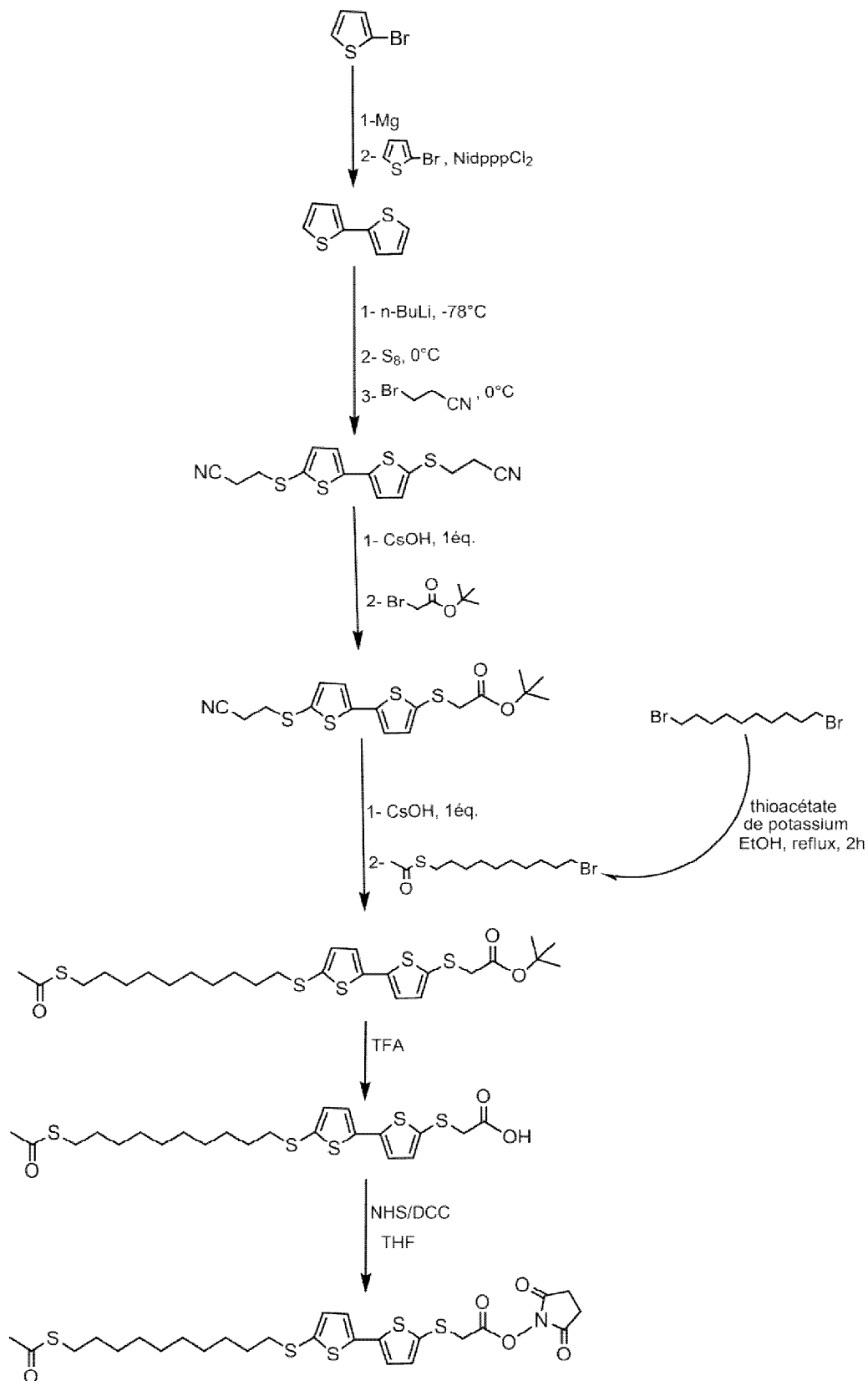
- AcOEt : Acétate d'éthyle  
DMF : Diméthylformamide

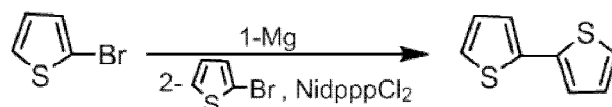
## Partie expérimentale

---

EP :	Ether de pétrole
NidpppCl <sub>2</sub> :	Chlorure de 1,3-(diphénylphosphinopropane) nickel (II)
THF :	Tétrahydrofurane
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
MgSO <sub>4</sub> :	Sulfate de magnésium
MeOH :	Méthanol
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :	Dichlorométhane
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCU	Dicyclohexylurée
TFA	Acide trifluoroacétique
EtOH	Éthanol
EtO <sub>2</sub>	Éther diéthylique
ESI	Electrospray Ionisation
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimide

**I.2. Synthèse d'un dérivé ester activé du bithiophène :**  
 (hydroxysuccinimidocarbonylméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiadécanylsulfanyl)-2,2'-bithiophène



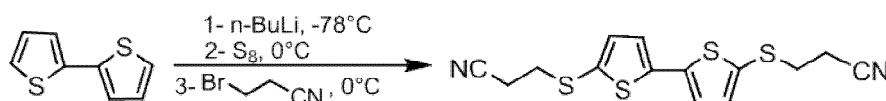
I.2.1. 2,2'-Bithiophène<sup>250</sup>

Dans un tricol contenant du magnésium (1.48 g, 1.5 éq.) recouvert d'éther anhydre (2 mL), le 2-bromothiophène (7.93 g, 48.6 mmol, 1 éq.) dilué dans 25 mL d'éther anhydre est additionné goutte à goutte sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>) en contrôlant le reflux à l'aide d'un bain de glace. Après addition, le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 1 h. Le magnésien ainsi formé est additionné goutte à goutte sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>) à une solution de 2-bromothiophène (6.6 g, 40.5 mmol) en présence de catalyseur Ni(dppp)Cl<sub>2</sub> (220 mg, 1 % molaire) dans 20 mL d'éther anhydre. Le milieu réactionnel est porté à reflux une nuit. Une solution aqueuse d'HCl 2N est additionnée. Après décantation puis séparation, la phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée de NaHCO<sub>3</sub> puis par de l'eau tandis que la phase aqueuse est extraite par de l'éther. Les différentes phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO<sub>4</sub> puis concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : EP) pour conduire au 2,2'-Bithiophène **3** sous forme de cristaux blancs (7.27 g).

- ✓ Rendement : 90 %
- ✓ Point de fusion : 33 °C
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

	<sup>1</sup> H (δ)	<sup>13</sup> C (δ)
	-[a,a'] <b>7.22</b> (dd, 2H, <sup>3</sup> J = 5.2 Hz, <sup>4</sup> J = 1.0 Hz)	-[d,d'] <b>137.3</b>
	-[c,c'] <b>7.18</b> (dd, 2H, <sup>3</sup> J = 3.5 Hz, <sup>4</sup> J = 1.0 Hz)	-[a,a'] <b>127.2</b>
	-[b,b'] <b>7.02</b> (dd, 2H, <sup>3</sup> J = 5.2 Hz, <sup>4</sup> J = 3.5 Hz)	-[c,c'] <b>124.2</b>
		-[b,b'] <b>123.7</b>

## I.2.2. 5,5'-Bis (3-cyanoéthylsulfanyl)-2,2'-bithiophène



<sup>250</sup> Tamao, K. ; Kodama, S. ; Nakajima, I. ; Kumada, M. ; Mimato, A. ; Suzuki, K. *Tetrahedron*, **1982**, 28, 3347.

## Partie expérimentale

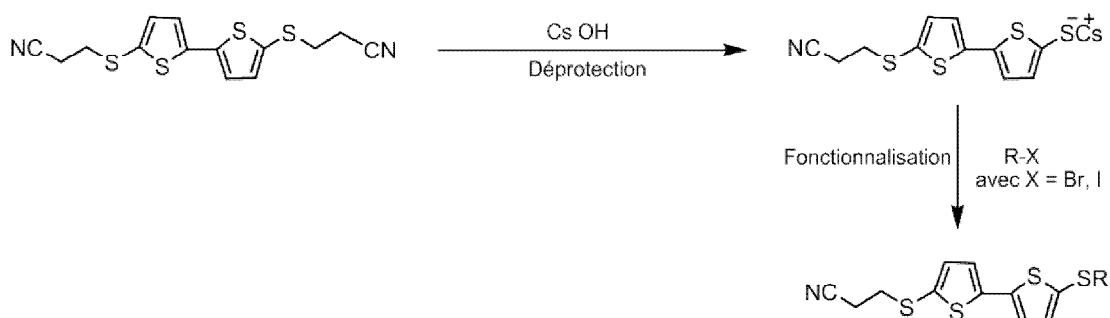
Dans un tricol, on introduit le 2,2'-bithiophène (6 g, 36.08 mmol) dans le THF anhydre (75 mL) refroidi à  $-78^{\circ}\text{C}$  à l'aide d'un bain d'azote-éthanol. On ajoute goutte à goutte, sous atmosphère d'azote, une solution de n-butyllithium (2,5 M dans l'hexane) (31.7 mL, 79.4 mmol, 2.2 éq.). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 1 h à température ambiante avant d'ajouter en une seule fois le soufre (2.7 g, 79.4 mmol, 2.2 éq.) à  $-78^{\circ}\text{C}$ . Après dissolution totale du soufre, la solution est réchauffée à température ambiante et agitée encore pendant 15 min. On laisse le mélange revenir à  $0^{\circ}\text{C}$ , puis on additionne le 3-bromopropionitrile (12 mL, 144.3 mmol, 4 éq.). Le mélange réactionnel est agité pendant une nuit à température ambiante. Après ajout d'eau (300 mL) et lavage par l'éther ( $3 \times 15$  mL), Le produit brut est purifié par recristallisation dans l'éthanol pour donner 9.1 g du composé **4** sous forme d'un solide blanc jaunâtre.

✓ Rendement : 75%

✓ Analyse RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :

	$^1\text{H}$ ( $\delta$ )	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ )
	-[b,b'] <b>7,10</b> (d, 2H, $J^3 = 5,7$ Hz)	-[a,a'] <b>141,4</b>
	-[c,c'] <b>7,05</b> (d, 2H, $J^3 = 5,7$ Hz)	-[d,d'] <b>136,6</b>
	-[e,e'] <b>3,00</b> (t, 4H, $J^3 = 7,2$ Hz)	-[b,b'] <b>130,9</b>
	-[f,f'] <b>2,65</b> (t, 4H, $J^3 = 7,1$ Hz)	-[c,c'] <b>124,6</b>
		-[g,,g'] <b>117,6</b>
		-[e,e'] <b>33,7</b>
		-[f,f'] <b>18,2</b>

### Protocole Général de Déprotection et Fonctionnalisation d'un Groupement Thiolate



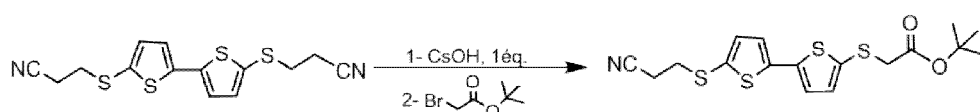
Sous atmosphère d'azote, une solution dégazée d'hydroxyde de césium dans l'éthanol anhydre est additionnée goutte à goutte à une solution dégazée de précurseur porteur du



## Partie expérimentale

groupement cyanoéthylsulfanyl dans le DMF. Après 1 h d'agitation à température ambiante, le dérivé halogéné RX est additionné. Une fois l'addition terminée, le milieu réactionnel est maintenu sous agitation pendant 4 h à température ambiante. Les solvants sont alors évaporés et le résidu est repris par du dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur MgSO<sub>4</sub> puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit cible est purifié par chromatographie flash sur gel de silice.

### 1.2.3. 5-(Tert-butoxycarbonylméthylsulfanyl)-5'-(3'-cyanobutanylsulfanyl)-2,2'-bithiophène



Préparé suivant le protocole général ci-dessus :

Composé dicyanoéthyle **4** : (4 g, 11.88 mmol) + 100 mL du DMF  
Hydroxyde de césium : (2.19 mg, 13.07 mmol, 1.1 éq.) + 40 mL d'EtOH  
Bromoacétate de tert-butyle : (4.38 mL, 29.7 mmol, 2.5 éq.)

Après chromatographie sur gel de silice (éluant 6/4 éther de pétrole /éther éthylique), on obtient 3.85 g du produit final **5** sous forme d'un solide vert pistache.

- ✓ Rendement : 81 %
- ✓ Spectre de masse (MALDI) : 320.04 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ Point de fusion : 77°C
- ✓ IR (KBr) : 1729 cm<sup>-1</sup>(C=O) ; 2249 cm<sup>-1</sup>(C≡N)
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

#### <sup>1</sup>H (δ)

-[b'] **7,12** (d, 1H, J<sup>3</sup> = 4 Hz)

-[b] **7,10** (d, 1H, J<sup>3</sup> = 4 Hz)

-[c'] **7.02** (d, 1H, J<sup>3</sup> = 4 Hz)

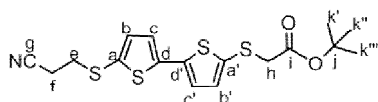
-[c] **7.01** (d, 1H, J<sup>3</sup> = 4 Hz)

-[h] **3.44** (s, 2H)

-[e] **2.99** (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz)

-[f] **2,64** (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7,5 Hz)

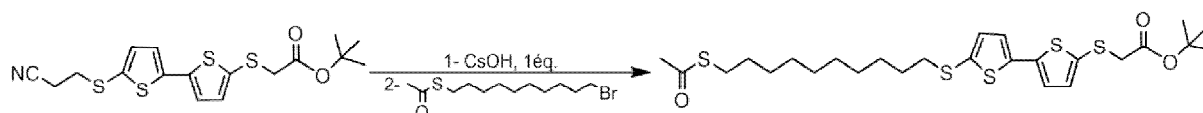
-[k',k'',k'''] **1.44** (s, 3H)



$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

-[i] 168.2 ; [a'] 141.9 ; [a] 140.4 ; [b'] 136.6 ; [b] 135.4 ; [d'] 133.1 ; [d] 130.3 ; [d',d] 124.3 ; [g] 117.6 ; [j] 82.0 ; [h] 41.8 ; [e] 33.7 ; [k',k'',k'''] 27.9 ; [f] 18.2

**1.2.4.5-(Tert-butoxycarbonylméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl)-2,2'-bithiophène**



Préparé suivant le protocole général ci-dessus :

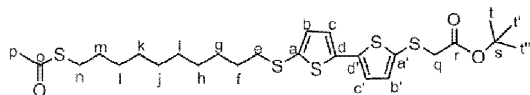
Composé cyanoéthyle :	(1.7 g, 4.28 mmol)	+ 40 mL du DMF
Hydroxyde de césium :	(790 mg, 4.70 mmol, 1.1 éq.)	+ 15 mL d'EtOH
Espaceur :	(1.89 g, 6.42 mmol, 1.5 éq.)	

Après chromatographie sur gel de silice (éluant 6/4 EP/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), on obtient 2.03 g de produit **6** sous forme d'un solide vert très clair.

- ✓ Rendement : 85 %
- ✓ Point de fusion : 52°C
- ✓ Spectre de masse (MALDI) : 558.27 M<sup>+</sup> ; 581.26 (M + Na)<sup>+</sup> ; 597.14 (M + K)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

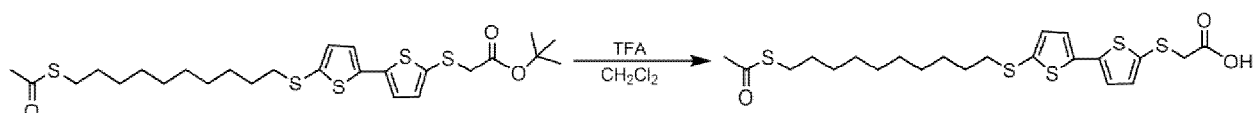
- [b'] 7.08 (d, 1H, J<sup>3</sup> = 3.5 Hz)
- [b,b',c] 6.97 (m, 3H, J<sup>3</sup> = 4 Hz)
- [q] 3.43 (s, 2H)
- [n] 2.84 (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5 Hz)
- [e] 2.79 (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5 Hz)
- [p] 2.31 (s, 3H)
- [m] 1.61 (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [f] 1.54 (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [t,t',t''] 1.44 (s, 9H)
- [l] 1.37 (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [g] 1.33 (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [k,j,i,h] 1.25 (m.e, 8H)



$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

-[o] **196.0** ; [r] **168.3** ; [a'] **139.6** ; [a] **135.5** ; [d'] **134.9** ; [b'] **133.8** ; [d] **132.1** ; [b,c,c'] **124.0** ,  
**123.7** ; [s] **82.0** ; [q] **41.9** ; [n] **38.8** ; [e] **30.6** ; [f,g,h,i,j,k,l,m,p] **29.4** ; **29.3** ; **29.3** ; **29.1** ;  
**29.06** ; **29.05** ; **28.7** ; **28.3** ; [t,t',t'']**27.9**

**I.2.5.5-(Carboxyméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl)-  
 2,2'-bithiophène**

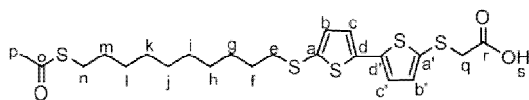


25 ml de TFA sont ajoutés à une solution d'ester *tert*-butylique (1.65 g, 2.96 mmol) dans 25 mL de dichlorométhane. Après 2 heures d'agitation à température ambiante et sous atmosphère d'azote, le solvant est coévaporé deux fois avec du toluène. Le résidu obtenu est repris au dichlorométhane puis lavé deux fois à l'eau. Après séchage sur  $\text{MgSO}_4$  et évaporation du solvant, le résidu est repris par 5 mL du dichlorométhane et réévaporé afin d'éliminer les traces du TFA résiduel. On recueille ainsi le produit attendu **Z** sous la forme d'un solide blanc.

- ✓ Rendement : quantitatif
- ✓ Spectre de masse (MALDI) : 503.15 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>
- ✓ SMHR ESI :  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{S}_5 + \text{Na}^+$  Calculée: 525.0696 Trouvée: 525.0690  
 $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{S}_5 + \text{K}^+$  Calculée: 541.0436 Trouvée: 541.0429  
 $2(\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{S}_5) + \text{Na}^+$  Calculée: 1027.1495 Trouvée: 1023.1491  
 $2(\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{S}_5) + \text{K}^+$  Calculée: 1043.1234 Trouvée: 1043.1221
- ✓ Point de fusion : 90-91°C
- ✓ Analyse RMN  $^1\text{H}$  (DMSO),  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) :

$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

- [s] **12.82** (s e, pic large, 1H)
- [b,b'] **7,20** (m, 2H)
- [c'] **7.17** (d, 1H,  $J^3 = 3.5$  Hz)
- [c] **7.11** (d, 1H,  $J^3 = 3.5$  Hz)
- [q] **3.67** (s, 2H)
- [n] **2.84** (t, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)

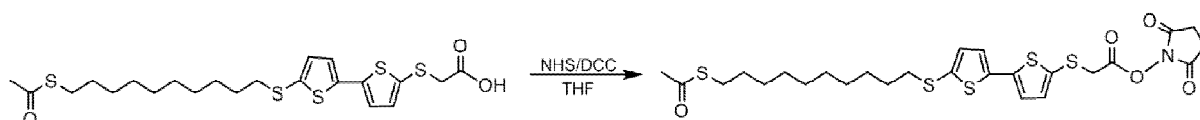


- [e] **2.79** (t, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [p] **2.30** (s, 3H)
- [m] **1.54** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [f] **1.46** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [g,h,i,j,k,l] **1.21** (m.e, 12H)

$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

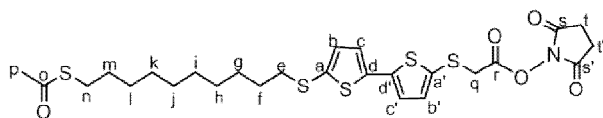
[o]**196.3** ; [r]**174.3** ; [a']**141.9** ; [a]**139.3** ; [b']**136.2** ; [d']**135.2** ; [b]**133.7** ; [d]**130.9** ;  
 [c']**124.3** ; [c]**123.8** ; [q]**40.6** ; [n] **38.8** ; [e]**30.6** ; [f,g,h,i,j,kl,m,p]**29.4** ; **29.36** ; **29.33** ;  
**29.3** ; **29.1** ; **29.03** ; **29.04** ; **28.7** ; **28.3**

### I.2.6. 5-(Hydroxysuccinimidocarbonylméthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl)-2,2'-bithiophène



Dans 40 ml de THF anhydre, on dissout 1.3 g (2.58 mmol) de l'acide, 386.7 mg (3.36 mmol) de *N*-hydroxysuccinimide et 799 mg (3.88 mmol) de DCC. Le mélange est agité à température ambiante et sous azote pendant 6 heures. La DCU apparaît immédiatement sous forme d'un précipité blanc. Après filtration de la DCU formée, le filtrat est évaporé et le résidu est repris au dichlorométhane (60 mL), lavé deux fois à l'eau (50 mL), séché sur  $\text{MgSO}_4$ . Après évaporation du solvant, la purification par chromatographie sur gel de silice du résidu obtenu (éluant : acétate d'éthyle/éther de pétrole (0.5/9.5 puis 3/7)) conduit à 1.32 g du composé **8** sous forme d'une poudre verte très claire.

- ✓ Rendement : 85 %
- ✓ Point de fusion : 84 °C
- ✓ Spectre de masse (MALDI) : 599.77  $\text{M}^+$  ; 621.95  $(\text{M} + \text{Na})^+$  ; 639.63  $(\text{M} + \text{K})^+$
- ✓ SMHR ESI :  $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{S}_5$  Calculée: 599.0962 Trouvée: 599.0958
  - $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{S}_5 + \text{Na}^+$  Calculée: 622.0860 Trouvée: 622.0846
  - $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{S}_5 + \text{K}^+$  Calculée: 638.0599 Trouvée: 638.0584
  - $2(\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{S}_5) + \text{Na}^+$  Calculée: 1021.1822 Trouvée: 1221.1800
  - $2(\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_5\text{S}_5) + \text{K}^+$  Calculée: 1237.1562 Trouvée: 1237.1519
- ✓ Analyse RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :



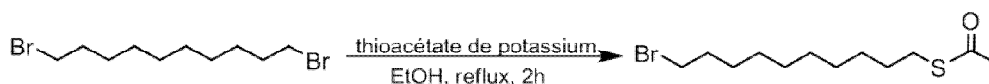
<sup>1</sup>H (δ)

- [b'] **1.29** (d, 1H, J<sup>3</sup> = 3.5 Hz)
- [b,c,c'] **7.02-6.98** (m, 3H)
- [q] **3.70** (s, 2H)
- [n,t,t'] **2.84** (m, 6H)
- [e] **2.80** (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5 Hz)
- [p] **2.31** (s, 3H)
- [m] **1.61** (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5Hz)
- [f] **1.54** (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5Hz)
- [l] **1.37** (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [g] **1.33** (qu, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [ h,i,j,k] **1.21** (m.e, 8H)

<sup>13</sup>C (δ)

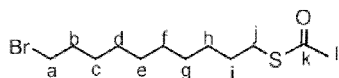
[o] **196.0** ; [r] **168.6** ; [s,s'] **164.8** ; [d] **142.7** ; [a,b,c,d,a',b',c',d'] **139.3** ; **138.0** ; **135.2** ; **133.7** ; **129.1** ; **124.4** ; **124.1** ; [q] **38.8** ; [n] **37.7** ; [e,f,g,h,i,j,k,l,m,p,t,t'] **33.8** ; **33.6** ; **29.4** ; **29.3** ; **29.3** ; **29.1** ; **29.0** ; **28.7** ; **28.3** ; **25.5** ; **24.8** .

**I.2.7. Thioéthanoate de S-(10-bromodécyle)**



Dans un tricol, on introduit le 1,10-dibromodécane (10 g, 33.32 mmol) et le thioacétate de potassium (1.27 g, 11.10 mmol, 1/3 éq) dans l'éthanol anhydre (50 mL). Le mélange est porté à reflux pendant 2 h 30. Après évaporation du solvant, le mélange réactionnel est ensuite dilué dans le dichlorométhane (50 mL) puis lavé à l'eau (100 mL). La phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite. Une chromatographie flash sur gel de silice avec de l'EP comme éluant permet de récupérer le produit de départ puis un éluant constitué de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EP (1/1) conduit à 2.34 g du sous forme d'une huile incolore.

- ✓ Rendement : 71 %
- ✓ Point de fusion : 28°C
- ✓ IR (NaCl) : 1684 cm<sup>-1</sup>(C=O)
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :



$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

-[a] **3.40** (t, 2H,  $J^3 = 6.5$  Hz)

-[j] **2.85** (t, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)

-[l] **2.32** (s, 3H)

-[b] **1.84** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)

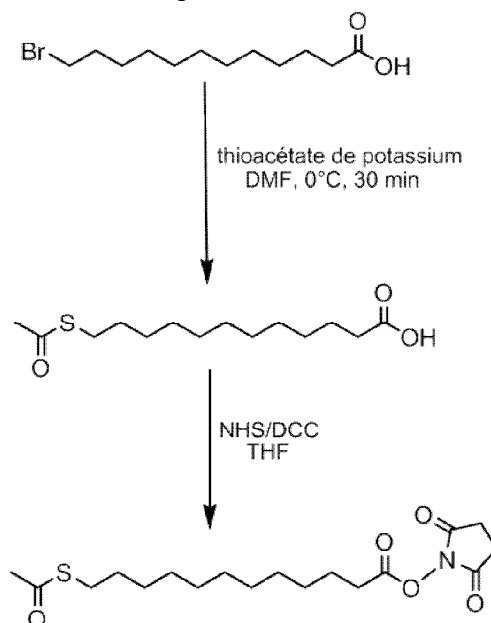
-[i] **1.55** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)

-[c] **1.41** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)

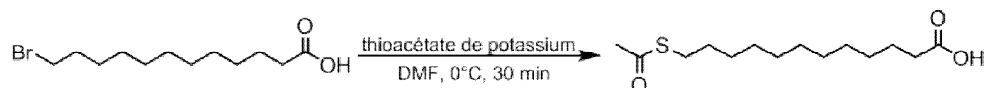
-[h] **1.34** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)

-[d,e,f,g] **1.27** (m.e, 8H)

### I.3. Synthèse du 12-(thioacétyl)dodécanoate de N-succinimidyle



#### I.3.1. Acide 12-(thioacétyl)dodécanoïque<sup>251</sup>



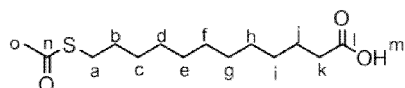
A une solution de 1 g (3.58 mmol) d'acide 12-bromododécanoïque dans 20 mL de DMF anhydre refroidie à 0°C et sous atmosphère inerte (N<sub>2</sub>), 1.22 g (10.74 mmol, 3 éq.) de thioacétate de potassium sont ajoutés. Au terme de l'addition, le mélange réactionnel est maintenu à 0°C pendant 30 min. Après dilution avec 60 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, le mélange est lavé à l'eau (3 × 100 mL). Après séchage sur MgSO<sub>4</sub>, la phase organique est coévaporée deux fois

<sup>251</sup> Tahir, M. ; Théato, P. ; Muller, W. ; Janshoff, A. ; Zhang, J. ; Huth, J. ; Tremel W., *Chem. Commun.*, **2004**, 2848 – 2849.

## Partie expérimentale

avec du toluène. Le produit brut est purifié par recristallisation dans l'EP pour donner 850 mg du composé **1** attendu sous forme d'un solide blanc.

- ✓ Rendement : 86 %
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :



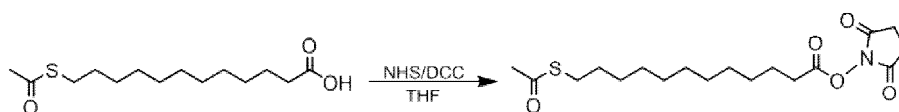
### <sup>1</sup>H (δ)

- [a] 2.86 (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [k] 2.37 (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7 Hz)
- [o] 2.33 (s, 3H)
- [b,j] 1.53-1.67 (m, 4H)
- [c,d,e,f,g,h,i] 1.26-1.36 (m.e, 4H)

### <sup>13</sup>C (δ)

[n] 196.1 ; [l] 179.6 ; [a] 33.9 ; [b,c,d,e,f,j,h,k,o] 30.6 ; 29.46 ; 29.43 ; 29.39 ; 29.34 ; 29.18 ; 29.15 ; 29.06 ; 29.02 ; 28.7 ; 24.6

### I.3.2. 12-(Thioacétyl)dodécanoate de N-succinimidyle

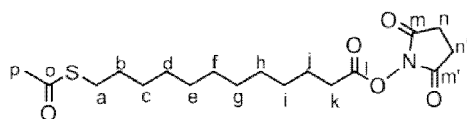


Dans 40 mL de THF anhydre, on dissout 800 mg d'acide de 12-(Thioacétyl) dodécanoïque (2.91 mmol) de l'acide, 436.2 mg (3.79 mmol) de N-hydroxysuccinimide et 901 mg (4.3 mmol) de DCC. Le mélange est agité à température ambiante et sous azote pendant 12 heures. Après filtration de la DCU formée, le filtrat est évaporé et le résidu est repris au dichlorométhane (40 mL), lavé deux fois à l'eau (50 mL), séché sur MgSO<sub>4</sub>. Après évaporation du solvant, la purification par chromatographie sur gel de silice du résidu obtenu (éluant : AcOEt/EP (0.5/9.5 puis 3/7)) conduit à 980 mg du composé **2** sous forme d'une poudre blanche.

- ✓ Rendement : 90 %
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

### <sup>1</sup>H (δ)

- [a] 2.85 (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5 Hz)
- [k] 2.59 (t, 2H, J<sup>3</sup> = 7.5 Hz)
- [n,n'] 2.82 (s, 4H)



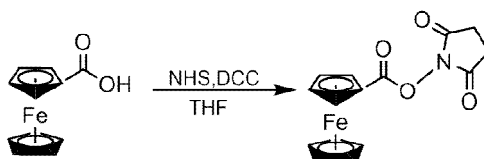
- [p] **2.31** (s, 3H)
- [b] **1.73** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [j] **1.55** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [c] **1.38** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [i] **1.34** (qu, 2H,  $J^3 = 7$  Hz)
- [h,g,f,e] **1.25** (m.e, 8H)

$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

[o] **196.1** ; [m,m'] **1691** ; [l] **168.6** ; [a,b,c,d,e,f,h,i,j,k,p] **30.9** ; **30.6** ; **29.4** ; **29.37** ; **29.36** ; **29.2** ; **29.1** ; **29.04** ; **29.01** ; **28.7** ; **28.7** ; **25.5** ; **24.5**

## I.4. Synthèse d'un dérivé ester activé du ferrocène

### I.4.1. Ferrocénecarboxylate de N- succinimidyle<sup>252</sup>



Dans un tricol placé sous atmosphère d'azote et à température ambiante, on mélange 0.5 g (2.17 mmol) d'acide ferrocène carboxylique, 325.7 mg (2.83 mmol) de N-hydroxysuccinimide et 672 mg (3.26 mmol) de DCC dans 60 mL de THF anhydre. Après 20 heures sous agitation, la DCU est filtrée et le filtrat est évaporé. Le résidu est repris dans un minimum de dichlorométhane et filtré à nouveau pour éliminer le reste de la DCU formée. La solution est ensuite lavée par 30 mL d'eau puis séchée sur  $\text{MgSO}_4$ . Après filtration et évaporation, une chromatographie sur colonne à gel de silice (éluant :  $\text{EtO}_2$ ) conduit à 0.63 g composé **2** sous forme d'un solide orange.

- ✓ Rendement : 89 %
- ✓ Point de fusion : 168-170 °C
- ✓ Spectre de masse  $\text{ESI}^+$  : trouvée  $m/z = 350.00$  ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ) calculée : 350.0094
- ✓ Analyse RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :

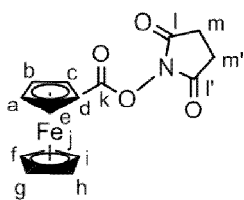
$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

<sup>252</sup> Ferapontova, E. E. ; Olsen, E.M. ; Gothelf, V. *J.Am.Chem.Soc.*, **2008**, 130, 4256-4258



## Partie expérimentale



-[c,e] **4.93** (t,  $J^3 = 2$ , 2H)

-[k] **169.9**

-[a,b] **4.55** (t,  $J^3 = 2$ , 2H)

-[l,l'] **167.6**

-[f,g,h,i,j] **4.38** (s, 5H)

-[d] **73.1**

-[m,m'] **2.87** (s,  $J^3 = 9.2$ , 4H)

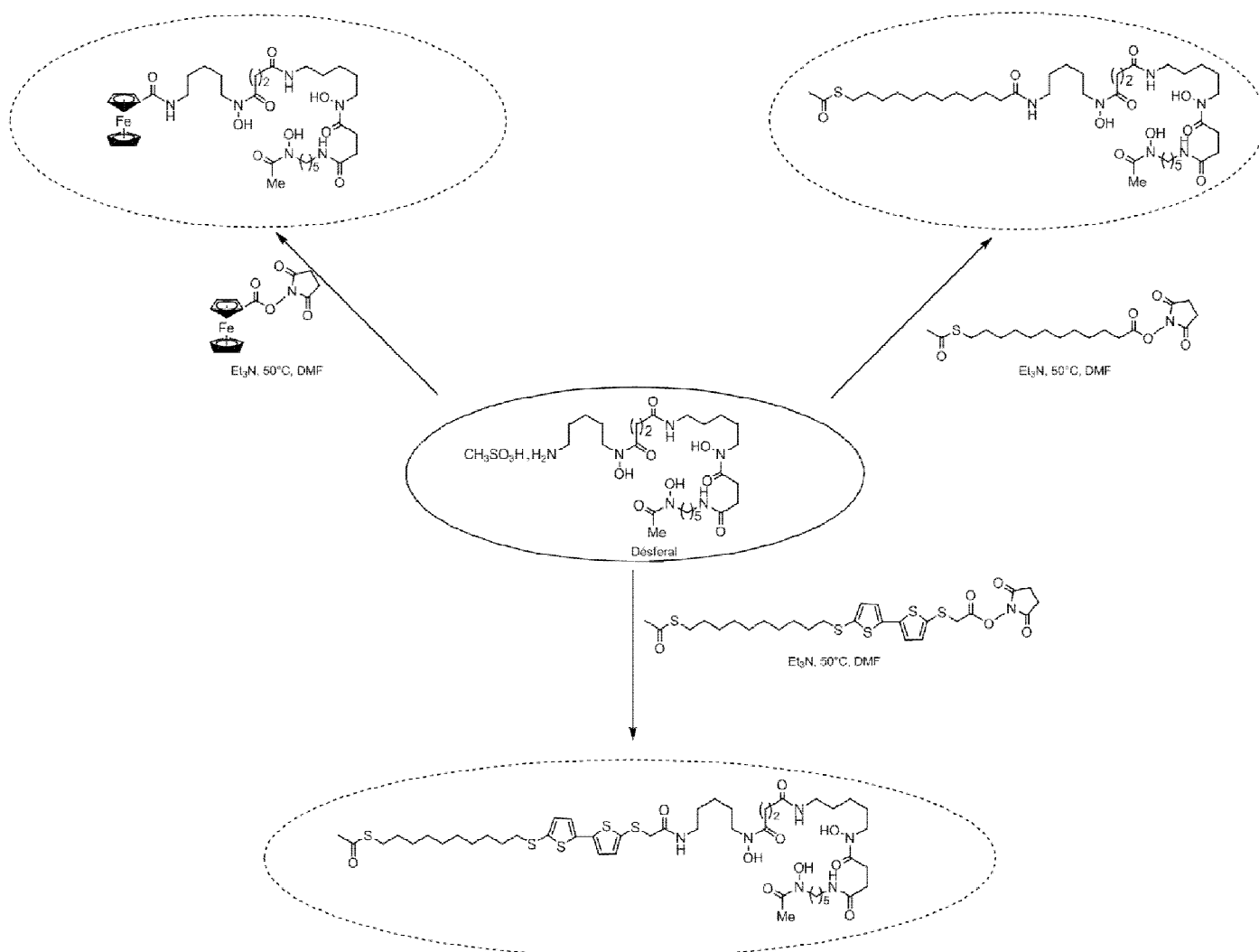
-[c,e] **71.0**

-[a,b] **70.9**

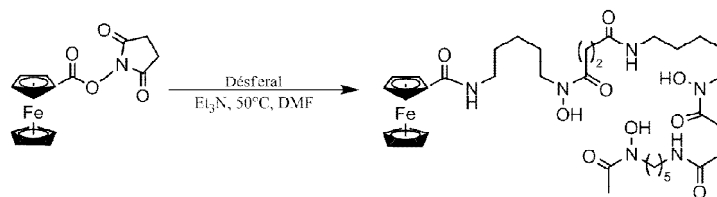
-[f,g,h,i,j] **64.4**

-[m,m'] **25.9**

### I.5. Synthèse des analogues de la desferrioxamine B

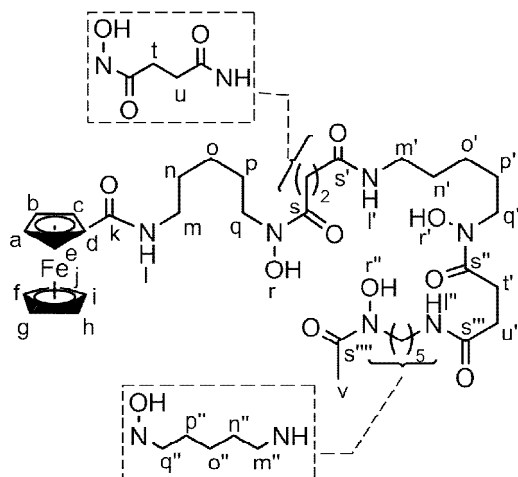


**I.5.1. Ferrocénylcarboxamido- desferrioxamine B<sup>253</sup>**



A 0.2 g (0.61 mmol) d'ester activé dissous dans 25 mL de DMF sous atmosphère d'azote, on ajoute 0.36 g (0.55 mmol) de mésylate de desferrioxamine B et 0.5 mL (3.56 mmol, 6.5 éq.) de triéthylamine. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 50°C pendant 24 h. Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est lavé plusieurs fois à l'acétate d'éthyle puis isolé par centrifugation pour donner 0.37 g du produit attendu **L2** sous forme d'une poudre orange.

- ✓ Rendement : 88 %
- ✓ Point de fusion : 181-184 °C
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 795.4312 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :



<sup>1</sup>H (δ)

- [r,r',r''] **9.61** et **9.65** (2s, 2H et 1H)
- [l] **7.94** (s, 1H)
- [l',l''] **7.77** (s, 2H)
- [c,e] **4.76** (s, 2H)
- [a,b] **4.31** (s, 2H)
- [f,g,h,i,j] **4.13** (s, 5H)
- [q,q',q''] **3.47** (m, 6H)
- [m] **3.14** (m, 2H)
- [m',m''] **2.99** (m, 4H)
- [t,t'] **2.56** (m, 4H)
- [u,u'] **2.25** (m, 4H)
- [v] **1.95** (s, 3H)

<sup>253</sup> Moggia, F. ; Brisset, H. ; Fages, F. ; Chaix, C. ; Mandrand, C. ; Dias, M. and Levillain, E. *Tetrahedron Letters*, **2006**, 47, 20, 3371-3374.

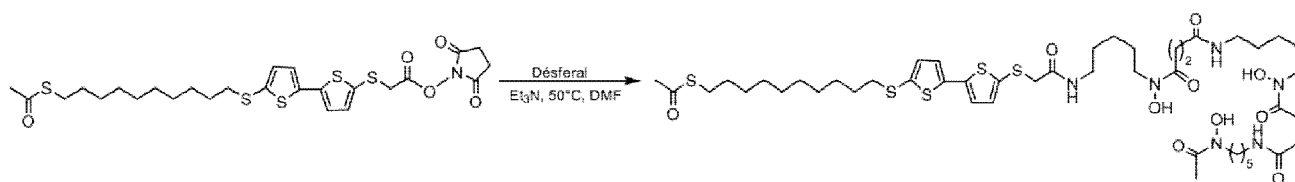
## Partie expérimentale

-[n,o,p,n',o',p',n'',o'',p''] **1.19–1.48** (m.e, 18H)

$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

**171.8 ; 171.1 ; 169.9 ; 168.5 ; 76.8 ; 69.6 ; 69.1 ; 67.9 ; 47.0 ; 46.9 ; 46.7 ; 45.7 ; 40.2 ; 40.1 ; 38.4 ; 38.3 ; 29.8 ; 29.1 ; 28.7 ; 27.5 ; 26.0 ; 25.9 ; 23.5 ; 23.4 ; 20.2**

### I.5.2.5-(Méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'-bithiophèneamide-desferrioxamine B



Sous atmosphère d'azote et à 50 °C, 84 mg (0.13 mmol) de mésylate de desferrioxamine B et 100 mg (0.17 mmol) de **8** sont dissous dans 20 mL de DMF en présence de 0.4 mL de triéthylamine. Après 48 heures de réaction, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu est lavé à l'eau, au dichlorométhane et au méthanol à chaud (60 °C). On obtient ainsi 102 mg du composé **14'** sous forme d'une poudre beige.

- ✓ Rendement : 77 %
- ✓ Point de fusion : 177°C
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 1067.41 (M + Na)<sup>+</sup> ; 1045.42 (M<sup>+</sup>)
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :

$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

-[y,y',y''] **9,66** et **9,61** (2 s, 1 H et 2 H)

-[s] **8.03** (s. e, 1 H)

-[s',s''] **7,79** (s , 2H)

-[b,c,b',c'] **7,19-7,12** (m , 4H)

-[q,x,x',x'',n] **3.49-3.43** (m,10H)

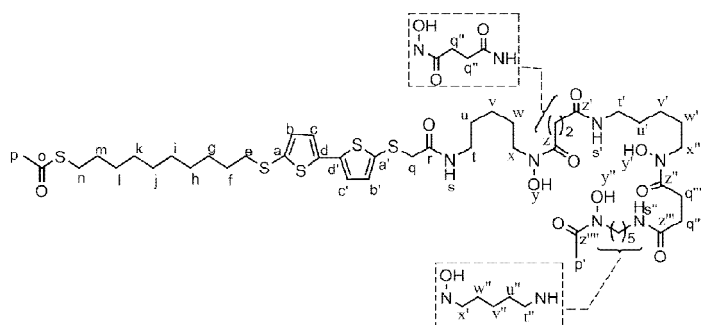
-[t,t',t''] **2.99** (q, 6 H)

-[q',q'''] **2,83** (m, 4 H)

-[e, p,q'',q'''] **2,30-2,26** (m, 10 H)

-[p'] **1.95** (s, 3H)

-[f,g,h,i,j,k,l,m,u,v,w, ,u',v',w', u'',v'',w'']

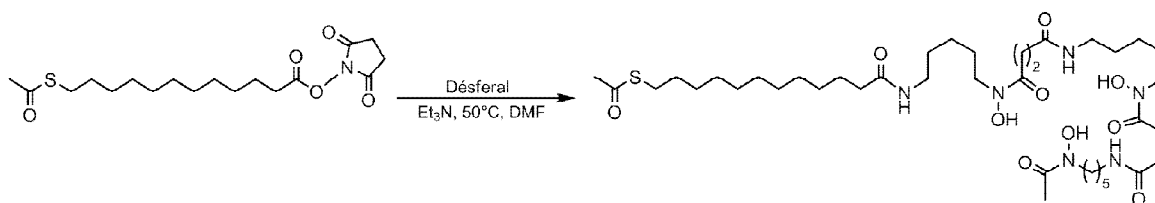


**1,54-1,22** (3m + m.e, 36 H)

<sup>13</sup>C (δ)

**195.2 ; 171.8 ; 171.1 ; 170.0 ; 167.0 ; 139.0 ; 138.4 ; 134.5 ; 133.9 ; 133.8 ; 132.6 ; 124.5 ; 124.3 ; 47.0 ; 46.9 ; 46.6 ; 41.3 ; 38.6 ; 38.3 ; 37.8 ; 37.6 ; 30.5 ; 29.8 ; 29.0 ; 28.7 ; 28.7 ; 28.6 ; 28.6 ; 28.4 ; 28.4 ; 28.3 ; 28.3 ; 28.3 28.2 ; 28.0 ; 27.6 ; 27.5 ; 27.5 ; 25.9 ; 23.4 ; 23.3 ; 20.2**

### I.5.3. 12-(Thioacétyl)dodécanecarboxamido-desferrioxamine B



A 271 mg (0.41 mmol) de mésylate de desferrioxamine B dissous dans 15 mL de DMF, on ajoute 200 mg (0.54 mmol) de composé **2** solubilisés dans 5 mL DMF en présence de 1 mL de triéthylamine, puis on chauffe à 50 °C pendant 48 heures. Après évaporation sous pression réduite, le produit brut est purifié par recristallisation dans le méthanol. On obtient 270 mg de **L3'** sous forme d'une poudre blanche.

- ✓ Rendement : 80 %
- ✓ Point de fusion : 140°C
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 839.5 (M + Na)<sup>+</sup> ; 855.44 (M + K)<sup>+</sup> ; 817.49 (M + H)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :

<sup>1</sup>H (δ)

-[u,u',u''] **9,65** et **9,60** (2 s, 1 H et 2 H)

-[o',o''] **7,78** (s. e, 2 H)

-[o] **7,72** (t, <sup>3</sup>J = 5 Hz, 1 H)

-[t,t',t''] **3,44** (t, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, 6 H)

-[ p,p',p''] **2,99** (q, <sup>3</sup>J = 6 Hz, 6 H)

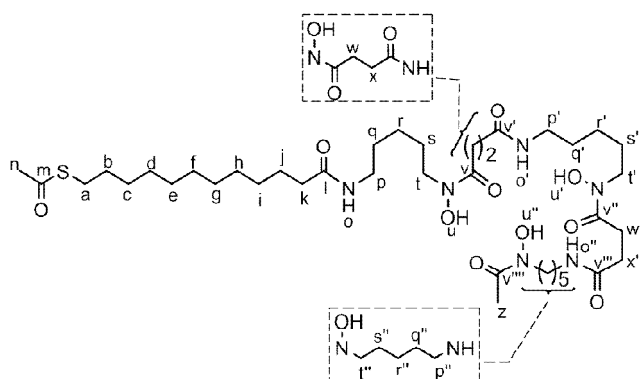
-[a] **2,80** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)

-[w,w'] **2,56** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 4 H)

-[n] **2,30** (s, 3H, CH<sub>3</sub>)

-[x,x'] **2,26** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 4H)

-[k] **2,01** (t, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, 2 H)

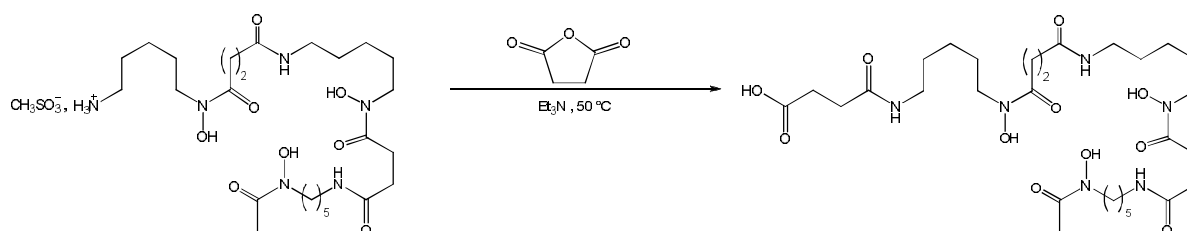


-[z] **1,96** (s, 3H)

-[b,c,d,e,f,g,h,i,j,q,r,s,q',s',r',q'',r'',s''] **1,48-1,22**

(2m + m.e, 36 H)

#### I.5.4. Acide succinique - desferrioxamine B



510 mg (0.78 mmol) de mésylate de desferrioxamine B, 160 mg (1,6 mmol) d'anhydride succinique sont dissous dans 10 mL de DMF sous atmosphère d'azote en présence de 0.5 mL de triéthylamine. Après 48 heures de réaction à 50 °C, le solvant est évaporé puis le résidu obtenu est purifié par recristallisation dans du méthanol à chaud (60 °C). On récupère 330 mg d'un solide blanc identifié à **10**.

✓ Rendement : 64 %

✓ Point de fusion : 168-170 °C

✓ Spectre de masse : (MALDI-TOF) : 661.430 (M + H)<sup>+</sup>, 683.436 (M + Na)<sup>+</sup>

✓ Analyse RMN (DMSO) :

<sup>1</sup>H (δ)

-[a] **12,03** (1 s.e, 1 H)

-[u,u',u''] **9,64** et **9,56** (2 s, 3 H)

-[o,o',o''] **7,79** (m, 3 H)

-[t,t',t''] **3,44** (t, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, 6 H)

-[p,p',p''] **2,99** (q, <sup>3</sup>J = 6 Hz, 6 H)

-[w,w'] **2,57** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 4 H)

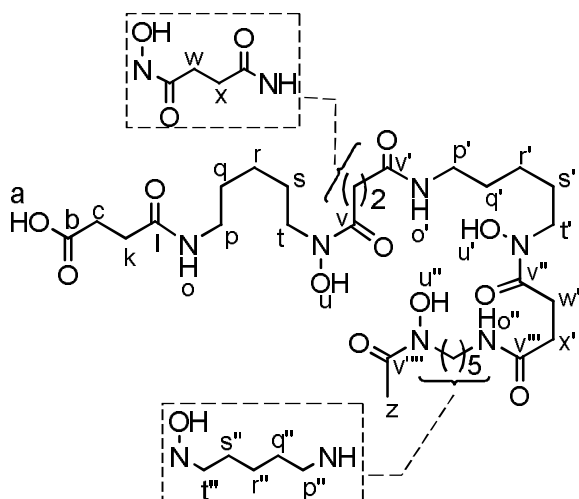
-[c] **2,40** (t, <sup>3</sup>J = 7,5 Hz, 2 H)

-[k,x,x'] **2,26** (t+t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 6 H)

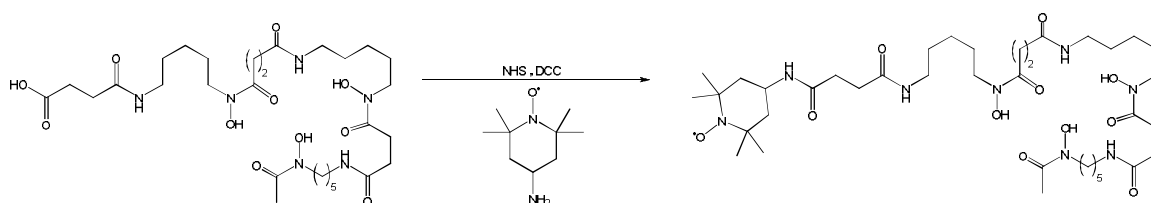
-[z] **1,96** (s, 3H)

-[b,c,d,e,f,g,h,i,j,q,r,s,q',s',r',q'',r'',s''] **1,54-1,15**

(3q, 18 H)



### I.5.5. N-(4-amino-TEMPO)succinamide-desferrioxamine B

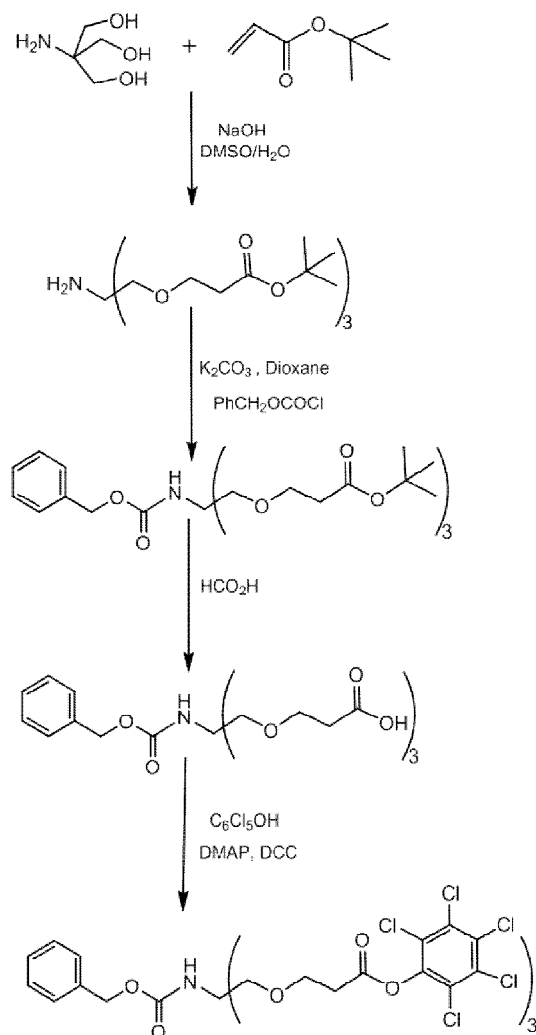


200 mg (0,31 mmol) d'acide **10**, 96 mg (0,46 mmol) de DCC et 46 mg (0,40 mmol) de NHS sont solubilisés dans 10 mL de DMF. Après 6 h de réaction à 50 °C, on additionne goutte à goutte une solution de 85 mg du 4-Amino-TEMPO (0,49 mmol) dans 2 mL de DMF. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 24 heures à 50 °C. Après évaporation du solvant, le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : méthanol/dichlorométhane (1/9 puis 2/8)). On obtient 50 mg d'un solide blanc/rouge identifiée à **L5**.

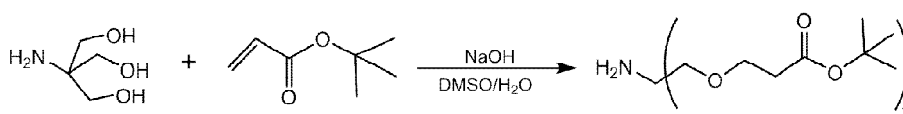
- ✓ Rendement : 22 %
- ✓ Point de fusion : 178-180 °C
- ✓ Spectre de masse : (MALDI-TOF) : 744.450 (M + H)<sup>+</sup>, 766.423 (M + Na)<sup>+</sup>

### I.6. Synthèse d'un analogue du ferrichrome : via l'intermédiaire aminé trihydroxamate

## Partie expérimentale



### I.6.1. Tris {[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy]méthyl}méthylamine<sup>254</sup>



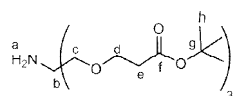
A une solution de tris(hydroxyméthyl)aminométhane (3.63 g, 29.96 mmol) dans 6 mL de DMSO placée sous azote et refroidie à 10 °C, on ajoute sous agitation 0.6 mL d'une solution de soude 5M puis 15 mL (102 mmol) de tert-butyl acrylate. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Le résidu obtenu, après évaporation du solvant, est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5/5) puis acétate d'éthyle). On obtient 8.25 g de **12** sous la forme d'une huile jaune.

✓ Rendement : 54 %

✓ IR (NaCl) : 1734 cm<sup>-1</sup>(C=O)

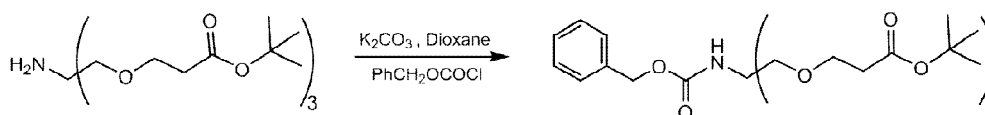
<sup>254</sup> Cardona, C. M. ; Gawley, R. E., *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 1411-1413.

✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :



<sup>1</sup> H (δ)	<sup>13</sup> C (δ)
-[d] <b>3.65</b> (t, <sup>3</sup> J = 6 Hz, 6 H)	-[f] <b>170.9</b>
-[c] <b>3.32</b> (s, 6 H)	-[g] <b>80.3</b>
-[e] <b>2.46</b> (t, <sup>3</sup> J = 6 Hz, 6 H)	-[b] <b>72.8</b>
-[h] <b>1.45</b> (s, 27 H)	-[d] <b>67.1</b>
	-[c] <b>55.9</b>
	-[e] <b>36.2</b>
	-[h] <b>28.0</b>

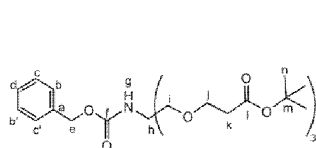
### I.6.2. Benzyl N-Tris{[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy]méthyl}méthyl-carbamate<sup>5</sup>



On dissout 8.24 g (16.31 mmol) de triester *tert*-butylique **12** dans 25 mL de dioxane. A cette solution, on ajoute goutte à goutte, sous agitation vigoureuse, une solution aqueuse de carbonate de potassium à 50 % puis 4.3 mL (24.46 mmol) de chloroformiate de benzyle. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 5 heures. Après dilution dans 80 mL d'eau et extraction à l'acétate d'éthyle (3 fois 100 mL), la phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub> puis le solvant est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant : AcOEt/EP (4/6)) pour donner 8.88 g de **13** sous forme d'une huile jaune.

✓ Rendement : 85 %

✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

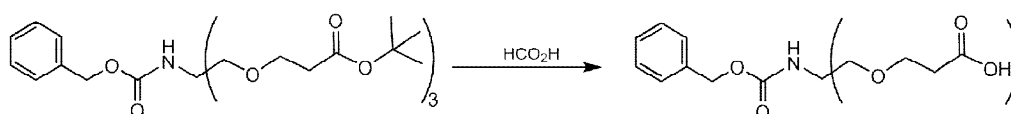


<sup>1</sup> H (δ)	<sup>13</sup> C (δ)
-[b,c,d,b',c'] <b>7.27-7.40</b> (m, 5H)	-[l] <b>170.8</b>
-[g] <b>5.30</b> (s.e, 1H)	-[f] <b>155.1</b>
-[e] <b>5.02</b> (s, 2 H)	-[a, b,c,d,b',c'] <b>136.7 ; 128.3 ; 127.9 ;</b>
-[i] <b>3.65</b> (s, 6 H)	<b>127.8</b>
-[j] <b>3.63</b> (t, <sup>3</sup> J = 6.5 Hz, 6 H)	-[m] <b>80.4</b>



-[k] <b>2,46</b> (t, $^3J = 6.5$ Hz, 6 H)	-[h] <b>69.3</b>
-[i] <b>1,43</b> (s, 27 H)	-[j] <b>67.0</b>
	-[e] <b>66.08</b>
	-[i] <b>58.7</b>
	-[k] <b>36.2</b>
	-[n] <b>28.0</b>

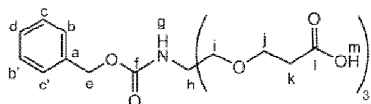
### I.6.3. Benzyl N-Tris[2-carboxyéthoxy)méthylcarbamate<sup>5</sup>



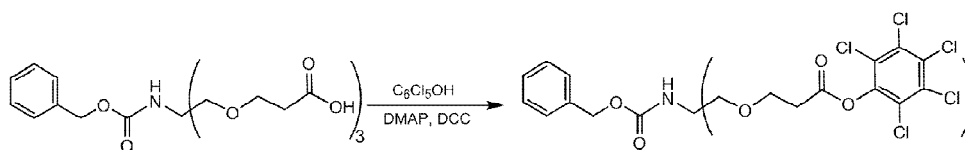
Un mélange de 140 mL d'acide formique et de 0,64 g (13.9 mmol) de triester protégé **13** est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 19 heures. L'avancement de la réaction est suivi par CCM (AcOEt/EP 3/7). Après élimination de l'acide formique sous pression réduite, on récupère 6.54 g d'une huile jaune identifiée à **14**.

- ✓ Rendement : quantitatif
- ✓ Spectre de masse : 470 (M - H)<sup>-</sup>, 361 (M - 2H - PhCH<sub>2</sub>OH)<sup>-</sup>.
- ✓ Analyse RMN ( $^1\text{H}$  ( $\delta$ ) : DMSO,  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ) : CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) :

	$^1\text{H}$ ( $\delta$ )	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ )
	-[m] <b>12.13</b> (s. e, 3 H)	-[l] <b>172.9</b>
	-[b,c,d,b',c'] <b>7.31</b> (m, 5 H)	-[f] <b>155.7</b>
	-[g] <b>6.55</b> (s, 1 H)	-[a,b,c,d,b',c'] <b>128.4 ; 128.5</b>
	-[e] <b>4.97</b> (s, 2 H)	<b>; 129.1 ; 138.3</b>
	-[j] <b>3.54</b> (t, $^3J = 6.3$ Hz, 6 H)	-[h] <b>69.8</b>
	-[i] <b>3.48</b> (s, 6 H)	-[j] <b>67.6</b>
	-[k] <b>2.40</b> (t, $^3J = 6.3$ Hz, 6 H)	-[e] <b>66.0</b>
		-[i] <b>59.7</b>
		-[k] <b>35.0</b>



#### I.6.4. N-Tris{[2-(2,3,4,5,6-pentachlorophénoxy)carbonyl]éthoxy)méthyl} méthyl carbamate de benzyle

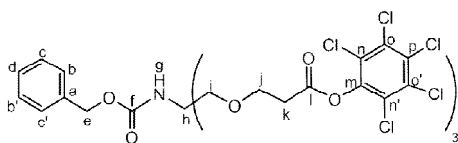


Sous atmosphère d'azote, on solubilise 6.55 g (13.89 mmol) de triacide **14**, 14.80 g (55.56 mmol) de pentachlorophénol et 135.85 mg (1.11 mmol) de DMAP dans 120 mL de THF. A la solution obtenue, refroidie à 0 °C à l'aide d'un bain de glace, on ajoute 11.47 g (55.56 mmol) de DCC dissous dans 30 mL de THF. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 2 jours. Après filtration de la DCU formée, le solvant est évaporé puis un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole (3.5/36.5) est additionné afin d'éliminer le reste de la DCU. Le résidu obtenu, après évaporation du solvant, est filtré sur colonne d'alumine neutre (éluant : acétate d'éthyle) puis purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt/EP (3.5/6.5)). On obtient 14.75 g d'une huile incolore identifiée à **15**.

- ✓ Rendement : 87%
- ✓ Spectre de masse : (ESI)<sup>+</sup> : 1209 (M<sup>+</sup>) et bonne corrélation avec l'amas isotopique théorique.
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

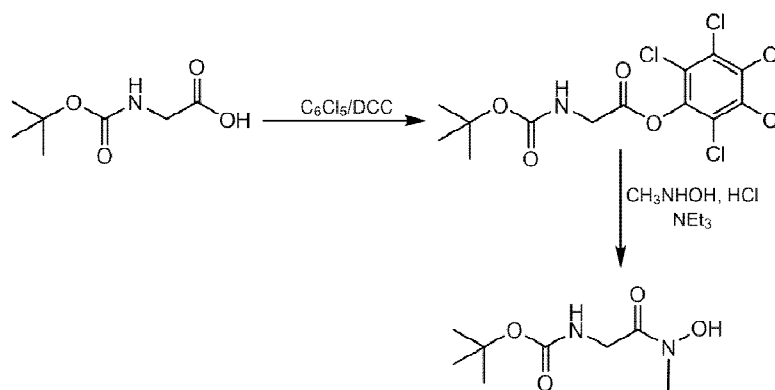
#### <sup>1</sup>H (δ)

- [ b,c,d,b',c' ] **7.27** (m, 5 H)
- [g] **5.22** (s, 1 H)
- [e] **5.03** (s, 2 H)
- [j] **3.84** (t, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, 6 H)
- [i] **3.77** (s, 6 H)
- [k] **2.91** (t, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, 6 H)



#### I.6.5. (N-Hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthylcarbamate de tert-butyle<sup>255</sup>

<sup>255</sup> Dayan, I ; Libman, J. ; Agi, Y. ; Shanzer, A., *Inorg. Chem.*, **1993**, 32,1467-1475.

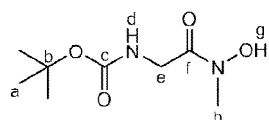


**Etape a :** Sous atmosphère d'azote, 10 g (57 mmol) de N-t-Boc-glycine, 15.2 g (57 mmol) de pentachlorophénol et 15.89 g (77 mmol) de DCC sont dissous dans 100 mL de dichlorométhane anhydre. L'agitation est maintenue à température ambiante pendant 24 heures. L'urée formée est filtrée et le filtrat est évaporé à sec. Le produit brut obtenu (24.14 g) n'est pas purifié à ce stade et utilisé sans purification préalable dans l'étape suivante.

**Etape b :** A une suspension de 5.714 g (68.4 mmol) de chlorure de N-méthylhydroxylamine et 5.5 mL (68.40 mmol) de triéthylamine dans 50 mL de dichlorométhane anhydre, on ajoute les 24.14 g de l'ester activé brut obtenu précédemment, solubilisés dans 50 mL de dichlorométhane. Après 36 heures d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé et le produit est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : AcOEt / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6/4) puis AcOEt) pour donner 7.74 g de produit **16** sous forme d'un solide blanc.

✓ Rendement : 71%

✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :



<sup>1</sup>H (δ)

-[g] **9,08** (s, 1 H)

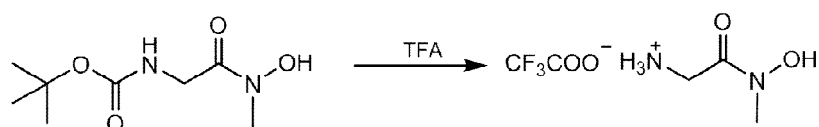
-[d] **5,55** (s, e, 1 H)

-[e] **4,07** (d, <sup>3</sup>J = 5,3 Hz, 2 H)

-[h] **3,25** (s, 3 H)

-[a] **1,44** (s, 9 H)

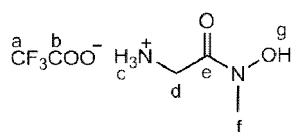
#### I.6.6. 2,2,2 trifluoroacétate de N-hydroxy-N-méthylcarbamoylméthyl-ammonium<sup>6</sup>



## Partie expérimentale

A une solution de 7.70 g (37.70 mmol) d'hydroxamate protégé **16** dissous dans 31 mL de dichlorométhane sous atmosphère d'azote, on ajoute goutte à goutte 31 mL d'acide trifluoroacétique. 12 heures plus tard, le mélange réactionnel est dilué dans 100 mL d'eau. La phase organique est lavée à l'eau (3 fois 50 mL). Après évaporation de la phase aqueuse, le résidu huileux est coévaporé avec du toluène. 8.50 g de produit **17** sous forme d'une huile visqueuse brune sont obtenus.

- ✓ Rendement : quantitatif
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :



$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

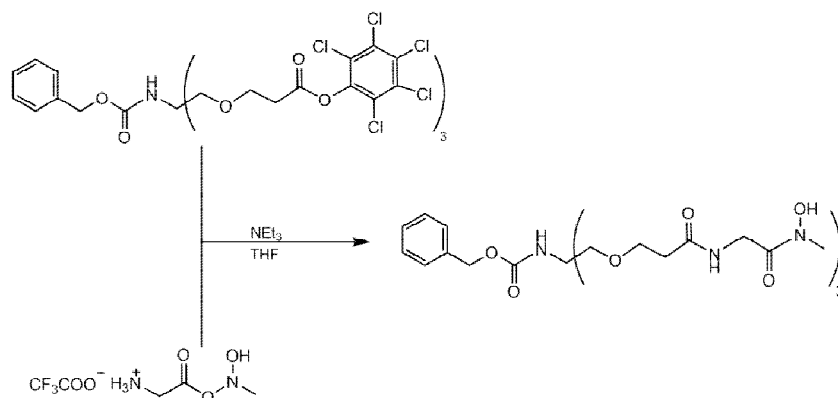
-[g] **10.53** (s, 1 H)

-[c] **8.08** (s, e, 1 H)

-[d] **3.77** (s, 2 H)

-[f] **3.14** (s, 3 H)

### I.6.7. N-Tris[2[[(N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl]-aminocarbonyl]éthoxy]méthyl)méthylcarbamate de benzyle<sup>256</sup>



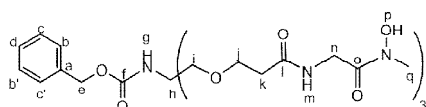
Sous atmosphère d'azote, on solubilise 7.5 g (6.16 mmol) de composé **15** dans 20 mL de THF, puis on ajoute un mélange de triéthylamine (3.74 g, 37 mmol) et de sel d'hydroxamate **17** (7.08 g, 37 mmol) en suspension dans 60 mL de THF. Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 4 jours. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu est dilué dans 100 mL d'eau. Après extraction au dichlorométhane (100 mL), la phase organique est lavée 3 fois par 50 mL d'eau, et la phase aqueuse est ensuite évaporée sous pression réduite. Le produit est purifié sur gel de silice (éluant : AcOEt /MeOH (9/1)) puis lavé

<sup>256</sup> Ouchetto, H. ; Dias, M. ; Mornet, R. ; Lesuisse, E. ; Camadro, J.-M., *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 1799.

## Partie expérimentale

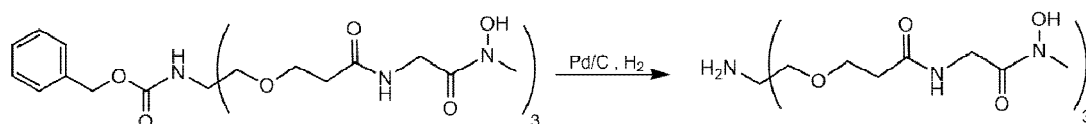
plusieurs fois avec un mélange de solvants : méthanol/éther éthylique anhydre (1/15). On obtient 2.47 g d'une huile orange identifiée à **18**

- ✓ Rendement : 55%
- ✓ Point de fusion :
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>-</sup>) 728 (M - H)<sup>-</sup>, 842 ((M - H) + CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H)<sup>-</sup>
- ✓ Analyse RMN <sup>1</sup>H (δ) (CD<sub>3</sub>OD) et (DMSO) :



<sup>1</sup> H (δ)	<sup>1</sup> H (δ)
-[b,c,d,b',c'] <b>7.33-7.27</b> (m, 5 H)	-[p] <b>9.9</b> (s, e, 3 H)
-[e] <b>5.00</b> (s, 2 H)	-[m] <b>7.8</b> (t, 3 H, <sup>3</sup> J = 5 Hz,)
-[n] <b>4.13</b> (s, 6 H)	-[a,b,c,d,b',c'] <b>7.3-7.2</b> (m, 5 H)
-[i,j] <b>3.7</b> (s + t, <sup>3</sup> J = 5.9 Hz, 12 H)	-[g] <b>6.5</b> (s, e, 1 H)
-[q] <b>3.18</b> (s, 9 H)	-[b] <b>4.9</b> (s, 2 H)
-[k] <b>2.48</b> (t, <sup>3</sup> J = 5.9 Hz, 6 H)	-[n] <b>3.9</b> (d, <sup>3</sup> J = 5.3 Hz, 6 H)
	-[j] <b>3.5</b> (t, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, 6 H)
	-[i] <b>3.5</b> (s, 6 H)
	-[q] <b>3.0</b> (s, 9 H)
	-[k] <b>2.3</b> (t, <sup>3</sup> J = 6.4 Hz, 6 H)

### I.6.8. Tris {[2-[(N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl]-aminocarbonyl]éthoxy)méthyl}méthylamine<sup>7</sup>



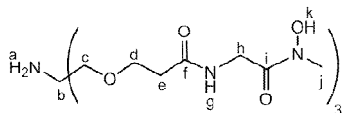
On dissout 1.023 g de Cbz-trihydroxamate du triamide **18** (1.402 mmol) dans 100 mL d'éthanol. A cette solution, on ajoute 122 mg de catalyseur Pd/C 10% et le mélange est agité à température ambiante sous une pression de 3 bars en hydrogène. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince (composé benzyloxycarbonylé R<sub>f</sub> = 0.9 ; composé aminé R<sub>f</sub> = 0.1 dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 7.5/2.5).

Après environ 4 heures, la réaction est complète. La solution est filtrée sur Büchner puis le catalyseur résiduel est éliminé par centrifugation. Après évaporation du solvant, on recueille 830 mg du composé **11** sous forme d'un solide marron clair très hygroscopique.

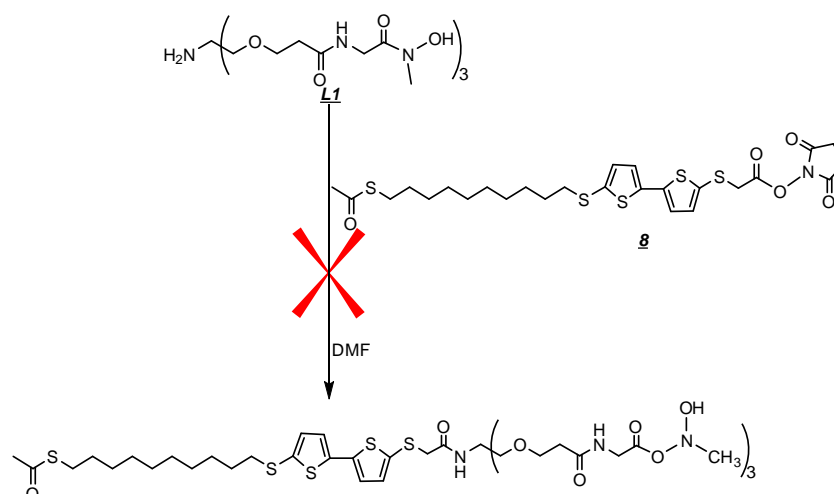
- ✓ Rendement : quantitatif
- ✓ Spectre de masse : (MALDI-TOF) : 596 (M + H)<sup>+</sup>, 618 (M + Na)<sup>+</sup>

✓ Analyse RMN (DMSO) :

	$^1\text{H}$ ( $\delta$ )	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ )
	-[k] <b>10.05</b> (s. e, 3 H)	-[i] <b>170.3</b>
	-[g] <b>7.91</b> (s. e, 3 H)	-[f] <b>168.9</b>
	-[h] <b>3.95</b> (d, $^3\text{J} = 5.2$ Hz, 6H)	-[c] <b>71.2</b>
	-[d] <b>3.55</b> (t, $^3\text{J} = 6.3$ Hz, 6 H)	-[d] <b>67.2</b>
	-[c] <b>3.17</b> (s, 6 H)	-[b] <b>56.6</b>
	-[j] <b>3.07</b> (s, 9 H)	-[h] <b>39.7</b>
	-[e] <b>2.36</b> (t, $^3\text{J} = 6.3$ Hz, 6 H)	-[j,e] <b>35.7</b>



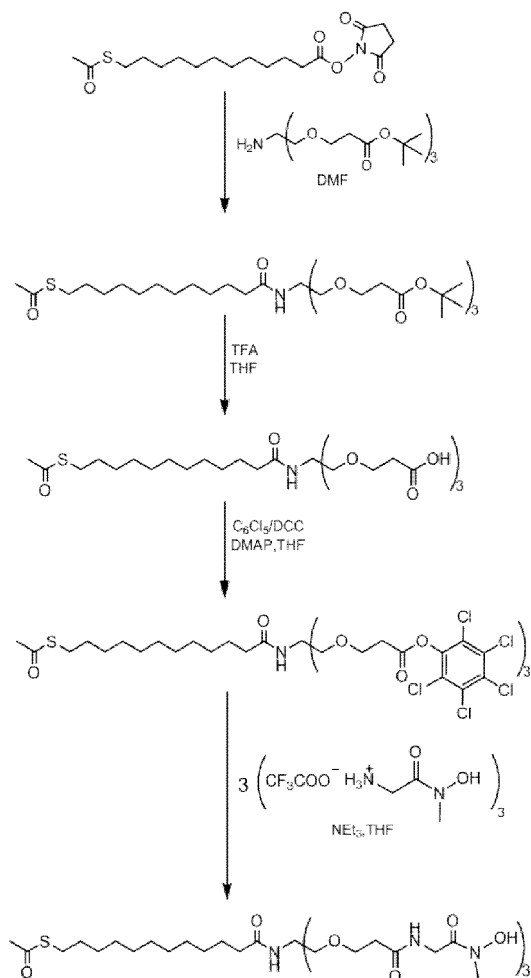
### I.6.9. Essai de couplage du dérivé bithiophénique **g** avec l'analogue du ferrichrome



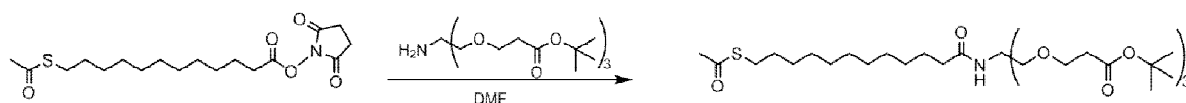
Sous atmosphère d'azote, on solubilise 71 mg (0,12 mmol) de l'amine **L1** dans 10 mL de DMF puis on ajoute 42 mg (0.07 mmol) de l'ester activé **g** dissous dans 3 mL de DMF. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant une semaine. La séparation par chromatographie des différents produits formés, qui se colorent sur plaque de CCM par pulvérisation avec une solution de  $\text{FeCl}_3$ , a échoué en raison de la structure très ramifiée de l'amine **L1**.

## I.7. Synthèse d'un analogue du ferrichrome : via un triester tert-butyle

### I.7.1. Synthèse du 12-(thioacétyl)dodécanamide N-Tris{2-((N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl)-éthoxy)méthyle}



#### I.7.1.1. {12-(Thioacétyl) dodécanamide}N-Tris{[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy)méthyle}

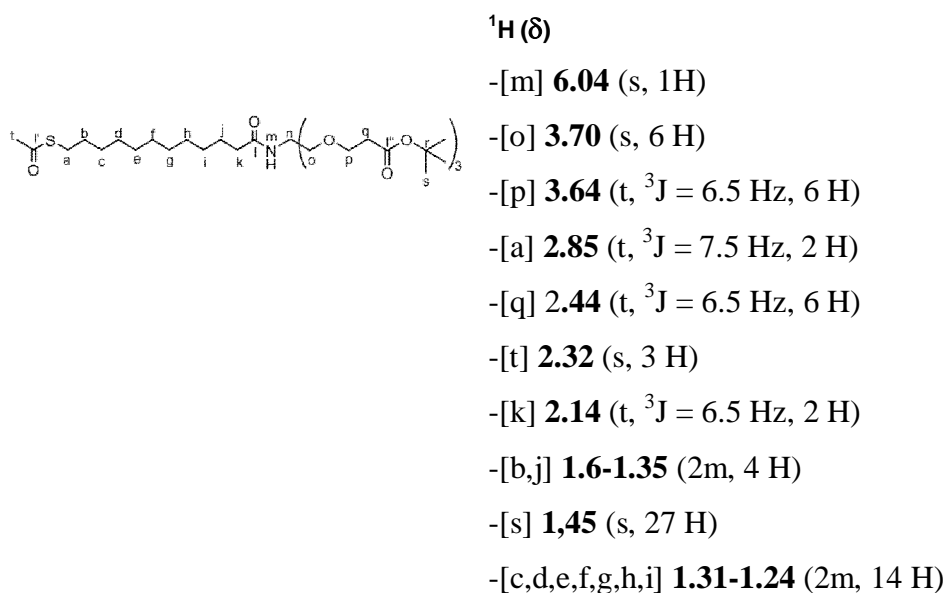


1g (2.69 mmol) de l'ester activé **2** est ajouté à 1.63 mg (3.2 mmol, 1.2 équ.) de triester *tert*-butylique **12** dans 30 mL de DMF. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Après évaporation du DMF, le mélange réactionnel est dilué dans

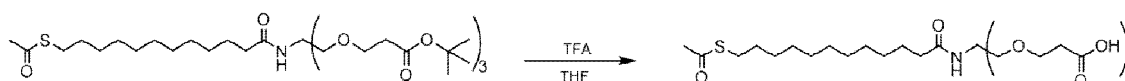
## Partie expérimentale

80 mL d'eau et extrait à l'acétate d'éthyle (3 fois 100 mL), la phase organique est séchée sur  $\text{MgSO}_4$  puis le solvant est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt/EP (3/7)) pour donner 1.75 g de **19** sous forme d'une huile incolore.

- ✓ Rendement : 85%
- ✓ Spectre de masse :  $(\text{ESI}^+)$  762.4 (M + H)<sup>+</sup> ; 784.4 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :



### 1.7.1.2. {12-(Thioacétyl)dodécanamide}N-Tris[2-carboxyéthoxy)méthyl



31 mL d'acide trifluoroacétique sont additionnés à une solution d'ester *tert*-butylique **19** (1.3 g, 1.7 mmol) dans 31 mL de dichlorométhane. Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le solvant est coévaporé deux fois avec du toluène. On obtient ainsi 1 g de **20** sous la forme d'un solide blanc.

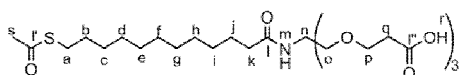
- ✓ Rendement : quantitatif
- ✓ Spectre de masse :  $(\text{ESI}^+)$  594.29 (M + H)<sup>+</sup> ; 616.30 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ SMHR ESI :  $\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}\text{S} + \text{H}^+$  Calculée: 594.2943 Trouvée: 594.2937  
 $\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}\text{S} + \text{Na}^+$  Calculée: 616.2762 Trouvée: 616.2746  
 $2(\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}\text{S}) + \text{H}^+$  Calculée: 1187.5812 Trouvée: 1187.5797  
 $2(\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}\text{S}) + \text{Na}^+$  Calculée: 1209.5632 Trouvée: 1209.5610



## Partie expérimentale

$2(\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}\text{S}) + \text{K}^+$  Calculée: 1237.5371 Trouvée: 1225.5348

✓ Analyse RMN (DMSO) :



$^1\text{H}$  ( $\delta$ )

-[r] **12.16** (s.e, 3H)

-[m] **6.92** (s, 1H)

-[p] **3.55** (t,  $^3J = 6$  Hz, 6 H)

-[o] **3.53** (s, 6 H)

-[a] **2.80** (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 2 H)

-[q] **2.41** (t,  $^3J = 6$  Hz, 6 H)

-[s] **2.30** (s, 3 H)

-[k] **2.02** (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 2 H)

-[b] **1.49** (q,  $^3J = 7$  Hz, 2 H)

-[j] **1.42** (q,  $^3J = 7$  Hz, 2 H)

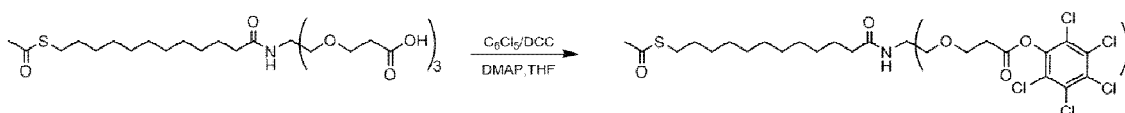
-[c,d,e,f,g,h,i] **1.31-1.24** (2m, 14 H)

$^{13}\text{C}$  ( $\delta$ )

[r'] **195.2** ; [r''] **172.5** ; [l] **172.3** ; [o] **68.0** ; [p] **66.5** ; [n] **59.4** ; [a] **35.7** ; [q] **34.4** ;

[b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,s] **30.5** ; **29.0** ; **28.89** ; **28.82** ; **28.7** ; **28.4** ; **28.2** ; **28.0** ; **25.2**

### 1.7.1.3. 12-(Thioacétyl)dodécanamide N-Tris{[2-(2,3,4,5,6-pentachlorophénoxy)éthoxy]méthyle}



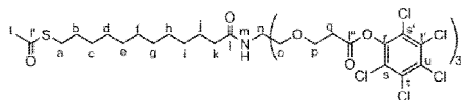
Dans un ballon de 100 mL, on solubilise sous atmosphère d'azote 600 mg (1.01 mmol) de triacide **20**, 1.08 mg (4.04 mmol) de pentachlorophénol et 10 mg (0.08 mmol) de DMAP dans 40 mL de THF. Le mélange est refroidi à 0°C dans un bain de glace. On ajoute 833.6 mg (4.04 mmol) de DCC préalablement dissous dans 15 mL de THF. On voit apparaître un précipité blanc correspondant à la DCU. Le mélange est agité 24 heures à température ambiante, sous azote. La solution est ensuite filtrée sur fritté, et le filtrat concentré sous pression réduite. Le résidu huileux obtenu est filtré sur colonne d'alumine neutre (éluant : acétate d'éthyle) puis purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt /EP (3/7)). On obtient 554 mg d'une huile incolore identifiée à **21**.

✓ Rendement : 41%

## Partie expérimentale

✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 1359.72 (M+Na)<sup>+</sup> et bonne corrélation avec l'amas isotopique théorique

✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :



<sup>1</sup>H (δ)

-[m] **5.78** (s, 1H)

-[p] **3.84** (t, <sup>3</sup>J = 6 Hz, 6 H)

-[o] **3.08** (s, 6 H)

-[q] **2.92** (t, <sup>3</sup>J = 6 Hz, 6 H)

-[a] **2.84** (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2 H)

-[t] **2.31** (s, 3 H)

-[k] **2.04** (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2 H)

-[b] **1.54** (q, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)

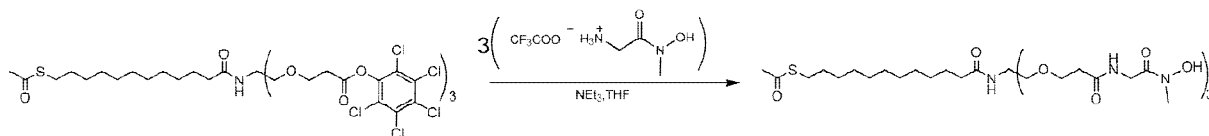
-[j] **1.32** (q, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)

-[c,d,e,f,g,h,i] **1.28-1.20** (s.e, 14 H)

<sup>13</sup>C (δ)

[l'] **196.0** ; [l] **173.5** ; [l'] **167.46.3** ; [r] **143.9** ; [t,t'] **132.0** ; [u] **131.5** ; [s,s'] **127.5** [o] **69.1** ; [p] **66.0** ; [n] **59.4** ; [a] **37.3** ; [q] **34.43** ; [b,c,d,e,f,g,h,i,j,k,v] **30.6** ; **29.6** ; **29.56** ; **29.4** ; **29.3** ; **29.2** ; **29.1** ; **28.8** ; **25.6**

### 1.7.1.4. 12-(thioacetyl)dodecanamide N-Tris[2-((N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl) méthyl)- aminocarbonyl]éthoxy]méthyl]



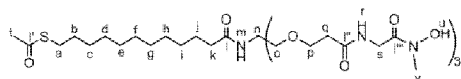
Le triester activé **21** (250 mg, 0.187 mmol) est mis en solution, sous argon, dans 20 mL de THF. On ajoute le sel d'hydroxamate **17** (244.4 mg, 1.12 mmol) préalablement solubilisé dans 20 mL de THF. Le milieu est également enrichi de triéthylamine (122 mg, 1.21 mmol).

La réaction est agitée à température ambiante et sous azote pendant 48 heures. Son avancement est vérifié par CCM (éluant : AcOEt /MeOH 9/1). Le solvant est concentré sous pression réduite. Le résidu huileux résultant est repris dans de l'acétate d'éthyle/eau (20 mL/20 mL) puis acidifié par HCl 1 N. Après séparation des deux phases, la phase organique est ensuite séchée sur MgSO<sub>4</sub> et concentrée sous pression réduite. Le produit est purifié sur gel de silice

## Partie expérimentale

(éluant : AcOEt /MeOH (9/1)) puis lavé plusieurs fois avec de l'éther diéthylique anhydre. On obtient 80 mg d'une huile orange gluante identifiée à **L6'**.

- ✓ Rendement : 50%
- ✓ Spectre de masse : (MALDI-TOF) 874.33 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :



### <sup>1</sup>H (δ)

-[u] **9.93** (s, e, 3 H)

-[r] **7.90** (s, e, 3 H)

-[m] **6.93** (s, e, 1 H)

-[h] **3.96** (d, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, 6H)

-[o,p] **3.55-3.54** (t + s, 12 H)

-[c] **3.08** (s, 6 H)

-[h] **2.80** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 6 H)

-[h] **2.36** (t, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, 6 H)

-[k] **2.30** (s, 3 H)

-[h] **2.03** (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 2H)

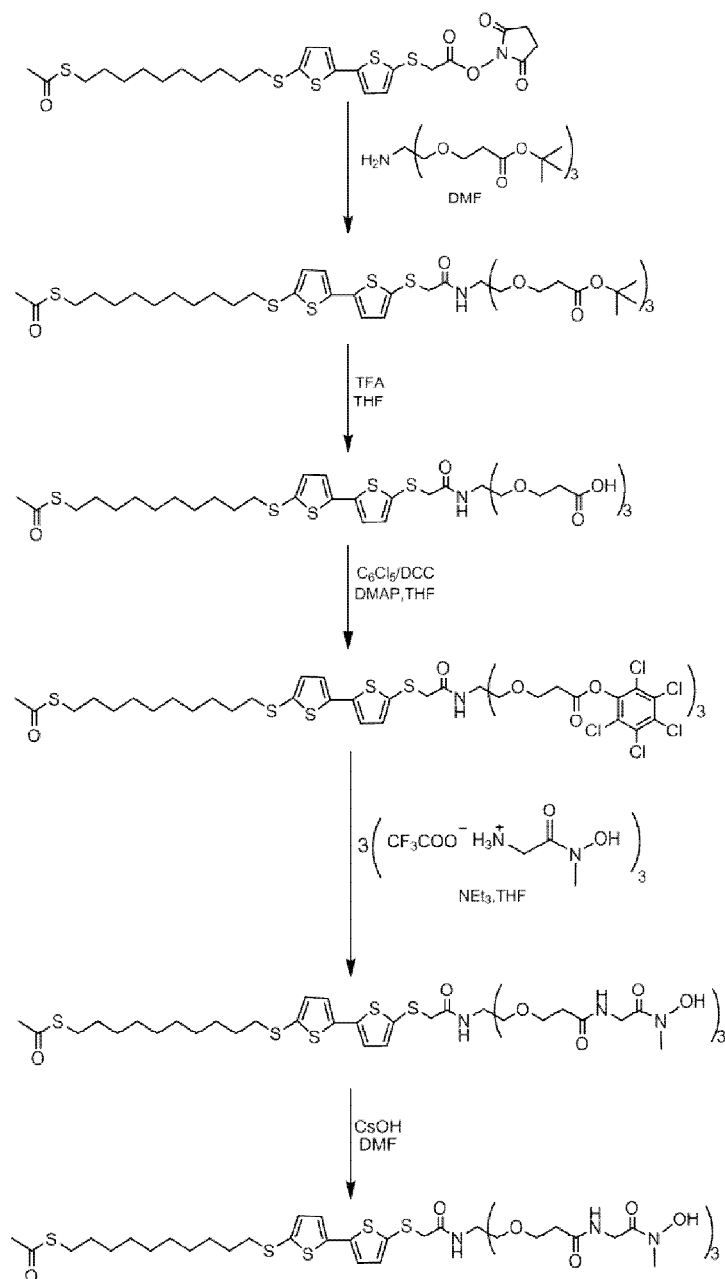
-[b] **1.47** (q, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)

-[ j] **1.41** (q, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)

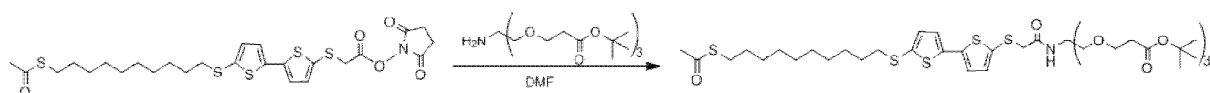
-[c,d,e,f,g,h,i] **1.31-1.21** (2m, 14 H)

### I.7.2. Synthèse du [5-(méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanyl sulfanyl)-2,2'-bithiophène]N-Tris{2[[(N-hydroxy-N-méthyl carbamoyl)méthyl]-aminocarbonyl] éthoxy)méthyl}amide

## Partie expérimentale



### I.7.2.1. [5-(méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanyl sulfanyl))-2,2'-bithiophène] N-Tris[[2-(tert-butoxycarbonyl)éthoxy]méthyl]amide

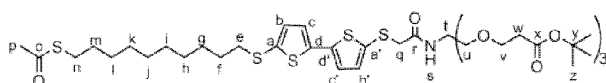


830 mg (1.38 mmol) de l'ester activé **8** est ajouté à 838 mg (1.66 mmol, 1.2 éq.) de triester *tert*-butylique **12** dans 30 mL de DMF. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Après évaporation du DMF, le mélange réactionnel est dilué dans 80 mL d'eau et extrait à l'acétate d'éthyle (3 fois 100 mL). La phase organique est

## Partie expérimentale

séchée sur  $\text{MgSO}_4$  puis le solvant est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt /EP (3/7)) pour donner 1.3 g de **21** sous forme d'une huile verte.

- ✓ Rendement : 95%
- ✓ Spectre de masse :  $(\text{ESI}^+)$  990.21 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ), 1012.34 ( $\text{M} + \text{Na}^+$ )
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :



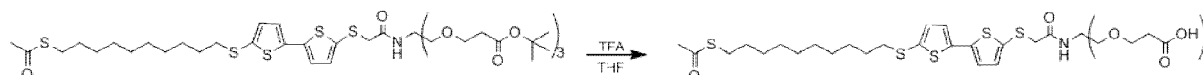
### $^1\text{H}$ ( $\delta$ )

- [y] **7.31** (s.e, 1 H)
- [b,b'] **7.17** (m, 2H)
- [c'] **7.13** (d,  $^3\text{J} = 3.5$  Hz, 1 H)
- [c] **7.10** (d,  $^3\text{J} = 3.5$  Hz, 1 H)
- [v,u,q] **3.53-3.51** (2s + t,  $^3\text{J} = 6$  Hz, 14 H)
- [n] **2.83** (t,  $^3\text{J} = 7$  Hz, 2 H)
- [e] **2.79** (t,  $^3\text{J} = 7$  Hz, 2 H)
- [w] **2.36** (t,  $^3\text{J} = 6$  Hz, 6H)
- [p] **2.30** (s, 3H)
- [m] **1.54** (qu,  $^3\text{J} = 7$  Hz, 2 H)
- [f] **1.46** (qu,  $^3\text{J} = 7$  Hz, 2H)
- [p] **1.38** (s, 27 H)
- [g,h,i,j,k,l] **1.37-1.21** (m + s.e, 14 H)

### $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ )

[o] **195.1** ; [x] **170.2** ; [r]**167.1** ; [a,b,c,d,a',b',c',d'] **139.0** ; **138.4** ; **134.5** ; **133.9** ; **133.7** ; **132.6** ; **124.4** ; **124.2** ; [y] **79.6** ; [t] **68.0** ; [v] **66.6** ; [u] **59.7** ; [q] **41.8** ; [w] **37.6** ; [e,f,g,h,i,j,k,l,m,p,z] **35.6** ; **30.4** ; **29.0** ; **28.7** ; **28.6** ; **28.38** ; **28.34** ; **28.2** ; **28.0** ; **27.6** ; **27.5**

### 1.7.2.2. [5-(Méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanyl sulfanyl))-2,2'-bithiophène] N-Tris [2-carboxyéthoxy)méthyl]amide



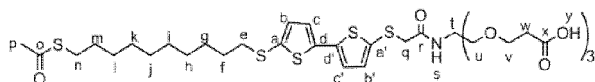
31 mL d'acide trifluoroacétique sont additionnés à une solution d'ester *tert*-butylique **21** (1.05 g, 3.18 mmol) dans 31 mL de dichlorométhane. Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le solvant est coévaporé deux fois avec du toluène. On obtient ainsi 870 g de **22** sous forme d'une huile verte.

## Partie expérimentale

- ✓ Rendement : quantitatif
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 822.18 (M + H)<sup>+</sup>, 844.17 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ SMHR ESI : C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>S + H<sup>+</sup> Calculée: 822.2125 Trouvée: 822.2138  
 C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>S + Na<sup>+</sup> Calculée: 844.1937 Trouvée: 844.1958  
 C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>S + K<sup>+</sup> Calculée: 860.1876 Trouvée: 860.1697  
 2(C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>S) + H<sup>+</sup> Calculée: 1143.4130 Trouvée: 1143.4204  
 2(C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>S) + Na<sup>+</sup> Calculée: 1165.3940 Trouvée: 1165.4024  
 2(C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub>S) + K<sup>+</sup> Calculée: 1681.3911 Trouvée: 1681.3763
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :

### <sup>1</sup>H (δ)

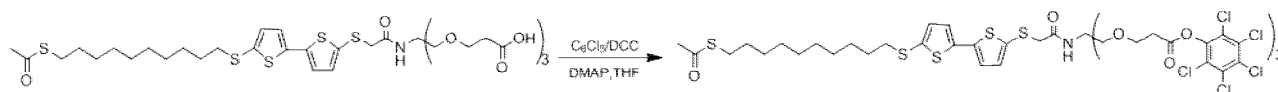
- [y] **12.18** (s.e, 3 H)
- [s] **7.31** (s, 1H)
- [b,c,b',c'] **7.18-7.09** (m, 4 H)
- [v,u,q] **3.56-3.53** (t + 2s, <sup>3</sup>J = 6 Hz, 14 H)
- [n] **2.84** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)
- [e] **2.79** (t, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)
- [w] **2.40** (t, <sup>3</sup>J = 6 Hz, 6H)
- [p] **2.3** (s, 3H)
- [m] **1.54** (qu, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2 H)
- [f] **1.46** (qu, <sup>3</sup>J = 7 Hz, 2H)
- [g,h,i,j,k,l] **1.63-1.25** (m + s.e, 14 H)



### <sup>13</sup>C (δ)

[o] **195.2** ; [x] **172.5** ; [r] **167.2** ; [a,b,c,d,a',b',c',d'] **138.9** ; **138.4** ; **134.5** ; **133.9** ; **133.8** ; **133.7** ; **124.5** ; **124.3** ; [t] **68.0** ; [v] **66.6** ; [u] **59.8** ; [q] **41.8** ; [w] **39.4** ; [e,f,g,h,i,j,k,l,m,p] **37.6** ; **35.7** ; **34.4** ; **30.5** ; **29.0** ; **28.7** ; **28.6** ; **28.3** ; **28.3** ; **28.2** ; **28.0** ; **27.5**

### 1.7.2.3. [5-(Méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'-bithiophène]N-Tris[[2-(2,3,4,5,6-pentachlorophénoxy)carbonyl]éthoxy]méthyl]amide

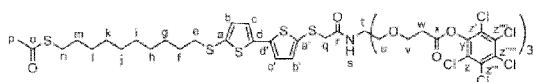


Sous atmosphère d'azote, on solubilise 300 mg (0.36mmol) de triacyde **22**, 388 mg (1.46 mmol) de pentachlorophénol et 3.57 mg (0.03 mmol) de DMAP dans 30 mL de THF. A la

## Partie expérimentale

solution obtenue, refroidie à 0°C à l'aide d'un bain de glace, on ajoute 301.24 mg (1.46 mmol) de DCC dissous dans 20 mL de THF. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 2 jours. Après filtration de la DCU formée, le solvant est évaporé puis un mélange d'acétate d'éthyle/éther de pétrole (3,5/36,5) est additionné afin d'éliminer le reste de la DCU. Le résidu obtenu, après évaporation du solvant, est filtré sur colonne d'alumine neutre (éluant : acétate d'éthyle) puis purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : AcOEt /EP (3/7)). On obtient 225 mg d'un solide vert identifié à **23**.

- ✓ Rendement : 40%
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 1587.68 (M + Na)<sup>+</sup> et bonne corrélation avec l'amas isotopique théorique
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :



### <sup>1</sup>H (δ)

-[b'] **7.09** (d, 1 H, <sup>3</sup>J = 3.9 Hz)

-[b,c,b'] **6.95-6.91** (m, 3 H)

-[s] **6.86** (s.e, 1H)

-[v] **3.84** (t, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 6 H)

-[u] **3.81** (s, 6 H)

-[q] **3.41** (s, 2 H)

-[w] **2.91** (t, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 6 H)

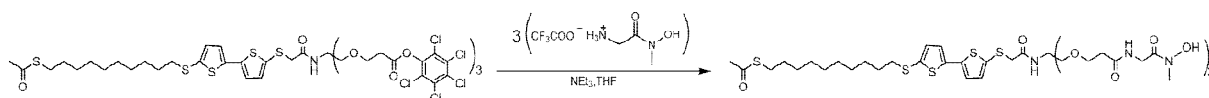
-[n] **2.85** (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2 H)

-[e] **2.78** (t, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2 H)

-[p] **2.31** (s,3H)

-[f,g,h,i,j,k,l,m] **1.63-1.25** (2m + s.e, 16 H)

### 1.7.2.4. [5-(méthylsulfanyl)-5'-(13-oxo-12-thiatétradécanylsulfanyl))-2,2'-bithiophène]N-Tris[2((N-hydroxy-N-méthylcarbamoyl)méthyl)-aminocarbonyl]éthoxy] méthyl]amide



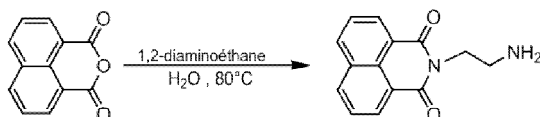
Dans un ballon tricol sous atmosphère d'azote, on solubilise 180 mg (0.115 mmol) de composé **23** dans 15 mL de THF, puis on ajoute un mélange de triéthylamine (75.9 mg, 0.75 mmol) et de sel d'hydroxamate **17** (163.63 mg, 0.75 mmol) en suspension dans 20 mL de THF.

## Partie expérimentale

Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 2 jours. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est repris à l'acétate d'éthyle/eau (20 mL/20mL) puis acidifié par HCl 1N. Après séparation des deux phases, la phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub> puis concentrée. Le produit est purifié sur gel de silice (éluant : AcOEt /MeOH (9/1)) puis lavé plusieurs fois avec éther diéthylique anhydre. On obtient 20 mg d'une huile verte collante identifiée à **24**.

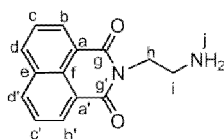
- ✓ Rendement : 30%
- ✓ Spectre de masse : (ESI<sup>+</sup>) 1102.35 (M + Na)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN (DMSO) :

### 1.8. N-(2-aminoéthyl)-1,8-naphthalimide



A une solution d'éthylènediamine (11.1 mL, 0.17 mmol) dans 60 mL d'eau chauffée préalablement à 70°C, on ajoute goutte à goutte et sous agitation vigoureuse, une suspension de 5 g (27.8 mmol) d'anhydride 1,8-naphthalique dans 25 mL d'eau. La solution est ensuite maintenue à 80°C et sous forte agitation pendant 10 min. Le précipité apparu au cours de la réaction (qui correspond au produit di-substitué par deux unités de naphthalimide) est éliminé par filtration à chaud. Après retour du filtrat à température ambiante, on observe l'apparition d'un précipité jaune pâle. Après filtration, on obtient 4.50 g du composé **25** sous forme d'une poudre jaune pâle.

- ✓ Rendement : 75%
- ✓ Spectre de masse : (MALDI-TOF) : 241 (M + H)<sup>+</sup>
- ✓ Analyse RMN (CDCl<sub>3</sub>) :

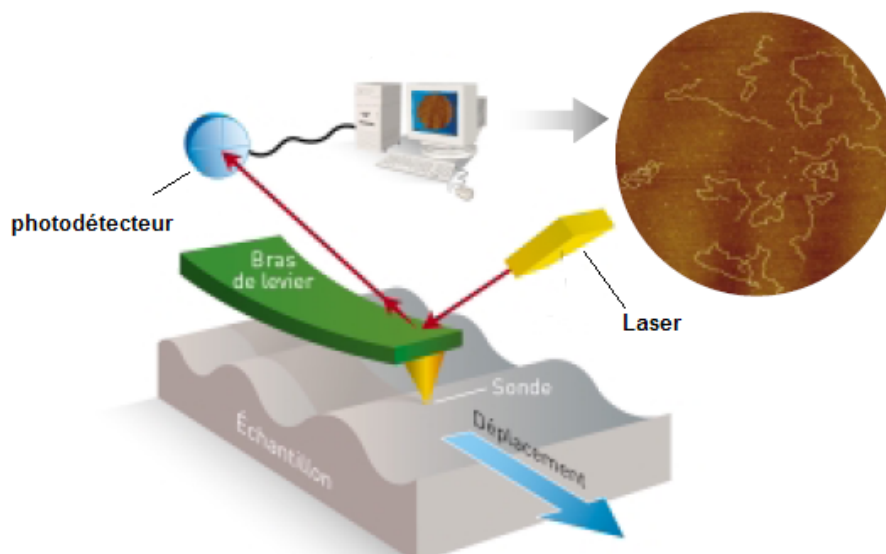


<sup>1</sup> H (δ)	<sup>13</sup> C (δ)
-[b] <b>8.60</b> (d, <sup>3</sup> J = 7.3 Hz, 2 H)	-[g,g'] <b>164.3</b>
-[d] <b>8.21</b> (d, <sup>3</sup> J = 8.2 Hz, 2 H)	-[a] <b>134.1</b>
-[c] <b>7.75</b> (t, <sup>3</sup> J = 7.8 Hz, 2H)	-[f] <b>131.7</b>
-[h] <b>4.28</b> (t, <sup>3</sup> J = 6.6 Hz, 2H)	-[b] <b>128.6</b>
-[i] <b>3.07</b> (t, <sup>3</sup> J = 6.6 Hz, 2H)	-[e] <b>127.2</b>
	-[d] <b>122.9</b>



### I.9. Microscopie à force atomique (AFM : Atomic Force Microscopy) :

Les microscopies à champ proche ou à sondes locales ont été mises au point au cours des années 80 dans les laboratoires d'IBM (Zürich). En 1981, le microscope à effet tunnel a été inventé par Binnig et Rohrer<sup>257</sup>. Le microscope à force atomique a vu le jour en 1986, grâce à Binnig, Quate et Gerber<sup>258</sup>. Cette technique permet d'étudier des échantillons de toute nature (conducteur, semi-conducteur ou isolant) dans des environnements multiples (air, vide, liquide, électrochimique...) avec une très haute résolution (résolution atomique). De nombreuses applications d'AFM sont connues, telles que l'étude des SAMs, l'imagerie cellulaire, l'étude d'interactions entre des protéines et des surfaces, l'imagerie de nouvelles structures de polymères<sup>259</sup>.



**Figure VI.1** : Description schématique du principe de fonctionnement de l'AFM.

Le principe de l'AFM consiste à mesurer les différentes forces d'interaction entre une pointe idéalement fixée à l'extrémité d'un bras de levier et les atomes de la surface d'un matériau (forces de répulsion ionique, forces de Van der Waals, forces électrostatiques, forces de friction, forces magnétiques...). La surface à étudier est balayée par une pointe dont l'extrémité a un rayon de quelques nm, soit au contact, soit à une distance de quelques Å. Cette pointe, généralement en nitrure de silicium Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> ou en silicium cristallin, se situe à

<sup>257</sup> Binnig, G. ; Rohrer, H. ; Gerber, C. ; Weibel, E., *Phys. Rev. Lett.*, **1982**, 49, 57-61.

<sup>258</sup> Binnig, E. ; Quate, C. F. ; Gerber, C., *Phys. Rev. Lett.*, **1986**, 56, 1930-1933.

<sup>259</sup> Kaijyama, T. ; Tanaka, K. ; Ge, S. R. ; Takahara, A., *Progr. Surf. Sci.*, **1996**, 52, 1.

l'extrémité d'un levier flexible (*Figure VI.1*). Ce levier est assimilable à un ressort de faible raideur. Le système pointe/levier est mis en contact avec l'échantillon, posé sur la céramique piézo-électrique. Les déplacements en  $x$ ,  $y$  et  $z$  se font grâce à la céramique piézo-électrique.

À l'approche de la surface, la pointe est attirée par le substrat (expérimentalement, il est donc important de s'assurer de la propreté de la pointe). L'énergie d'interaction entre la pointe et la surface, due essentiellement aux interactions de Van der Waals, détermine l'approche et l'équilibre pointe/surface. On effectue un balayage dans le plan  $(x,y)$  : la rugosité du substrat entraîne des mouvements du levier, enregistrés par un système optique. Un faisceau laser se réfléchit dans un miroir d'or, avant d'atteindre des photodiodes reliées à un ordinateur.

Plusieurs modes permettent de visualiser la topographie de la surface, dont les plus couramment utilisés sont :

- Le mode contact : les principales forces d'interaction entre la pointe et la surface sont des forces répulsives de très courte portée (quelques nm au maximum), c'est dans ce mode qu'est obtenue la résolution atomique. En mode contact, le mode hauteur (ou force constante) est le plus utilisé. Le mode contact donne les informations en topographie, de l'adhésion, de l'élasticité et des forces de friction de l'échantillon.
- Le mode « tapping » ou mode contact intermittent : le levier oscille à la surface de l'échantillon à une fréquence proche de sa fréquence de résonance et l'amplitude d'oscillation est choisie suffisamment élevée (typiquement supérieure à 20 nm). La pointe ne vient que périodiquement en contact avec la surface de l'échantillon et les forces de friction sont ainsi évitées.
- Le mode non-contact : la pointe oscille et ne touche pas la surface.

## Résumé

Les sidérophores sont des complexants naturels du fer(III), synthétisés et sécrétés par les microorganismes pour s'approvisionner en fer. Chez les bactéries et certaines levures, les sidérophores peuvent être activement transportés à travers la membrane cellulaire *via* des récepteurs et des protéines de transport à haute activité et spécificité.

La synthèse d'un analogue du ferrichrome (sidérophore trihydroxamate) a été récemment décrite au laboratoire<sup>1</sup> et permis de mettre en évidence le transport actif de ce type de sidérophore chez *C. albicans*.

Dans ce contexte, nous avons entrepris d'élaborer des électrodes ou surfaces d'or fonctionnalisées par un sidérophore, et mettant en jeu des monocouches auto-assemblées, dans le but de développer des dispositifs moléculaires pour des applications potentielles en milieu biologique.

Un de ces objectifs est d'élaborer un capteur du fer (III) muni d'une détection simple et en temps réel de type électrochimique. D'un point de vue médical, la demande de la part des industries du diagnostic pour commercialiser des capteurs jetables du fer (III) est importante : la finalité étant de doter d'un dispositif mobile pour diagnostiquer un excès ou une carence en fer chez un patient. Actuellement, ce dosage se fait en laboratoire par des techniques colorimétriques non transportables et peu fiables. Par rapport aux méthodes optiques, les systèmes électrochimiques faisant appel aux monocouches auto-assemblées sur surface d'or<sup>2</sup> présentent un certain nombre d'avantages tel que la facilité de mise en œuvre, la rapidité, le faible coût des systèmes finis.

Dans ce contexte, ce travail s'articule autour deux axes : la synthèse et l'étude physico-chimique des complexes de fer(III)-sidérophore. Dans cette étude, les ligands sont associés à différentes unités électroactives afin de les fixés à la surface de transducteurs physiques.

Notre travail de recherche s'est donc développé selon trois étapes :

- Le développement d'une ingénierie moléculaire pour synthétiser de nouveaux sidérophores immobilisables ayant des exigences stériques particulières
- L'analyse du comportement et/ou de la structure de ces complexes en solution, à partir des mesures de l'UV-Visible et la voltampérométrie cyclique
- L'élaboration et caractérisation les matériaux d'électrode par des techniques électrochimiques et piézoélectriques.

Au cours de ce travail, nous avons tout d'abord synthétisé deux séries de sidérophores sur lesquels plusieurs substituant ont été greffés. Dans un premier temps, les premières synthèses ont été réalisées par couplage peptidique de la desferrioxamine B à différents esters activés pour obtenir des analogues de la desferrioxamine B dont les propriétés optiques et électrochimiques sont différentes. Dans un deuxième temps, nous avons mis au point une méthode de synthèse qui a permis d'accéder à deux analogues du ferrichrome immobilisables fonctionnalisés par une sonde bithiophénique et une chaîne alcanethiol. Ensuite, les propriétés optiques et électrochimiques des ligands obtenus ont été caractérisées et comparées en présence du Fe(III). Enfin, nous avons réalisé une étude préliminaire d'élaboration de monocouche auto-assemblée pour mettre au point les conditions de la post-fonctionnalisation.

**Mots clés :** sidérophore, thiols, fer ferrique, monocouches auto-assemblées, chimie organique, électrochimie, complexation, reconnaissance.

---

<sup>1</sup> Ouchetto, H., Dias, M., Mornet, R., Lesuisse, E., & Camadro, J.-M. (2005). *Bioorg. Med. Chem.* , 1799.

<sup>2</sup> Nuzzo, R. G., & Allara, D. L. (1983). *J. Am. Chem Soc.* , 4481.