UNIVERSITE DE
REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

THESE DE DOCTORAT

présentée par

Abir EL MAJZOUB EL SABAGH

En vue d'obtenir le grade de

Docteur en Sciences
de l'Université de Reims Champagne-Ardenne
Spécialité : CHIMIE

Evaluation de ligands tétraazamacrocycliques porteurs du groupement benzimidazole pour le dosage de cations

Soutenance prévue le 3 décembre 2008 devant la commission d'examen :

M. Bernard HENRY, Professeur, Université de Nancy	Rapporteur
M. Claude PICARD, Directeur de Recherche CNRS, Université de Toulouse	Rapporteur
Mme Chantal LARPENT, Professeur, Université de Versailles	Présidente
M. Cyril CADIOU, Maître de conférences, Université de Reims	Examinateur
M. Emmanuel GUILLON, Professeur, Université de Reims	Examinateur
Mme Françoise CHUBURU, Professeur, Université de Reims	Directrice de Thèse

REMERCIMENTS

La thèse est à la fois une expérience personnelle et un travail collectif qui fait intervenir de nombreux "soutiens". Aujourd'hui arrivée à la fin de cette aventure, je vais remercier en tâchant de n'oublier personne - les différens personnes qui ont contribué à la réussite et au bon déroulement de ces travaux.

Tout d'abord, je tiens à remercier le ministère de la recherche de la France pour le financement de mes études.

Je remercie, Monsieur Claude Picard, Monsieur Bernard Henry et Madame Chantal Larpant pour avoir accepté d'être membres de jury et de juger mon travail.

Pour commencer les remerciements des personnes avec lesquelles j'ai passé trois agréables années, je tiens à remercier vivement mes directeurs de thèse (mes chefs comme j'aime toujours les appeler), Françoise Chuburu et Cyril Cadiou. Mes chefs je vous remercie de tout mon cœur pour votre aide, vos conseils scientifiques et pédagogiques et pour votre soutien moral qui ont été à la base de la réussite de ce travail. Je resterai reconnaissante pour ce que vous m'avez offert comme expérience et formation. Je profite aussi pour remercier Isabelle Déchants-Olivier pour sa participation à la réalisation d'une bonne partie de ce travail et aussi pour tous ses conseils scientifiques et personnels.

Je remercie également Monsieur Michel Aplincourt qui était, grâce à ces conseils, son soutien et son inquiétude pour notre avenir, pas seulement un directeur de laboratoire mais aussi une personne qui a dans ses regards la tendresse d'un père.

Je remercie aussi Jean Claude Pierrard et Jean Rimbault pour leurs explications dans les études fluorimétriques sans oublier leurs précieux conseils en informatique.

Je n'oublie pas de remercier tous les autres membres de laboratoire (Emmanuel Guillon, Laurent Dupont, Gilles Lemercier Amminou Mouhamadou, Stéphanie Sayen, Stéphanie Boudesocque, Juliette moreau)**,** thésards (Anas, Sylvain, et Thomas) et techniciens Bernadette et José pour les agréables moments qu'on a passés ensemble.

Merci pour toutes les personnes de L'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (ICMR) qui ont aidé à réaliser certaines études : Eric Henon pour les calculs théoriques, Dominique Harakat pour la spectrométrie de masse, Henry Baillia, Agathe martinez et Jean Luc Vasse pour la spectroscopie RMN.

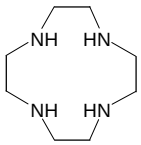
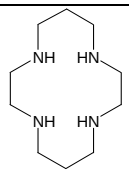
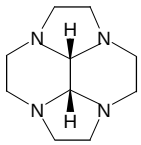
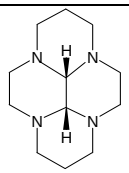
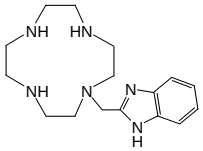
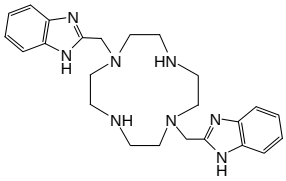
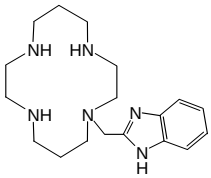
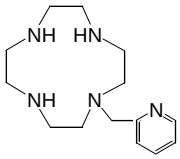
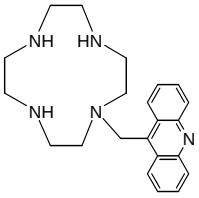
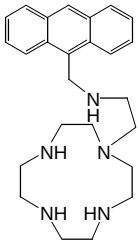
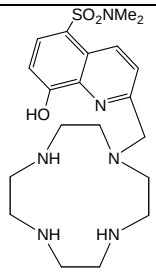
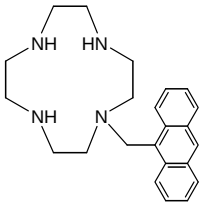
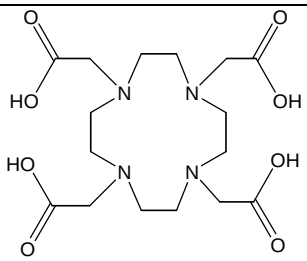
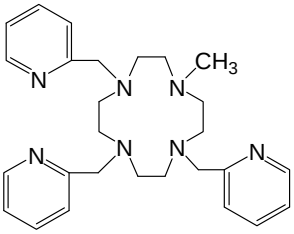
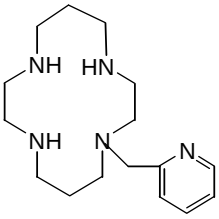
Achwak, Ziad et Sana et tous mes autres amis, je ne vous ai pas oubliés, je vous remercie pour votre amitié, et votre soutien. Je n'oublierai jamais les belles journées qu'on a passées ensemble toutes les blagues et les plaisanteries qu'on a racontés, toutes les sorties qu'on a

organisées,… vous étiez toujours à côté de moi pour le meilleur et pour le pire. Je ne trouverai jamais des amis ou comme vous. Merci pour mes amies Nada et Maysaa qui m'ont soutenue depuis le Liban.

Toujours présentes pour m'encourager malgré la distance, je tiens particulièrement à remercier mes sœurs Manaf, Safaa et bien sûr la plus petite Farah. Je pense également à ma grand-mère, mes oncles, tantes, cousin(e)s qui m'ont chacun soutenue à leur manière. Enfin, la liste ne serait pas complète si j'omettais ceux qui sont un peu à l'origine de tout ça, mes parents! Merci pour vos conseils, votre présence à mes côtés et bien plus encore.

GLOSSAIRE

Les ligands étudiés dans le travail sont rassemblés dans le tableau ci-dessous :

 cyclen	 cyclam	 cyclen-glyoxal	 cyclam-glyoxal
 cyclen-méthylbenzimidazole **L^1H**	 cyclen-1.7-diméthylbenzimidazole **L^2H_2**	 cyclam-méthylbenzimidazole **L^3H**	 cyclen-méthylpyridine **L^4**
 cyclen-méthylacridine **L^5**	 Cyclen_ éthyl(anthrylméthylamine**)** **L^6**	 cyclen-2-(8-hydroxy-5-N,N-dimethylaminosulfonylquinoline **L^7**	 Cyclen-Méthylanthracène **L^8**
 DOTA **L^9**	 Cyclen-méthyl-triméthylpyridine **L^{10}**	 cyclam-méthylpyridine **L^{11}**	

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE p 8

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES p 11

A - PROPRIETES COMPLEXANTES DES TETRAAZAMACROCYCLES p 13

1. Complexation des tétraazamacrocycles par les ions de métaux de transition p 13

2. Cinétique de formation des complexes p 29

B - SONDES FLUORESCENTES DE CATIONS p 30

1. Transitions radiatives et non radiatives entre états électroniques p 31

2. Principales classes de sondes fluorescentes p 38

3. Principales sondes fluorescentes pour la détection et le dosage du zinc p 50

Références bibliographiques p 65

CHAPITRE II : SYNTHESE, ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DU LIGAND CYCLEN-METHYLBENZIMIDAZOLE (L^1H) ET DE SES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE(II) ET CADMIUM(II) p 72

A- SYNTHESE ET ETUDE DES PROPRIETES ACIDO-BASIQUES DU CYCLEN – METHYLBENZIMIDAZOLE L^1H p 73

1. Synthèse de L^1H p 73

2. Etude potentiométrique du ligand L^1H p 74

2.1 Allure des courbes expérimentales de neutralisation p 74

2.2 Détermination des constantes de protonation de **L^1**H p 76

3. Suivi de la protonation du ligand L^1H par spectroscopie UV et par spectroscopie RMN ^1H p 80

3.1 Suivi de la protonation du ligand **L^1**H par spectroscopie UV p 80

3.2 Suivi de la protonation du ligand **L^1**H par RMN p 81

4. Modélisation moléculaire de la séquence de protonation du ligand L^1H p 83

B– SYNTHESE, CARACTERISATION ET ETUDE DES PROPRIETES ELECTRONIQUES DES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE(II) ET CADMIUM(II) DU LIGAND L^1H p 86

B.1 - Complexes de zinc(II) p 86

1. Synthèse et caractérisation des complexes $[ZnL^1H](NO_3)_2$ et $[ZnL^1H](ClO_4)_2$ p 86

1.1 Synthèse des complexes de Zn(II) avec le ligand $\mathbf{L^1}H$ p 86

1.2 Caractérisation du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ par diffraction de rayons X et RMN ^{13}C p 86

2. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de zinc(II) avec L^1H p 90

2.1 Etude potentiométrique p 90

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes de Zn(II) avec $\mathbf{L^1}H$ p 91

3. Etude des propriétés acido-basiques des complexes de Zn(II) de L^1H par spectroscopies UV et RMN ^1H p 96

3.1 Etude des propriétés acido-basiques par spectroscopie UV p 96

3.2 Etude des propriétés acido-basiques par RMN ^1H p 97

B.2-Complexes de cuivre(II) p 99

1. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de Cu(II) avec le ligand L^1H p 99

1.1 Dosage de solutions Cu(II)-$\mathbf{L^1}H$ p 99

1.2 Stabilité thermodynamique des complexes p 101

2. Synthèse et caractérisation du complexe $[CuL^1H](BF_4)_2$ p 104

2.1 Synthèse du complexe de Cu(II) avec le ligand $\mathbf{L^1}H$ p 104

2.2 Caractérisation cristallographique du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ par diffraction des RX, par spectroscopie visible et RPE p 104

2.3 Caractérisation du complexes $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ par spectroscopie visible et spectroscopie RPE p 106

2.4 Evolution de la sphère de coordination de Cu(II) dans le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ en fonction du pH p 108

B.3-Complexes de Cd(II) p 110

1. Synthèse et caractérisation des complexes $[CdL^1H]^{2+}$ p 110

1.1 Synthèse des complexes de Cd(II) avec le ligand $\mathbf{L^1}H$ p 110

1.2 Caractérisation des complexes $[CdL^1H]^{2+}$ par RMN ^{13}C p 110

2. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de Cd(II) avec le ligand L^1H p 111

2.1 Etude potentiométrique de complexe du cadmium p 111

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes de Cd(II) avec $\mathbf{L^1}H$ p 112

3. Evaluation de la sphère de coordination de Cd(II) dans le complexe $[CdL^1H]^{2+}$ en fonction du pH p 114

C-DOSAGES DE Zn^{2+}, Cu^{2+} ET Cd^{2+} PAR LE LIGAND L^1H EN SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE ET SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE p 116

1. Dosages de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par L^1H en spectroscopie UV-Visible p 117

2. Réponse fluorimétrique de L^1H en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} p 118

2.1 Etude du comportement fluorescent de $\mathbf{L^1}H$ en fonction du pH p 118

2.2 Comportement fluorimétrique de $\mathbf{L^1}H$ en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} p 121

a- Etude préliminaire - Fluorescence de complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ en fonction du pH p 121

b- Variation de la fluorescence de $\mathbf{L^1}H$ en présence de Zn^{2+} p 123

c- Variation de la fluorescence de $\mathbf{L^1}H$ en présence de Cu^{2+} p 125

d- Variation de la fluorescence de $\mathbf{L^1}H$ en présence de Cd^{2+} p 125

3. Test de sélectivité du ligand L^1H vis-à-vis des cations d'intérêt biologique p 126

D - EN CONCLUSION p 127

Références bibliographiques p 129

Partie expérimentale p 133

Chapitre III : SYNTHESE, ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DU LIGAND CYCLEN-DIMETHYLBENZIMIDAZOLE (L^2H_2) ET DE SES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE (II) ET CADMIUM (II) p 144

A- SYNTHESE ET CARACTERISATION DU LIGAND L^2H_2 ET DE SES COMPLEXES DE Zn(II), Cu(II) ET Cd(II) p 145

1. Synthèse et caractérisation du ligand cyclen-diméthylbenzimidazole L^2H_2 p 145

2. Synthèse et caractérisation des complexes de L^2H_2 p 146

2.1 Synthèse des complexes de zinc (II), cuivre(II) et cadmium(II) de $\mathbf{L^2}H_2$ p 146

2.2 Caractérisation des complexes de $\mathbf{L^2}H_2$ p 146

2.2.1 Caractérisation et modélisation du complexe de zinc(II) p 146

2.2.2 Caractérisation de complexe de cuivre (II) p 150

2.2.3 Caractérisation de complexe de cadmium (II) p 153

B- ETUDE DU COMPORTEMENT SPECTROSCOPIQUE UV-VISIBLE ET FLUORIMETRIQUE DE L^2H_2 EN PRESENCE DES CATIONS Zn^{2+} Cu^{2+} ET Cd^{2+} DANS L'ACETONITRILE – COMPARAISON AVEC LE COMPORTEMENT DE L^1H p 154

1. Etude spectroscopique UV-Visible p 155

1.1 Etude spectroscopique des ligands $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^2}H_2$dans l'acétonitrile en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} p 155

1.2 Titrages spectroscopiques UV-Visible des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ dans l'acétonitrile en présence des cations Zn^{2+} et Cu^{2+} et Cd^{2+} p 156

2. Etude fluorimétrique des ligands L^2H_2 et L^1H et de leurs complexes de zinc, de cuivre et de cadmium dans l'acétonitrile p 158

2.1 Etude fluorimétrique des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ p 158

2.2 Etude fluorimétrique des ligands $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} p 159

a- En présence de Zn^{2+} p 159

b- En présence de Cu^{2+} p 162

c- En présence de Cd^{2+} p 163

2.3 Test de sélectivité dans l'acétonitrile pour les ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ p 164

C- EN CONCLUSION p 165

Références bibliographiques p 167

Partie expérimentale p 168

CHAPITRE IV : SYNTHESE ET ETUDE PHYSICOCHIMIQUE DU LIGAND CYCLAM-METHYLBENZIMIDAZOLE (L^3H) ET DE SES COMPLEXES DE ZINC (II), CUIVRE (II) ET CADMIUM (II) p 174

A–SYNTHESE ET ETUDE DES PROPRIETES ACIDO-BASIQUES DU CYCLAM-METHYLBENZIMIDAZOLE L^3H p 175

1. Synthèse du ligand cyclam-méthylbenzimidazole L^3H p 175

2. Etude des propriétés acido-basiques de ligand L^3H p 176

2.1 Courbes de neutralisation expérimentales p 176

2.2 Courbes de neutralisation calculées et détermination des constantes de protonation p 177

3. Suivi de la protonation du ligand L^3H par spectroscopies UV et par spectroscopie RMN ^1H p 180

3.1 Suivi de la protonation du ligand $\mathbf{L^3}H$ par RMN ^1H p 180

3.2 Suivi de la protonation du ligand **L**^{3}H par spectroscopie UV p 181

B–SYNTHESE, CARACTERISATION ET ETUDE DES PROPRIETES ELECTRONIQUES DES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE(II) ET CADMIUM(II) DU LIGAND L^{3}H p 184

B.1- Complexes de zinc(II) et de cadmium(II) p 184

1. Synthèse et caractérisation des complexes de zinc(II) et de cadmium(II) du ligand L^{3}H p 184

1.1 Synthèse des complexes [Zn**L**^{3}H]$(X)_2$ et [Cd**L**^{3}H]$(X)_2$ (X = NO_3^-, ClO_4^-) p 184

1.2 Caractérisation des complexes par RMN et diffraction des RX p 184

2. Etude de la stabilité thermodynamique des systèmes {Zn(II) – L^{3}H} et {Cd(II) – L^{3}H} p 188

2.1 Dosage potentiométrique des complexes de Zn(II) et de Cd(II) de **L**^{3}H p 188

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes Zn(II) et Cd(II) de **L**^{3}H p 189

3. Etude des propriétés acido-basiques des complexes de zinc(II) et de cadmium(II) par spectroscopie UV et par RMN ^{1}H p 191

3.1 Etude des propriétés acido-basiques de [M**L**^{3}H]$^{2+}$ par spectroscopie UV p 191

3.2 Etude des propriétés acido-basiques de [M**L**^{3}H]$^{2+}$ par spectroscopie RMN ^{1}H p 193

3.2.1 Spectroscopie RMN ^{1}H de [Zn**L**^{3}H]$^{2+}$ en fonction du pH p 193

3.2.2 Spectroscopie RMN ^{1}H de [Cd**L**^{3}H]$(NO_3)_2$ en fonction du pH p 195

B.2 - Complexes de cuivre(II) p 197

1. Synthèse et caractérisation de complexe [CuL^{3}H]$(BF_4)_2$ p 197

1.1 Synthèse du complexe de Cu(II) avec le ligand **L**^{3}H p 197

1.2 Caractérisation du complexes [Cu**L**^{3}H]$(BF_4)_2$ par cristallographie par spectroscopie visible et par RPE p 197

2. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de Cu(II) avec le ligand L^{3}H p 200

2.1 Dosage de solutions Cu(II) – **L**^{3}H p 200

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes de Cu(II) de **L**^{3}H p 203

3. Etudes spectroscopiques des complexes de Cu^{2+} avec L^{3}H p 206

3.1 Etude spectroscopique UV-Visible du complexe [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$ en fonction du pH p 206

3.2 Etude spectroscopique RPE du complexe [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$ en fonction du pH p 208

C- DOSAGE DE Zn^{2+}, Cu^{2+} ET Cd^{2+} PAR LE LIGAND L^{3}H EN SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE ET SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE p 209

1. Dosage de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par L^{3}H en spectroscopie UV-Visible p 209

1.1 Dosage de Zn^{2+} et Cd^{2+} par **L**^{3}H en spectroscopie UV p 209

1.2 Dosage de Cu^{2+} par $\mathbf{L^3}H$ par spectroscopie visible p 210

2. Dosage de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par L^3H en spectroscopie de fluorescence p 211

2.1 Etude du comportement fluorescent de $\mathbf{L^3}H$ en fonction du pH p 211

2.2 Comportement fluorimétrique de $\mathbf{L^3}H$ en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} p 212

a- Etude préliminaire - Fluorescence des complexes $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$, $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L^3}H]^{2+}$ en fonction du pH p 212

b- Variation de la fluorescence de $\mathbf{L^3}H$ en présence de Zn^{2+} et Cd^{2+} p 213

3. Test de sélectivité du ligand L^3H vis-à-vis des cations interférants p 215

D – EN CONCLUSION p 215

Références bibliographiques p 217

Partie expérimentale p 219

CONCLUSION GENERALE p 228

ANNEXE I : Techniques utilisées p 231

ANNEXE II : Données cristallographiques p 243

ANNEXE III : Le cuivre et le cadmium en milieu biologique p 250

INTRODUCTION GENERALE

L'intérêt porté depuis de nombreuses années aux ligands tétraazamacrocycliques réside sans aucun doute dans leurs remarquables capacités complexantes. Ces capacités se manifestent dans les complexes, par une stabilité thermodynamique importante mais aussi par une stabilité cinétique vis-à-vis de la démétallation.

Si la possibilité de modifier ces ligands par fonctionnalisation n'avait pas été facilitée par la mise en œuvre de stratégies de synthèse performantes[1], cet intérêt n'aurait sans doute pas été aussi soutenu. Cela a permis de développer la chimie de ces composés et d'envisager pour les complexes correspondants des applications allant du diagnostic médical à l'électronique moléculaire.

Ainsi, des macrocycles fonctionnalisés ont été conçus pour transporter des radioisotopes, comme par exemple le ^{64}Cu, au voisinage de tissus tumoraux pour les visualiser [2]. De même, des ligands polyaminocarboxylates macrocycliques mis au point pour complexer le gadolinium sont utilisés comme agents de contraste en imagerie médicale [3].

La modification des tétrazamacrocycles usuels par des sondes fluorescentes constitue aussi un volet intéressant dans l'étude des propriétés complexantes de ces ligands puisque les sondes peuvent alors signaler l'évènement de complexation. Etant donné l'affinité des ligands tétraazamacrocycliques vis-à-vis des ions de la première série de transition, il est ainsi possible de développer des capteurs spécifiques pour ces ions dont certains sont importants d'un point de vue biologique (en particulier Zn^{2+}). Dans ce cas, la cavité macrocyclique est alors capable de discriminer ces cations par rapport aux alcalins et alcalino-terreux d'où leur intérêt. Même si notre objectif immédiat n'est pas le développement de sondes tétraazamacrocycliques fluorescentes dédiées au milieu biologique, nous avons au cours de ce travail utilisé les propriétés photophysiques de la sonde méthylbenzimidazole pour détecter de façon sélective le Cu^{2+} et le Zn^{2+}.

Aussi, après avoir rappelé dans le premier chapitre du manuscrit, les principaux facteurs influençant les propriétés complexantes des tétraazamacrocycles ainsi que le principe de fonctionnement de sondes fluorescentes de cations, nous évoquerons dans le second chapitre, les propriétés complexantes ainsi que le comportement photophysique de ce ligand vis-à-vis du Cu^{2+} et du Zn^{2+} en milieu aqueux. Nous montrerons que ce ligand peut détecter sélectivement le Zn^{2+} parmi un pool de cations compétiteurs.

Cette étude est prolongée dans le troisième chapitre par l'étude du comportement photophysique de ce ligand ainsi que de son homologue dialkylé en milieu organique vis-à-vis des mêmes cations métalliques.

Dans un quatrième chapitre nous évaluerons les propriétés du cyclam-méthylbenzimidazole en terme de détection de cations métalliques. Nous montrerons que la modification de la cavité macrocyclique modifie le comportement acido-basique de ce ligand par rapport au cyclen-méthylbenzimidazole ce qui induit, dans les mêmes conditions, une meilleure détection du Zn^{2+}.

Références bibliographiques

[1] a) F. Boschetti, F. Denat, E. Espinosa, A. Tabard, Y. Dory, R. Guilard, *J. Org. Chem.*, **2005**, *70*, 7042. b) M. Le Baccon, F. Chuburu, L. Toupet, H. Handel, M. Soibinet, I. Déchamps-Olivier, J. P. Barbier, M. Aplincourt, *New J. Chem.*, **2001**, *25*, 1168. c) F. Denat, S. Brandès, R. Guilard, *Synlett*, **2000**, *5*, 561. d) H. Fensterbank, J. Zhu, D. Riou, C. Larpent, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*., **1999,** 811. e) B. Gaudinet-Hamann, J. Zhu , H. Fensterbank , C. Larpent, *Tetrahedron Lett.*, **1999,** *40*, 287. f) N. Oget, F. Chuburu, J. J. Yaouanc, H. Handel, *Tetrahedron*, **1996**, 2995. g) V. Patinec, J. J. Yaouanc, J. C. Clément, H. Handel, H. des Abbayes, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 79. h) H. Bernard, J. J. Yaouanc, J. C. Clément, H. des Abbayes, H. Handel, *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *32*, 639. i) A. Filali, J. J. Yaouanc, H. Handel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, *30*, 560.

[2] C. J. Anderson, M. J. Welch, *Chem. Rev.*, **1999**, *99*, 2219.

[3] A. E. Merbach, E. Tóth (Eds), The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging, Wiley, Chichester, **2001**.

CHAPITRE I

Rappels bibliographiques

Le développement de la chimie des coordinats macrocycliques repose sur la prise de conscience de l'aptitude de ces structures polydentées à produire des agents complexants efficaces et sélectifs. Par exemple, les polyéthers cycliques de type éther couronne développés par Pedersen [1] complexent les alcalins de façon privilégiée. Les ligands macrocycliques polyazotés complexent plus efficacement les ions de métaux de transition, l'un des premiers ligands utilisés à cet effet étant le cyclam.[2,3] Les capacités complexantes peuvent être améliorées quantitativement et qualitativement si la structure bidimensionnelle précédente est remplacée par une structure tridimensionnelle comme dans les cryptants.[4]

Ces propriétés de complexation auraient certainement été moins étudiées si des équipes de chercheurs ne s'étaient penchées sur les méthodes d'obtention de ces structures cycliques. Le problème clé de la synthèse d'un macrocycle, quelle que soit la nature des produits de départ, est presque toujours l'étape de cyclisation. Dans le cas de ligands polyazotés, l'une des premières techniques développées[5] consiste à utiliser l'effet de gabarit exercé par un cation métallique sur des éléments structuraux choisis (de type diamine et cétone) pour améliorer les rendements de cyclisation.

Au cours de cette partie bibliographique, notre propos n'est pas de décrire la synthèse de ces coordinats ou leur modification par fonctionnalisation. Parmi l'ensemble des travaux sur le sujet, plusieurs mises au point peuvent être consultées avec profit.[6]

Notre objectif est de porter l'accent sur les propriétés complexantes des tétraazamacrocycles vis-à-vis des ions 3d et de montrer comment ces ligands peuvent être utilisés pour détecter des cations métalliques à faible concentration. Ce chapitre bibliographique est donc articulé autour de ces deux aspects. Ainsi :

- la première partie du chapitre bibliographique sera consacrée à l'étude des différents facteurs influençant les propriétés complexantes des tétraazamacrocycles avec les métaux de transition.

- dans la deuxième partie, nous rappellerons le fonctionnement de sondes fluorescentes de cations. Nous porterons l'accent sur les principales sondes fluorescentes développées pour la détection et le dosage du Zn^{2+} ; nous détaillerons en particulier, les performances de sondes macrocycliques mises au point pour la détection sélective de ce cation.

A - PROPRIETES COMPLEXANTES DES TETRAAZAMACROCYCLES

1. Complexation des tétraazamacrocycles par les ions de métaux de transition

Depuis les travaux pionniers de B. Bosnich[7] sur la caractérisation des complexes de [Ni(**cyclam**)]$^{2+}$, l'étude des propriétés des complexes de polyamines cycliques avec les ions de métaux de transition s'est considérablement développée. Les principales caractéristiques physicochimiques auxquelles répondent ces ligands, et qui contribuent à leur succès en terme de complexation, sont les suivantes :

- la première concerne la bonne adéquation entre les exigences électroniques des métaux et le caractère donneur des hétéroatomes du macrocycle,
- la seconde concerne la grande stabilité thermodynamique des complexes macrocycliques (comparée à celle déterminée pour les analogues linéaires),
- la troisième concerne la stabilité cinétique de ces complexes vis-à-vis de la démétallation,

Ces points vont maintenant être successivement analysés.

1.1 Adéquation entre le pouvoir donneur des atomes d'azote et le pouvoir accepteur des ions de la première série de transition

L'interaction entre un ligand donneur d'électrons et un cation métallique peut être assimilée à une association entre une base et un acide de Lewis. Pearson a formulé l'efficacité de cette interaction en terme de dureté et de mollesse de ces acides et de ces bases (principe Hard Soft Acids and Bases ou HSAB).[8] Les bases de Lewis sont considérées comme molles si les atomes donneurs d'électrons qui les constituent sont aisément polarisables. Elles sont par contre considérées comme dures si les atomes donneurs d'électrons qui les constituent sont peu polarisables (densité de charges élevée).

Le caractère dur ou mou se rapporte à l'efficacité particulière des interactions acide dur/ base dure et/ou acide mou/ base molle. La première de ces interactions (dur/dur) est en général une interaction contrôlée par les charges avec formation de liaisons de type ionique. La seconde (interaction mou/mou) est une interaction sous contrôle orbitalaire avec formation de liaisons à caractère covalent. Dans tous les cas, les interactions entre partenaires « semblables » sont efficaces et se traduisent par la formation de complexes stables.

Les ions de métaux de transition divalents comme le Co(II), le Ni(II), le Cu(II), le Zn(II) et le Cd(II) sont considérés de force intermédiaire d'un point de vue dureté/mollesse dans la classification HSAB. Les fonctions amines macrocycliques le sont aussi. On s'attend donc à ce que la complexation des cations Zn(II), Cu(II) et Cd(II) avec des ligands tels que les tétraazamacrocycles soit favorisée.

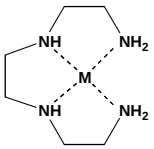
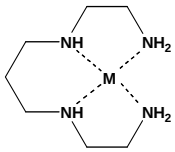
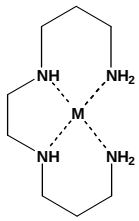
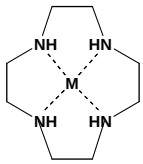
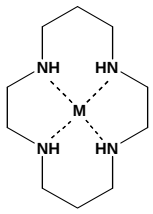
1.2 Stabilité thermodynamique des complexes

Plusieurs paramètres responsables de la stabilité thermodynamique des complexes tétrazamacrocycliques de métaux de transition sont à prendre en compte : l'effet macrocyclique, l'influence de la taille de la cavité et des possibilités d'isoméries configurationnelles des complexes ainsi que l'influence de substituants portés par les hétéroatomes du ligand.

1.2.1 Effet macrocyclique

Les complexes métalliques formés entre les ligands macrocycliques et les ions de métaux de transition sont en général plus stables que ceux formés par des ligands à chaîne ouverte. Le Tableau I-1 présente une comparaison de la stabilité thermodynamique des complexes de tétramines linéaires et cycliques.

Tableau I-1 : *Comparaison des constantes globales de formation des complexes métalliques du Ni(II) et Cu(II) avec* ***a****- des ligands linéaires* ***b****- des ligands macrocycliques* ***c****- ref.* [9] ***d****- ref.[10]* ***e****- ref. [11]* ***f****- ref. [12]* ***h****- ref. [13]* ***g****- ref. [14].*

					
ligand	**222**[a]	**232**[a]	**323**[a]	**cyclen**[b]	**cyclam**[b]
Ni(II)	14,5[c]	16,0[c]	14,7[c]	16,4[c]	22,2[c]
Cu(II)	21,0[c]	23,2[c]	21,8[c]	23,3[c]	27,2[c]
Zn(II)	12,1[d,f]	12,8[d]	9,8[d]	15,3[e]	15,5[f]
Cd(II)	10,4[g]	-	-	14,3[f]	11,23[h]

L'augmentation de stabilité des complexes macrocycliques est principalement d'origine entropique et due à la présence de cycles chélates supplémentaires dans ces complexes par rapport à leurs homologues ouverts. Pour les ligands macrocycliques, s'ajoute à cet effet, une stabilisation d'origine enthalpique souvent évoquée par les termes de 'préorganisation du chélate'. Ces termes rendent comptent du fait que la géométrie du ligand est proche de celle du complexe. Le ligand prend donc en compte les contraintes stéréoélectroniques de la complexation puisque les doublets des atomes d'azote macrocycliques sont convenablement orientés pour assurer un recouvrement efficace avec les orbitales du métal.[15] La présence de chaîne alkyle refermant le macrocycle modifie de plus le caractère donneur de ces atomes d'azote, en le renforçant.

1.2.2 Influence de la taille de la cavité macrocyclique sur la stabilité des complexes

Selon la taille et la flexibilité de la cavité macrocyclique, le macrocycle peut fixer efficacement un métal et pas l'autre. Thöm et *coll.*[16] ont étudié la variation de la constante de formation des complexes métalliques en fonction du nombre d'atomes constituant le macrocycle (Schéma I-1).

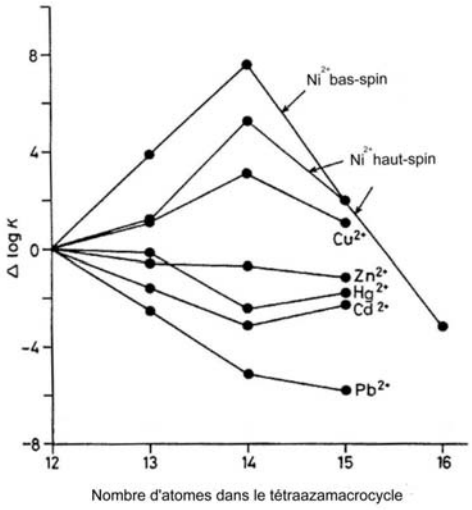


Schéma I-1 : *Effet de la taille de la cavité du macrocycle sur la stabilité des complexes*

Pour les complexes de Ni(II) et Cu(II) la stabilité maximale du complexe est atteinte lorsque la taille de la cavité correspond le mieux au diamètre du cation métallique. En revanche, la stabilité des complexes de Zn(II) est quasiment indépendante de la taille de la cavité. Pour le macrocycle, il peut cependant être plus avantageux d'un point de vue énergétique de complexer un cation de taille supérieure à celle de sa cavité. L'ion se place alors au-dessus du plan moyen du macrocycle. C'est par exemple le cas de l'ion Pb(II), dont le complexe avec le cyclen est plus stable que celui avec le cyclam, bien que le rayon de la cavité de ce dernier soit plus proche du rayon ionique du métal.

1.2.3 Influence de la configuration du complexe sur sa stabilité

Pour un macrocycle de taille de cavité donnée, la complexation par un cation métallique peut engendrer, selon la géométrie adoptée par le complexe, des stéréoisomères de stabilités différentes. La nomenclature développée par Bosnich et *coll.*,[2] propose un mode de description de ces géométries basé sur l'orientation relative des hydrogènes portés par les atomes d'azote par rapport au plan moyen de la cavité macrocyclique (Schéma I-2).

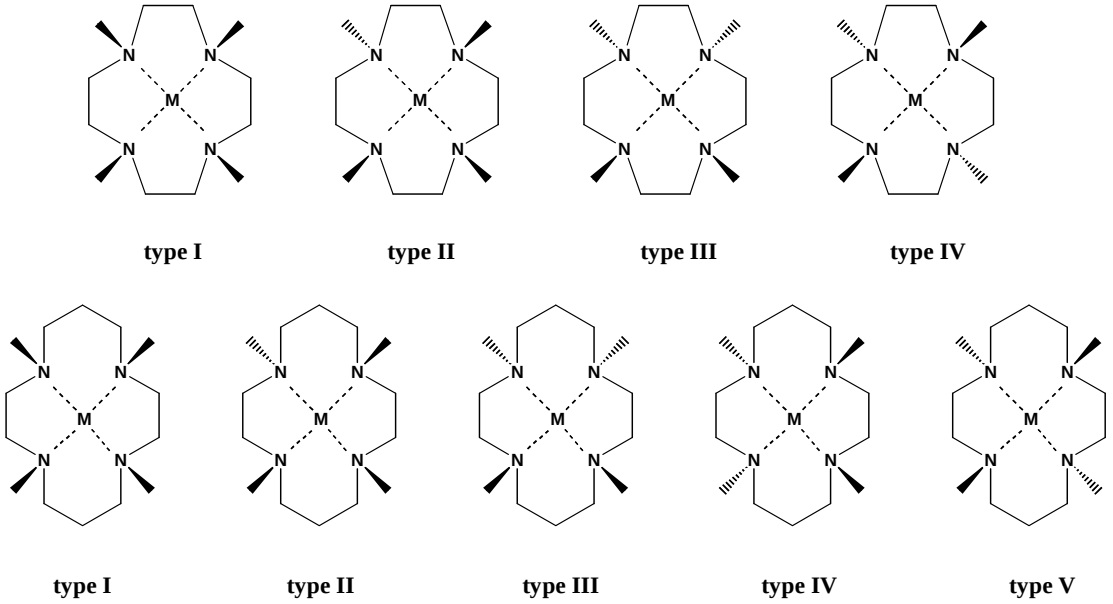


Schéma I-2 *: Nomenclature des différents stéréoisomères issus de la complexation du cyclen et cyclam par un ion métallique*

Quatre configurations ont ainsi été définies pour les complexes à base de cyclen et cinq pour les complexes à base de cyclam.

Le cyclen en présence d'un métal, adopte préférentiellement une configuration de type I, dans laquelle les quatre liaisons N-H sont dirigées du même côté du plan formé par les atomes d'azote du macrocycle. Le cyclam, en présence d'un métal, adopte de préférence la conformation de type III. Cette structure, dans laquelle les cycles chélates à cinq et six chaînons adoptent respectivement les conformations stables gauche et chaise, est thermodynamiquement la plus favorable.

La comparaison des configurations thermodynamiquement les plus stables des complexes de cyclen et cyclam (respectivement type I et type III) permet alors de mieux comprendre les affinités différentes des deux cages évoquées dans les paragraphes précédents pour les métaux (Schéma I-3).[17]

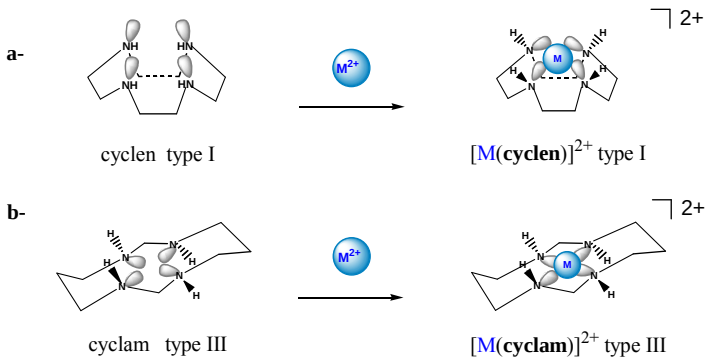


Schéma I-3 : *Comparaison des modes de coordination du* ***a-*** *cyclen type I,* ***b-*** *cyclam type III*

Dans le cas du cyclen, le point de convergence des doublets des atomes d'azote coordinants est situé au dessus du plan moyen de la cavité macrocyclique (Schéma I-3 a). Dans le cas du cyclam, ce point est situé dans le plan moyen de la cavité (Schéma I-3 b). Dès lors, le cyclen est capable de complexer efficacement des cations métalliques même volumineux, à l'extérieur du plan moyen constitué par les atomes d'azote de la cavité ce qui n'est pas possible dans le cas du cyclam.

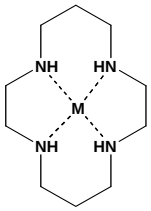
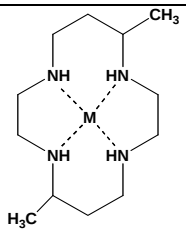
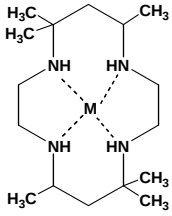
1.2.4 Influence de la substitution du macrocycle sur la stabilité des complexes

- C- alkylation et N-alkylation

Comment évoluent les propriétés complexantes des cavités macrocycliques lorsque celles-ci sont fonctionnalisées soit au niveau de leurs atomes de carbone, soit au niveau de leurs atomes d'azote ?

A priori, on peut s'attendre à ce que la C-alkylation du macrocycle n'affaiblisse pas les capacités complexantes de la cavité macrocyclique puisque la modification stéréoélectronique induite par la substitution ne touche pas les atomes coordinants de la structure. En fait, si on examine par exemple les valeurs des constantes globales de formation de complexes de cyclam méthylés avec le Ni(II)[18] on constate que les complexes formés à partir des cyclams C-méthylés sont moins stables que le complexe de [Ni(**cyclam**)]$^{2+}$ (Tableau I-2).

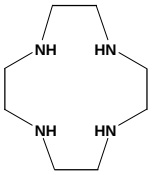
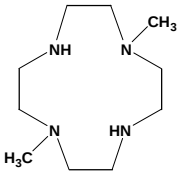
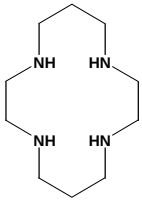
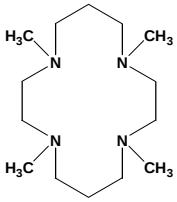
Tableau I-2 : *Comparaison des constantes globales de formation des complexes de Ni(II)*

			
	cyclam	**A**	**B**
Ni(II)	22,2	21,9	20

La présence des groupements méthyle impose une certaine rigidité à la cavité. La structure alors moins flexible, s'adapte moins bien à la sphère de coordination du métal d'où une perte de stabilité pour les complexes.

Pour ce qui est de la N-alkylation du macrocycle, elle diminue le pouvoir complexant du ligand comme le montrent par exemple, les constantes globales de formation des complexes de Ni(II) et de Cu(II) avec des cyclen et cyclam substitués par des groupements méthyle (Tableau I-3).

Tableau I-3 *: Evolution du logarithme des constantes globales de formation des complexes de Ni(II) et Cu(II) en fonction de la méthylation des macrocycles avec a- ref. [9], b- ref [16b], c- ref [19], d- ref [11], e- ref [12], f- ref [13], g- ref [20]*

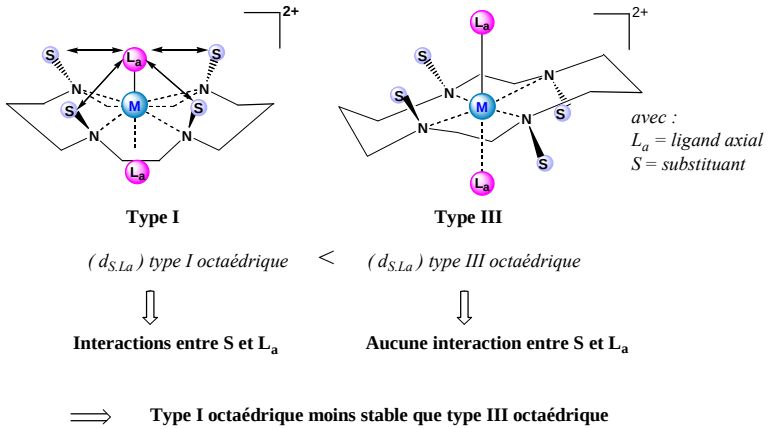
				
	cyclen	**C**	**cyclam**	**D**
Ni(II)	/	/	22,2[a]	8,4[b]
Cu(II)	23,3[c]	17,9[c,g]	26,5[c]	18,3[b]
Zn(II)	15,3[d]	/	15,5[e]	10,4[b]
Cd(II)	14,3[e]	/	11,23[f]	9,0[b]

Cette perte de stabilité est due à la substitution des amines par les groupements méthyle.[21] Golub et *coll.*[22,23] ont évoqué plusieurs facteurs susceptibles d'influencer le caractère électro-donneur des amines. Mis à part le fait que les amines tertiaires sont de moins bons σ-donneurs que les amines secondaires, la force des liaisons M-N dans les complexes N-

méthylés pourrait aussi être affaiblie car la fonctionnalisation des amines empêcherait l'établissement de liaisons hydrogène stabilisantes avec le solvant.

La présence de substituants sur les atomes d'azote du macrocycle influe d'une autre façon sur la sphère de coordination du métal. En effet, comme cela a été évoqué dans le point précédent, la complexation par un cation métallique peut engendrer, selon la géométrie adoptée par le complexe, des stéréoisomères de stabilités différentes. Lorsque les macrocycles sont fonctionnalisés on assiste alors à la stabilisation de configurations moins probables. Dans le cas de complexes de [Ni(**cyclam**)]$^{2+}$ mono à tétrasubstitués[24] une analyse de la base de données Cambridge Structural Database (CSD) montre que si les configurations les plus fréquemment observées restent celles de type III dans les complexes hexacoordinés, la probabilité de configurations réputées moins usuelles peut être augmentée si la coordinance du métal diminue. Un bilan des interactions entre les substituants S portés par les atomes d'azote macrocycliques et les ligands axiaux L_a permet de rendre compte de ces changements (Schéma I-4).

Métal hexacoordiné, situé dans le plan moyen des quatre atomes d'azote du macrocycle



- *Métal pentacoordiné, situé en dehors du plan moyen des quatre atomes d'azote du macrocycle*

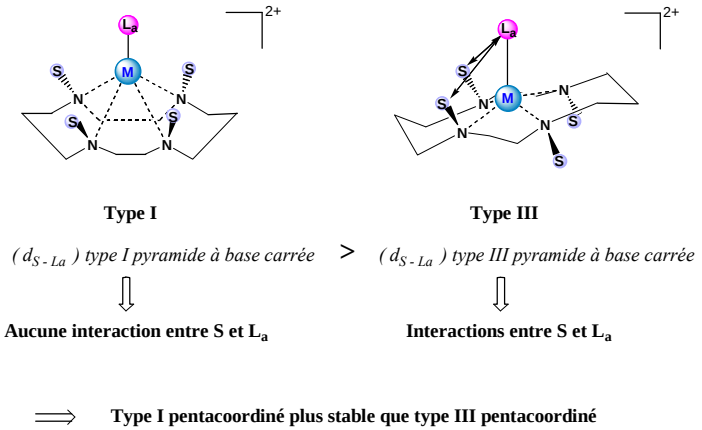


Schéma I-4 *: Interactions entre les substituants portés par les atomes d'azote et les ligands axiaux portés par le métal*

La probabilité d'une configuration est ainsi directement corrélée à la minimisation des interactions entre les substituants S et les ligands axiaux L_a portés par le métal. Le Schéma I-4 montre que les configurations de type I sont favorisées dans les complexes pentacoordinés.

- Substituants porteurs de fonctions coordinantes

Lorsque les substituants portés par les atomes d'azote macrocycliques comportent eux-mêmes des fonctions coordinantes, ils peuvent participer à la coordination du métal. Selon les conditions opératoires, il est alors possible d'activer ou de désactiver la coordination de ces groupes fonctionnels labiles, ainsi que d'induire des modifications configurationnelles pour ces complexes (en particulier ceux basés sur des cavités cyclam). Parmi ces groupements fonctionnels, on peut citer des fonctions amines ou thiol, des groupes pyridine ou des groupes méthylacétamide.

Considérons le cas de cyclams porteurs de fonctions amines exomacrocycliques, séparées des atomes d'azote de la cavité par une chaîne alkyl à deux atomes de carbone. Dans ces structures, la longueur de la chaîne est optimale pour que la fonction amine participe efficacement *via* un cycle chélate à cinq chaînons à la coordination du métal (Schéma I-5). Ces complexes de type « scorpion » présentent ainsi, par exemple vis-à-vis du Cu(II), une constante de complexation élevée (log K_{CuL} = 25,66).[25]

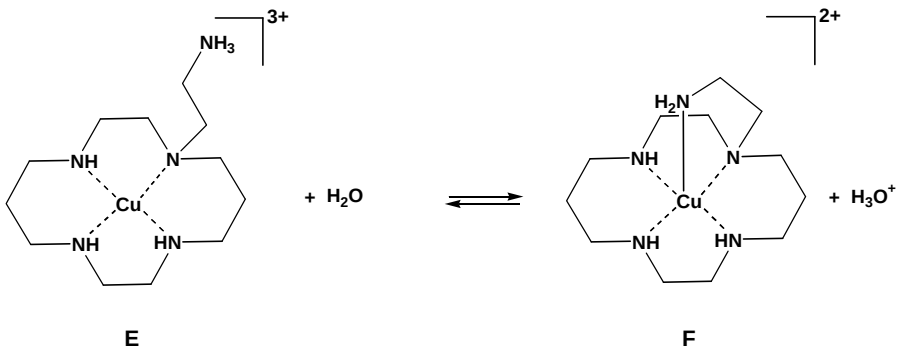


Schéma I-5 *: Complexation en fonction du pH du [Cu(**cyclam**)]$^{2+}$ fonctionnalisé par un groupe amine*

L'analyse structurale du complexe montre qu'en milieu acide, celui-ci existe sous la forme **E** (Schéma I-5) dans laquelle la fonction amine exomacrocyclique est protonée. Une augmentation du pH (pH > 3) a pour effet de déprotoner cette fonction et de provoquer la coordination de la fonction amine secondaire. Dans le complexe **F**, le cuivre est pentacoordiné.

Ce même type de comportement, dépendant du pH est observé dans le cas du complexe analogue de Ni(II)[26] (complexe **G**).

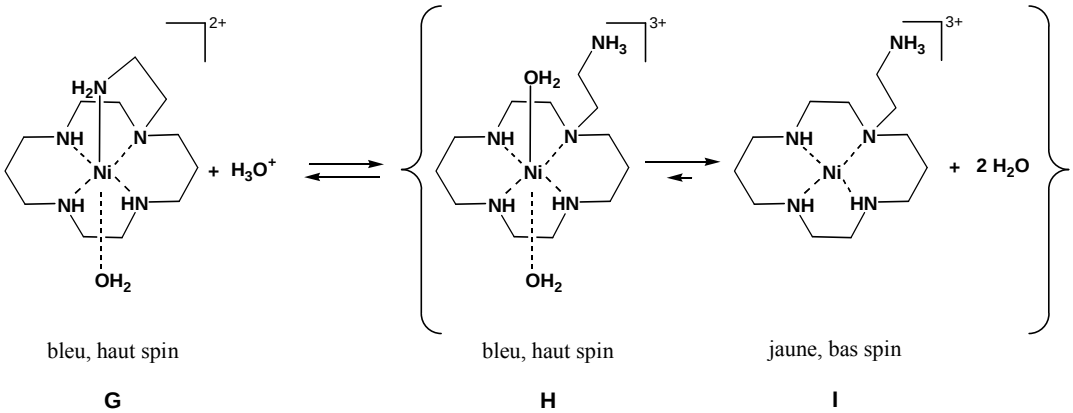


Schéma I-6 *: Coordination du complexe **G** en fonction du pH*

A pH neutre, le complexe **G** est tel que la fonction amine exomacrocyclique est coordinée au métal. La solution de couleur bleue, reflète l'état de spin du métal (Ni d^8 haut spin). L'addition d'acide provoque une décoordination de la fonction amine exomacrocyclique pour conduire au mélange de complexes **H** et **I** (ce mélange correspond en fait à une situation d'équilibre entre les formes **H** et **I**, la forme **I** étant majoritaire). La

solution devient alors jaune comme attendu lorsque dans le milieu la situation électronique prépondérante du nickel est bas spin.

Le même type de complexe « scorpion » est obtenu dans le cas de ligands cyclens substitués par une fonction éthanethiol (Schéma I-7). La participation de l'atome de soufre à la coordination du cation métallique a permis d'obtenir des complexes de Cu(II), Zn(II) et Cd(II) ayant des constantes de complexation élevées (log K_{CuL} = 21,19, log K_{ZnL} = 18,6 et log K_{CdL} = 18,8).[27]

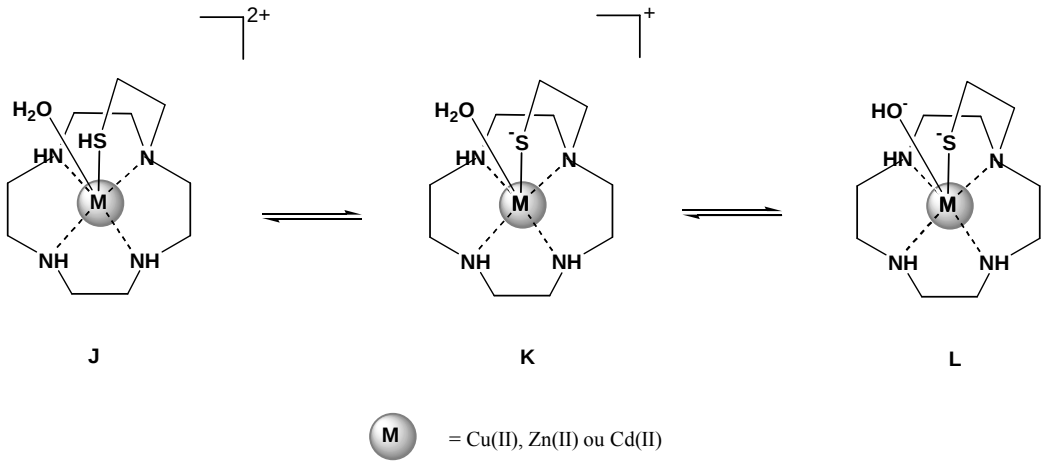
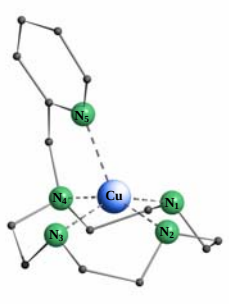


Schéma I-7 : *Structure du complexe* ***J*** *en fonction du pH*

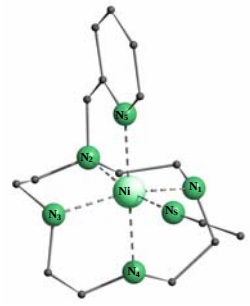
La sphère de coordination du complexes **J** évolue en fonction du pH en fonction de la déprotonation de la fonction thiol (forme **K**) et de la déprotonation de la molécule d'eau coordinée (forme **L**). Les domaines d'existence des différentes formes dépendent de plus de la nature du métal coordiné, Ainsi, dans le cas où le métal est le Cu(II), la forme **K** est obtenue à 100% à pH 7,4 tandis qu'elle le sera à pH 8 dans le cas de Zn(II) et Cd(II). En ce qui concerne la forme **L** elle est majoritaire à partir de pH 9 dans le cas du complexe de Cu(II) et pH 10 dans le cas des complexes de Zn(II) et Cd(II).

Récemment des complexes de cuivre(II) et de nickel(II) formés avec des ligands cyclen et cyclam porteurs d'un groupement pyridine exomacrocyliques ont été étudiés.[28] Pour tous ces complexes, l'atome d'azote pyridinique participe à la coordination du métal. Les complexes de cuivre formés sont caractérisés à nouveau par des constantes de complexation élevées (log $K_{\text{Cu-(cyclen-pyridine)}}$ = 21,0 et log $K_{\text{Cu-(cyclam-pyridine)}}$ = 23,0). L'atome d'azote pyridinique intervient dans la sphère de coordination du métal comme le montrent les

structures des complexes de $[Cu(cyclen\text{-}pyridine)]^{2+}$ (complexe **M**) et $[Ni(cyclen\text{-}pyridine)]^{2+}$ (complexe **N**) (Schéma I-8), le macrocycle adoptant une configuration de type I (*cf.* paragraphe 2.2.3).



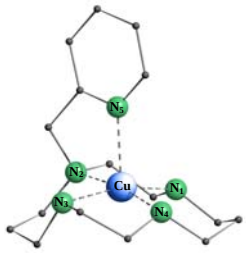
M



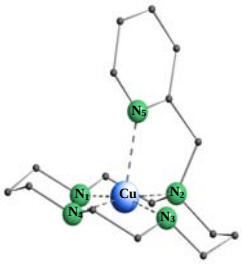
N

Schéma I-8 *: Structure des complexes de* $[Cu(cyclen\text{-}pyridine)]^{2+}$ *et de* $[Ni(cyclen\text{-}pyridine)]^{2+}$

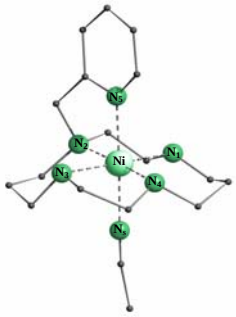
Avec le cyclam-pyridine, selon les conditions opératoires et selon le métal, plusieurs structures ont pu être obtenues. Cette variété structurale illustre l'adaptabilité du macrocycle aux contraintes stéréoélectroniques des divers cations métalliques puisque deux isomères configurationnels sont générés pour les complexes de cuivre (complexes **O** et **P**) et pour les complexes de nickel (complexes **Q** et **R**) (Schéma I-9).



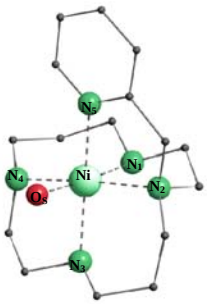
O



P



Q



R

Schéma I-9 *: Structures des complexes* $[Cu(cyclam\text{-}pyridine)]^{2+}$ *type I (**O**) et type III (**P**) et* $[Ni(cyclam\text{-}pyridine)]^{2+}$ *type I (**Q**) et type V (**R**)*

L'étude électrochimique de ces complexes montre de plus que la modification du degré redox du métal déclenche la réaction de conversion d'un isomère configurationnel dans un autre.

Dans le cas de cyclams porteurs de deux groupements pyridine exomacrocyliques, la sphère de coordination du métal ainsi que la configuration adoptée par la cavité peuvent, également, varier dans les complexes et ce, en fonction de la disposition des substituants[29] (Schéma I-8).

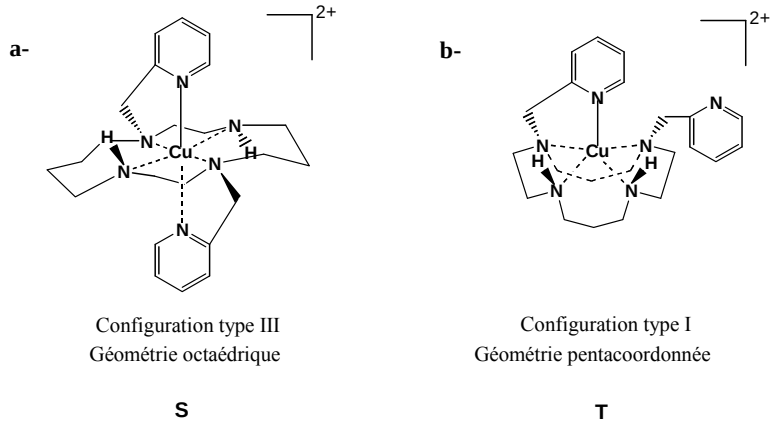
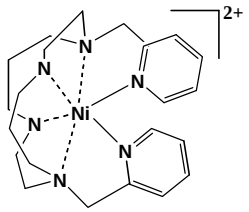


Schéma I-8 *: Complexes de Cu(II) basés sur des cyclams di N-substitués :* ***a-*** *en position (1,8) ou* ***b-*** *en position (1,11) par des groupes pyridine*

Ainsi, pour le complexe de cuivre **S** dans lequel les atomes d'azote N_1 et N_8 sont substitués par les groupes pyridine, le métal est stabilisé à l'intérieur de la cavité (Schéma I-7). Sa sphère de coordination est constituée des quatre atomes d'azote du macrocycle ainsi que des deux atomes d'azote pyridinique en position axiale. Selon l'acidité du milieu, ces deux coordinats peuvent être disponibles ou non pour la complexation.

Lorsque ces mêmes substituants sont en position (1,11) un seul des groupements pyridine peut se coordiner au métal (complexe **T**) (Schéma I-8). La cavité adopte cette fois-ci une configuration de type I. Dans ce cas, une variation de pH ne provoque aucune modification de la sphère de coordination du métal, le cuivre restant pentacoordiné dans tout le domaine de pH.

Lorsque le métal complexé est le Ni(II), le ligand pour lequel les deux groupes pyridine sont en position (1,8) conduit à un complexe octaédrique (complexe **U**) (Schéma I-9).



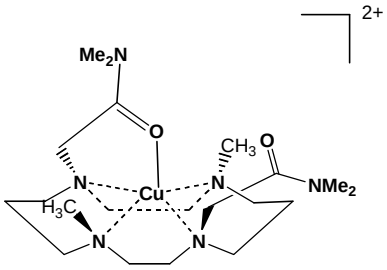
Conformation type V
Géométrie octaédrique

U

Schéma I-9 *: Complexe octaédrique de Ni(II) avec un ligand cyclam di N-substitué en position (1,8)*

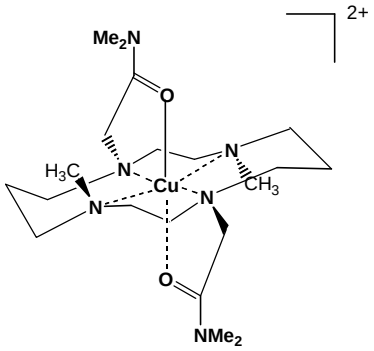
Dans ce complexe, les deux atomes d'azote pyridinique coordinés sont en position cis par rapport au métal.[29] Dans ce cas, la cavité adopte une configuration de type V.

Dans le cas de cyclams tétrafonctionnalisés par deux groupements méthylacétamide et deux groupes méthyle, deux types de configurations peuvent être isolées selon les conditions de synthèse des complexes.[30] La complexation du ligand par un sel de Cu(II) dans l'eau à température ambiante conduit à une espèce pentacoordinée de configuration type I (complexe **V**) dans laquelle un seul des deux bras méthylacétamide est coordiné (Schéma I-10).



Configuration type I
Géométrie pentaédrique

V



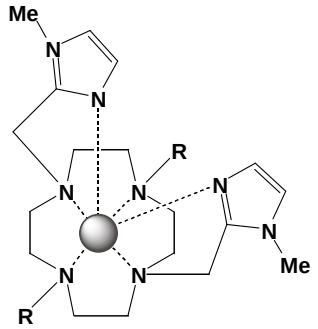
Configuration type III
Géométrie octaédrique

W

Schéma I-10 *: Complexes de Cu(II) avec des cyclams tétraN-substitués par des groupes méthylacétamide en position (1,8) et méthyl en position (4,11)*

Si la complexation est maintenant menée au reflux dans l'eau et en milieu basique, la complexation du second bras méthylacétamide est forcée : le complexe résultant est hexacoordiné, la cavité adoptant la configuration stable de type III (complexe **W**).

Lorsque les ligands cyclen sont difonctionnalisés par deux groupements méthylimidazole ou tétrafonctionnalisés par deux groupements méthylimidazole et deux groupes méthyle ce même type de coordination est mis en évidence (Schéma I-11).[31]



X : R = H

Y; R = Me

= Ni(II) ou Zn(II)

Schéma I-11 *: Complexes de Ni(II) et Zn(II) basés sur les ligands **X** et **Y***

Pour ces complexes, la géométrie autour du métal est octaédrique distordue, la sphère de coordination du métal étant formée des quatre atomes d'azote macrocycliques et des deux atomes d'azote imine des groupements imidazole. Le macrocycle adopte une configuration de type I, les substituants méthylimidazole étant en position *cis* par rapport au métal.

1.3 Stabilité cinétique des complexes tétraazamacrocycliques vis-à-vis de la démétallation

La dissociation des complexes tétraazamacrocycliques en ligand libre et métal est un processus lent. La cinétique de dissociation est beaucoup moins rapide que celle des complexes de tétramines linéaires. Ainsi, une demi-vie de trente ans a été estimée pour le $[Ni(\mathbf{cyclam})]^{2+}$ en milieu acide perchlorique 1 $mol.L^{-1}$ alors que dans les complexes analogues de tétramines linéaires, la décoordination du métal intervient quasi instantanément dans les mêmes conditions.[32] De si faibles vitesses de dissociation sont l'expression de l'effet macrocyclique cinétique. La stabilité cinétique qui en résulte est un atout si l'on veut développer des vecteurs à base de ligands macrocycliques, pour véhiculer *in vivo* des

radionucléides par exemple. Elle permet en particulier d'éviter la décomplexation du métal en présence d'ions compétiteurs.

La cinétique de dissociation des complexes peut toutefois être accélérée en présence d'un ligand comme l'ion cyanure[33] ou en milieu acide concentré (à 25°C dans HCl 6 mol.L^{-1}[34] ou HNO_3 5 mol.L^{-1} [35]). En milieu acide concentré, deux mécanismes sont admis pour expliquer l'accélération du processus (Schéma I-12).

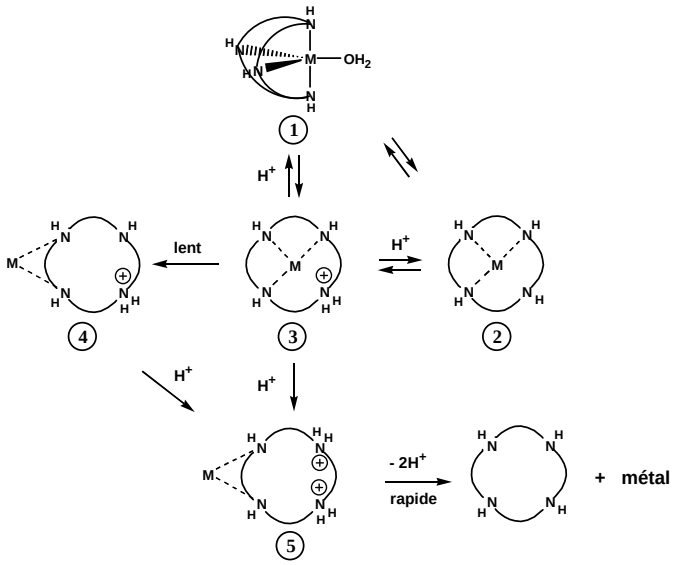


Schéma I-12 *: Mécanisme de dissociation de complexes tétraazamacrocycliques en milieu acide concentré*

- dans le premier mécanisme (chemin 1 → 3 → 4 →5), la protonation du complexe favorise la rupture d'une première liaison métal – azote, la cinétique de cette première étape étant contrôlée par la stabilité des cycles chélates. La rupture de la seconde liaison métal – azote à partir de l'espèce monoprotonée est l'étape cinétiquement déterminante du processus car elle s'accompagne d'une modification conformationnelle lente du complexe.
- dans le second mécanisme (chemin 1 → 2 → 3 → 4 →5), la solvatation du métal procure une assistance énergétique à la rupture de la première liaison métal – azote et favorise a dissociation du complexe. Dans ce cas, si l'accessibilité du métal aux molécules de solvant est faible, la présence d'acide dans le milieu est importante pour l'accélération du processus de démétallation.

2. Cinétique de formation des complexes

Dans la partie précédente, l'accent a été porté sur l'intérêt des tétraazamacrocycles en terme de complexation de cations métalliques. Il ne faut toutefois pas occulter le problème de cinétique de formation des complexes. T. A. Kaden a démontré que la cinétique de formation des complexes macrocycliques est lente en solution aqueuse[36]: si l'on compare la cinétique de complexation du Ni(II) avec le cyclam et avec la triéthylènetétramine, celle-ci est 3.10^4 fois plus lente avec le cyclam. Il a de plus été démontré que selon la taille de la cavité macrocyclique, la durée nécessaire à l'établissement de l'équilibre de complexation à température ambiante est de six mois dans le cas du système $[Ni(\mathbf{cyclen})]^{2+}$ [37] et de deux ans dans le cas du système $[Ni(\mathbf{cyclam})]^{2+}$.[38]

L'insertion d'un cation métallique au sein d'un macrocycle peut en fait être décrite par un certain nombre d'étapes (Schéma I-13) correspondant à une désolvatation progressive du cation métallique et de la cavité macrocyclique.[39]

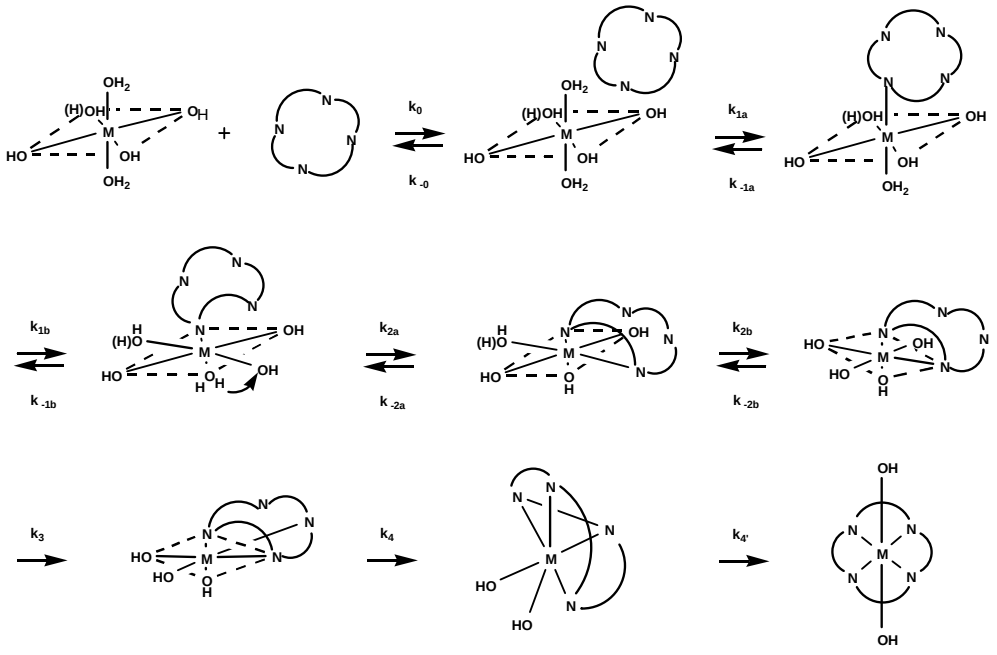


Schéma I-13 *: Mécanisme d'insertion d'un cation métallique dans un macrocycle*

l'indice i correspond au nombre de molécules d'eau de l'aqua-ion remplacées par des atomes d'azote

La complexation du métal par le macrocycle débute par la coordination d'un premier atome d'azote suivie d'un réarrangement de la sphère de coordination du métal puis de la coordination d'un second atome d'azote etc.

Le mécanisme peut être résumé de façon simple par le schéma suivant[40]:

$$M^{n+} + L \underset{}{\overset{\text{rapide}}{\rightleftharpoons}} [ML]^{n+}_{int} \xrightarrow{\text{lente}} [ML]^{n+}$$

La première partie du mécanisme est rapide et conduit à la formation d'un complexe métastable intermédiaire. La seconde partie du mécanisme est lente, donc cinétiquement déterminante et conduit à la forme thermodynamiquement la plus stable du complexe.

Il est alors facilement compréhensible que tout évènement perturbant la flexibilité du macrocycle (substitution des atomes d'azote par exemple) ou la disponibilité des doublets des atomes coordinants, affecte la cinétique de complexation. Ainsi, en solution aqueuse, le pH influe sur la vitesse puisque pour des valeurs de pH faibles, il y a compétition entre la protonation du macrocycle et la complexation du métal. Ceci peut être évité soit en travaillant à des valeurs de pH plus élevées (se pose alors la formation d'espèces métalliques hydroxylées[34]), soit en travaillant en solvant organique.[41] En tout état de cause, cette cinétique de complexation lente constitue un inconvénient en regard des remarquables capacités complexantes des macrocycles ; elle doit donc être correctement prise en charge pour la détermination de la stabilité des complexes.

Enfin, on ne saurait conclure sur la cinétique d'insertion des ions métalliques 3d dans les cavités macrocycliques sans examiner l'évolution de cette cinétique en fonction de la nature du métal. Kaden et *coll.*[42] ont étudié la cinétique de complexation d'une série de macrocycles (du cyclen au 3333) avec les quatre métaux de transition suivants : Co, Ni, Cu, Zn). Il a ainsi été montré que la cinétique de complexation évolue selon : Cu(II) > Zn(II) > Co(II) > Ni(II), la cinétique de complexation du cuivre étant la plus rapide.

B – SONDES FLUORESCENTES DE CATIONS

L'un des développements les plus récents dans le domaine de la chimie des macrocycles a pour but de mettre au point des systèmes capables signaler l'évènement de complexation, en particulier par fluorescence. Avant de préciser le mode de fonctionnement de ces sondes et d'en présenter un certain nombre, dédiées en particulier, à la détection de cations réputés silencieux dans les spectroscopies usuelles (comme le zinc), nous rappellerons les caractéristiques de l'émission de fluorescence. Nous définirons en particulier les paramètres caractérisant les propriétés photophysiques de ces sondes et montrerons sous

quelles conditions, la mesure de l'intensité de fluorescence peut être corrélée à la concentration des espèces en solution.

1. Transitions radiatives et non radiatives entre états électroniques

1.1 Diagramme de Perrin-Jablonski

Le diagramme de Perrin-Jablonski (Figure I-1) permet de visualiser les divers processus mis en jeu à la suite de l'absorption d'un photon par une molécule.[43]
Soient S_i, i = 0, 1, 2, … les états électroniques singulets où S_0 représente l'état fondamental.
Soient T_i, i = 1, 2, … les états électroniques triplets.
Des niveaux vibrationnels sont associés à chaque niveau électronique.

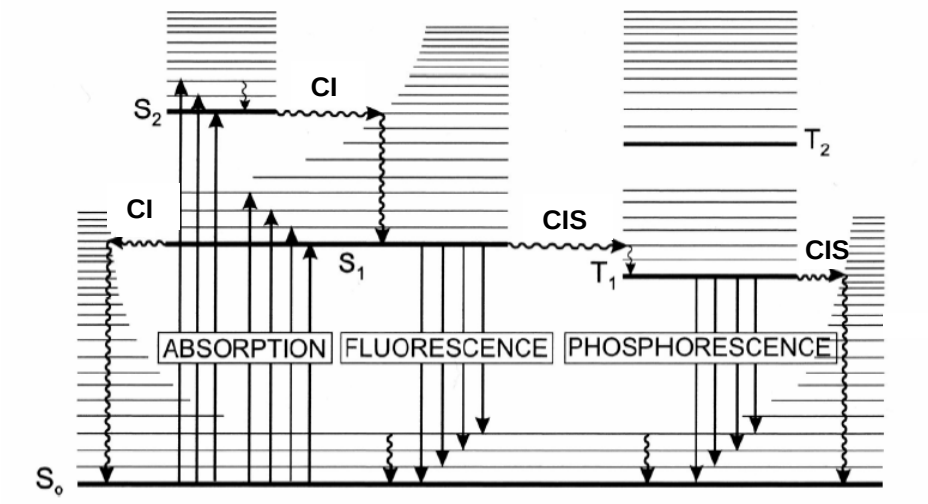


Figure I-1 : *Diagramme de Perrin-Jablonski*

L'absorption de photons fait passer les molécules du niveau vibrationnel v = 0 de l'état fondamental S_0 vers les états électroniques excités (flèche verticale ascendante). Dès lors, trois processus de désexcitation sont possibles :

- les molécules peuvent subir des transitions non radiatives entre deux de leurs états électroniques de même multiplicité de spin : il s'agit d'un processus de conversion interne CI. Dans le schéma ci-dessus, on observe deux transitions de ce type : la conversion $S_1 \rightarrow S_0$ et la conversion $S_2 \rightarrow S_1$. La conversion $S_1 \rightarrow S_0$ est moins efficace que la conversion $S_2 \rightarrow S_1$ en raison de la différence d'énergie beaucoup plus grande entre S_1 et S_0. Cette conversion peut néanmoins rentrer en compétition avec les processus de désexcitation radiatifs que sont la fluorescence et la phosphorescence.

- les molécules peuvent subir des transitions radiatives correspondant à une émission de photons accompagnant la relaxation $S_1 \rightarrow S_0$. Ce processus d'émission de photons est un processus aussi rapide que le processus d'absorption (de l'ordre de 10^{-15}s). Le spectre de fluorescence est situé à des longueurs d'onde plus grandes que le spectre d'absorption en raison de la perte d'énergie par relaxation vibrationnelle dans l'état excité. Ainsi, des molécules peuvent résider dans l'état excité S_1 pendant un certain temps (10^{-10} à 10^{-7}s) avant d'émettre un photon ou se désexciter par d'autres voies.

- une troisième voie de désexcitation possible à partir de S_1 est le passage intersystème (ou croisement intersystème CIS) vers l'état triplet T_1 suivi d'une désexcitation. Le passage intersystème est une transition non radiative entre deux niveaux vibrationnels appartenant à des états électroniques de multiplicités différentes. Ce passage peut être suffisamment rapide pour rentrer en compétition avec les deux voies de relaxation $S_1 \rightarrow S_0$ décrites précédemment. Par exemple, si la transition $S_0 \rightarrow S_1$ est du type $n \rightarrow \pi^*$, la durée de vie de l'état S_1 est suffisamment longue pour que le passage intersystème devienne efficace. Ce passage peut aussi être franchi si le couplage spin-orbite est suffisamment important pour le rendre possible. C'est le cas lorsque la molécule fluorescente comporte des atomes lourds (de type Br, I).

La relaxation de l'état triplet T_1 vers le niveau fondamental S_0 peut ensuite intervenir de façon non radiative ou de façon radiative (phosphorescence).

1.2 Durée de vie des états excités et rendement quantique de fluorescence

1.2.1 Durée de vie des états excités

Sous l'effet de l'impulsion lumineuse, un certain nombre de molécules dans leur état fondamental singulet (noté ^1M) accèdent à l'état excité singulet $^1M^*$ selon :

$$^1M + h\nu \xrightarrow{k_a} {}^1M^*$$

D'après les processus évoqués précédemment, les molécules dans l'état excité $^1M^*$ seront le siège d'au moins deux mécanismes de désexcitation. Elles vont retourner à l'état fondamental de façon radiative ou non (relaxation $S_1 \rightarrow S_0$) ou vont passer à l'état triplet ($S_1 \rightarrow T_1$) (Figure I-2).

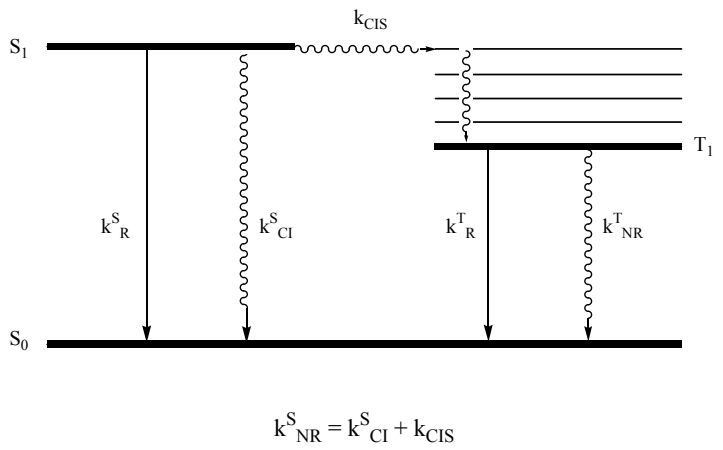


Figure I-2 *: Processus de désexcitation de l'état excité singulet* $^1M^*$

- pour le processus de relaxation $S_1 \rightarrow S_0$, il faut distinguer le processus de désexcitation radiatif caractérisé par la constante de vitesse $\mathbf{k^S_R}$, des processus de désexcitation non radiatifs caractérisés par les constantes de vitesse $\mathbf{k^S_{CI}}$ et $\mathbf{k_{CIS}}$. Ces deux derniers processus sont rassemblés sous une constante de vitesse globale caractérisant les processus non radiatifs selon $\mathbf{k^S_{NR} = k^S_{CI} + k_{CIS}}$.

- pour la désexcitation à partir de l'état triplet T_1 on distinguera de la même façon le processus radiatif ($\mathbf{k^T_R}$) du processus non radiatif ($\mathbf{k^T_{NR}}$).

Si l'on ne s'intéresse uniquement qu'au mode de relaxation $S_1 \rightarrow S_0$, il est possible d'exprimer la vitesse de disparition des molécules à l'état excité $^1M^*$ par :

$$-\frac{d[^1M^*]}{dt} = \left(k^S_R + k^S_{NR}\right)[^1M^*] \qquad (1)$$

L'intégration de cette loi de vitesse conduit à l'évolution temporelle de la concentration des molécules dans l'état excité $^1M^*$ selon :

$$[^1M^*] = [^1M^*]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right) \qquad (2)$$

où τ_S représente la durée de vie de l'état excité S_1 avec :

$$\tau_S = \frac{1}{k^S_R + k^S_{NR}} \qquad (3)$$

L'intensité de fluorescence $i_F(t)$ à l'instant t, après excitation par une impulsion lumineuse infiniment courte, est proportionnelle à tout instant à la concentration en molécules encore

présentes à l'état excité $^1M^*$. Cette intensité de fluorescence impulsionnelle $i_F(t)$ est donc exprimée par :

$$\mathbf{i_F(t) = k_R^S \left[{}^1M^*\right] = k_R^S \left[{}^1M^*\right]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_S}\right)} \tag{4}$$

Ainsi, l'intensité de fluorescence impulsionnelle décroît de façon mono exponentielle.

1.2.2 Rendement quantique de fluorescence

Le rendement quantique de fluorescence $\mathbf{\Phi_F}$ est la fraction de molécules dans l'état excité $^1M^*$ qui retournent à l'état fondamental S_0 avec émission de photons de fluorescence. C'est dont le rapport entre le nombre de photons émis et le nombre de photons absorbés. Son expression est donnée par :

$$\mathbf{\Phi_F = \frac{k_R^S}{k_R^S + k_{NR}^S} = k_R^S\ \tau_S} \tag{5}$$

Le rendement quantique de fluorescence est aussi donné par l'intégration du rapport entre l'intensité de fluorescence impulsionnelle $i_F(t)$ et le nombre de photons absorbés (donc de la concentration en molécules excitées avant tout processus de désexcitation c'est-à-dire $\left[{}^1\mathbf{M}^*\right]_0$) selon :

$$\mathbf{\Phi_F = \frac{1}{\left[{}^1M^*\right]_0} \int_0^\infty i_F(t) = k_R^S\ \tau_S} \tag{6}$$

Plus le rendement quantique de fluorescence est élevé, plus il est facile d'observer un composé fluorescent. Ceci est d'autant plus vrai que le composé sera utilisé comme sonde fluorescente.

En phase condensée, un certain nombre de paramètres peuvent affecter les durées de vie des états excités et les rendements quantiques de fluorescence. C'est le cas de la température (une augmentation de la température entraîne une diminution de τ_S et de $\mathbf{\Phi_F}$ puisque dans ce cas, les processus non radiatifs liés à l'agitation thermique sont favorisés), du pH, de la polarité du milieu, de la viscosité, de la présence d'inhibiteurs (dioxygène par exemple ou composés paramagnétiques).

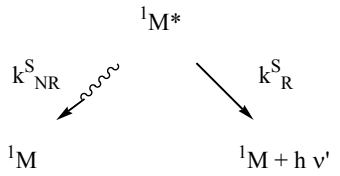
Les rendements quantiques de fluorescence sont habituellement mesurés par comparaison avec un composé fluorescent standard dont le rendement quantique est connu.

Dans la pratique, il est préférable de choisir un standard excitable à la même longueur d'onde que le composé et dont le spectre d'émission couvre une zone de longueurs d'onde comparable (*cf.* annexe I).

1.3 Intensité de fluorescence et concentration

L'enregistrement des spectres de fluorescence utilise une source lumineuse émettant un flux constant de photons.

Soit N_0, le nombre constant de photons incidents pénétrant pendant un temps donné dans un volume unitaire d'un échantillon, dont la concentration en fluorophore est $\left[{}^1\mathbf{M}\right]$. Le nombre de photons absorbés au cours du processus est αN_0. Si on ne considère que la relaxation $S_1 \rightarrow S_0$, les processus de désexcitation sont, comme cela a été vu précédemment :



Pour une illumination continue, $\left[{}^1M*\right]$ reste constante ce qui signifie que $\left[{}^1\mathbf{M*}\right]$ est dans un état stationnaire. Dans ces conditions :

$$\frac{\mathbf{d}\left[{}^1\mathbf{M*}\right]}{\mathbf{dt}} = \mathbf{0} = \mathbf{k_a}\ \alpha\ \mathbf{N_0} - \left(\mathbf{k_R^S} + \mathbf{k_{NR}^S}\right)\left[{}^1\mathbf{M*}\right] \tag{7}$$

où

$\mathbf{k_a}\ \alpha\ \mathbf{N_0}$ représente le nombre de photons absorbés par unité de volume et par unité de temps (8)

On peut donc écrire que :

$$\mathbf{k_a}\ \alpha\ \mathbf{N_0} = \alpha\ \mathbf{I_0} \tag{9}$$

où $\mathbf{I_0}$ représente l'intensité de la lumière incidente (en mole de photons par litre et par seconde)

Dans ces conditions, la concentration $\left[{}^1\mathbf{M*}\right]$ est donnée par la relation :

$$\left[{}^{1}\mathbf{M}^{*}\right] = \frac{\alpha\, \mathbf{I_0}}{\mathbf{k_R^S} + \mathbf{k_{NR}^S}} \tag{10}$$

Le nombre total de photons émis par unité de temps et par unité de volume, c'est-à-dire l'intensité de fluorescence stationnaire $\mathbf{I_F}$, s'écrit alors :

$$\mathbf{I_F} = \mathbf{k_R^S}\left[{}^{1}\mathbf{M}^{*}\right] = \alpha\, \mathbf{I_0}\, \frac{\mathbf{k_R^S}}{\mathbf{k_R^S} + \mathbf{k_{NR}^S}} = \alpha\, \mathbf{I_0}\, \mathbf{\Phi_F} \tag{11}$$

où $\mathbf{\Phi_F}$ correspond au rendement quantique de fluorescence défini par l'équation (5).

Si maintenant on cherche à exprimer la distribution de photons en énergie, c'est-à-dire si on veut examiner le spectre de fluorescence de l'entité ^{1}M*, il faut exprimer l'intensité de fluorescence stationnaire par photon absorbé en fonction de la longueur d'onde des photons émis. Cette intensité de fluorescence par photon absorbé notée $\mathbf{F_\lambda}\left(\lambda_{\mathbf{F}}\right)$ satisfait la relation :

$$\int_0^\infty \mathbf{F_\lambda}\left(\lambda_{\mathbf{F}}\right) \mathbf{d}\lambda_{\mathbf{F}} = \mathbf{\Phi_F} \tag{12}$$

Dans la pratique, l'intensité de fluorescence stationnaire $\mathbf{I_F}$ est telle que :

$$\mathbf{I_F}\left(\lambda_{\mathbf{E}}, \lambda_{\mathbf{F}}\right) = \mathbf{F_\lambda}\left(\lambda_{\mathbf{F}}\right) \times \mathbf{N_A}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right) \tag{13}$$

où $\mathbf{N_A}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right)$ correspond au nombre de photons absorbés à la longueur d'onde d'excitation $\lambda_{\mathbf{E}}$.

Le nombre de photons $\mathbf{N_A}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right)$ peut être remplacé par l'intensité lumineuse $\mathbf{I_A}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right)$ absorbée à cette longueur d'onde c'est-à-dire :

$$\mathbf{I_A}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right) = \mathbf{I_0}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right) - \mathbf{I_T}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right) \tag{14}$$

où $\mathbf{I_0}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right)$ représente l'intensité de la lumière incidente à la longueur d'onde $\lambda_{\mathbf{E}}$ et où $\mathbf{I_T}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right)$ correspond à l'intensité de la lumière transmise à cette même longueur d'onde.

L'intensité de fluorescence $\mathbf{I_F}\left(\lambda_{\mathbf{E}}, \lambda_{\mathbf{F}}\right)$ s'écrit alors :

$$\mathbf{I_F}\left(\lambda_{\mathbf{E}}, \lambda_{\mathbf{F}}\right) = \mathbf{k}\, \mathbf{F_\lambda}\left(\lambda_{\mathbf{F}}\right) \times \mathbf{I_A}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right) = \mathbf{k}\, \mathbf{F_\lambda}\left(\lambda_{\mathbf{F}}\right)\left[\mathbf{I_0}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right) - \mathbf{I_T}\left(\lambda_{\mathbf{E}}\right)\right] \tag{15}$$

où k est un facteur de proportionnalité prenant en compte la configuration optique de l'appareil et le réglage de sa sensibilité. La valeur numérique de l'intensité de fluorescence $\mathbf{I_F}(\lambda_E, \lambda_F)$ est par conséquent obtenue sur une échelle arbitraire.

Comme l'intensité de la lumière transmise peut s'exprimer à l'aide de la loi de Beer-Lambert par :

$$\mathbf{I_T}(\lambda_E) = \mathbf{I_0}(\lambda_E)\,\mathbf{exp}\left[-2{,}3\,\varepsilon(\lambda_E)\,\ell\,\mathbf{c}\right]$$

où $\varepsilon(\lambda_E)$ représente le coefficient d'absorption molaire du fluorophore à la longueur d'onde λ_E, ℓ correspond au chemin optique dans l'échantillon et c la concentration du fluorophore.

Alors :

$$\mathbf{I_F}(\lambda_E, \lambda_F) = \mathbf{k}\,\mathbf{F}_\lambda(\lambda_F) \times \mathbf{I_0}(\lambda_E)\left(1 - \mathbf{exp}\left[-2{,}3\,\varepsilon(\lambda_E)\,\ell\,\mathbf{c}\right]\right) \tag{16}$$

Dans le cas de faibles concentrations, le développement limité suivant peut être utilisé pour exprimer :

$$1 - \mathbf{exp}\left[-2{,}3\,\varepsilon(\lambda_E)\,\ell\,\mathbf{c}\right] = 2{,}3\,\varepsilon\,\ell\,\mathbf{c} - \frac{1}{2}(2{,}3\,\varepsilon\,\ell\,\mathbf{c})^2 + \ldots$$

Pour des solutions très diluées, les termes de concentration d'ordre supérieur deviennent négligeables dans le développement, ce qui revient à écrire que :

$$\mathbf{I_F}(\lambda_E, \lambda_F) = \mathbf{k}\,\mathbf{F}_\lambda(\lambda_F) \times \mathbf{I_0}(\lambda_E) \times 2{,}3\,\varepsilon\,\ell\,\mathbf{c} \tag{17}$$

soit

$$\mathbf{I_F}(\lambda_E, \lambda_F) = 2{,}3\,\mathbf{k}\,\mathbf{F}_\lambda(\lambda_F) \times \mathbf{I_0}(\lambda_E) \times \mathbf{A}(\lambda_E) \tag{18}$$

Ceci montre donc que l'intensité de fluorescence $\mathbf{I_F}(\lambda_E, \lambda_F)$ est proportionnelle à la concentration uniquement pour des absorbances $\mathbf{A}(\lambda_E)$ faibles. Dans la pratique, il faut donc travailler avec des solutions très diluées de façon à se trouver dans le domaine de réponse linéaire en fluorescence (domaine dynamique de la méthode).

2. Principales classes de sondes fluorescentes

La grande sensibilité de la fluorescence d'une molécule à son micro-environnement explique l'utilisation de sondes fluorescentes en analyse chimique, biologique ou environnementale.

Un indicateur fluorescent prototype est en général constitué des deux parties, une partie 'récepteur' dont le rôle consiste à reconnaître l'analyte et une partie 'fluorophore' dont le rôle consiste à signaler l'évènement de reconnaissance. La partie réceptrice du fluoroionophore est responsable de la sélectivité de la sonde ainsi que de son affinité pour les cations à reconnaître.
L'interaction de l'analyte avec la partie récepteur induira un changement dans le micro-environnement du fluorophore et donc un changement dans son mode de fluorescence. Pour que la complexation soit quantifiable par fluorescence, il faut, suite à l'évènement de complexation, observer soit une augmentation de la fluorescence (effet CHEF *chelation enhancement of fluorescence*) soit une diminution de la fluorescence (effet CHEQ *chelation enhancement of quenching*).

Trois classes de récepteurs fluorescents moléculaires, ou fluoroionophores, dédiés à la reconnaissance d'espèces chimiques en solution peuvent être distinguées :

- la première correspond aux sondes fluorescentes intrinsèques. Dans ces structures, l'unité fluorescente porte les fonctions complexantes vis-à-vis des cations métalliques (Schéma 14). Ces sondes sont idéales mais peu répandues (ex : tryptophane, tyrosine, phénanthroline[44]).

a- Effet CHEF *b- Effet CHEQ*

Schéma I-14 *: Fluorophores intrinsèques*

- la seconde correspond aux sondes fluorescentes extrinsèques. Ces sondes adoptent la plupart du temps une architecture du type 'fluorophore- espaceur- récepteur', le fluorophore et le récepteur étant liés de façon covalente mais indépendants d'un point de vue électronique (Schéma I-15).[45,46,47,48] La partie réceptrice est le siège de

l'évènement de complexation, l'unité de signalisation fluorescente étant le site des transactions photoniques d'excitation et d'émission.

a- Effet CHEF *b- Effet CHEQ*

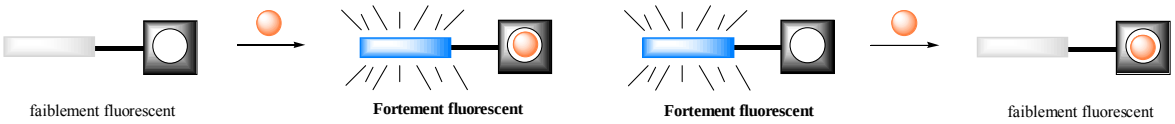


Schéma I-15 *: Fluorophores liés à un récepteur*

- la troisième est basée sur une stratégie d'échange dans lequel l'ensemble récepteur - fluorophore est sélectivement dissocié par l'addition d'un analyte compétiteur capable d'interagir efficacement avec le récepteur ('Chemosensing ensemble'). Il en résulte une réponse détectable en fluorescence (Schéma I-16).[47,48]

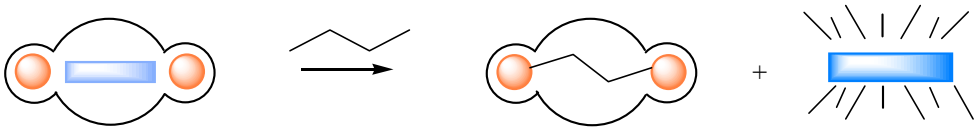


Schéma I-16 *: 'Chemosensing ensemble'*

Ces indicateurs fluorescents peuvent enfin intervenir dans la mise au point de matériaux fluorescents par incorporation dans des matières polymères, dans des matériaux hybrides (*via* le procédé sol-gel par exemple), dans des micelles.[49]

Deux types de processus photoinduits sont principalement responsables des changements photophysiques du fluoroionophore au cours du processus de complexation. Il s'agit du processus de transfert d'électron photoinduit (PET) et du processus de transfert de charge photoinduit (PCT).[47]

2.1 Mécanisme du transfert d'électron photoinduit (PET)

Le processus de transfert d'électron photoinduit ou processus PET est impliqué dans de nombreuses réactions photochimiques et par exemple, la séparation de charges photoinduites est un moyen de capturer et de stocker l'énergie solaire.[50] Le processus PET peut aussi être utilisé dans une stratégie de signalement d'évènement chimique comme par exemple, le signalement d'un évènement de complexation.[45-48] Les sondes basées sur ce principe sont la plupart du temps des sondes extrinsèques. La réponse du système souhaitable,

en particulier lorsqu'il s'agit de mettre au point des sondes de cations pour le milieu biologique,[48c] est de type 'OFF' en l'absence de cation et 'ON' en présence de cation (processus CHEF *cf.* paragraphe précédent). Dans ce cas, en l'absence de cation, le processus PET est responsable de l'inhibition de fluorescence du fluorophore tandis qu'en présence de cation, le processus PET est annihilé et la fluorescence du fluorophore est restaurée.

Ce comportement peut être rationalisé en terme de diagramme d'orbitales moléculaires simplifié aux orbitales frontières du fluorophore (dans l'état ^1S) et du récepteur. Il consiste tout d'abord à proposer un processus de transfert d'électron. Deux cas de figure peuvent être rencontrés selon qu'au cours du processus PET, le fluorophore est réduit ou au contraire oxydé. Il s'agit ensuite de prendre en compte l'influence de la présence d'un cation métallique sur le diagramme d'orbitales frontières, donc sur le processus de transfert d'électron.

a) Réduction du fluorophore au cours du processus PET

En l'absence de cation (Figure I-3), le transfert d'électron intervient du récepteur R vers le fluorophore excité F*.

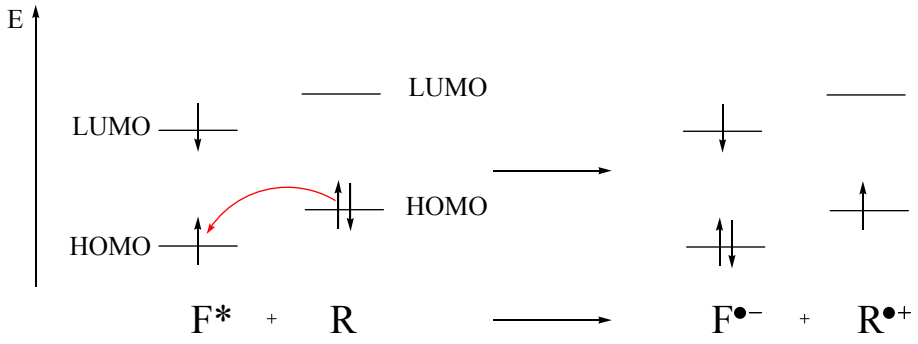


Figure I-3 *: Bilan électronique du processus PET où le récepteur R est oxydé et le fluorophore F* réduit*

Le récepteur est donc oxydé au cours du processus tandis que le fluorophore est réduit d'où l'extinction de fluorescence. Ce mécanisme d'extinction de fluorescence est opérationnel à température ambiante avec des récepteurs R riches en électrons comme des fonctions amines.[51] Une estimation de la force motrice de la séparation de charge photoinduite est donnée par l'énergie de Gibbs, $\Delta_{ET}G^0$, du transfert d'électron photoinduit. En phase gaz, cette énergie est donnée par la relation (19).

$$\Delta_{ET}G^0 = e\left[E^0\left(R^{\bullet+}/R\right) - E^0\left(F^*/F^{\bullet-}\right)\right] - \Delta E_{00}\,(F) \qquad (19)^{(1)}$$

où $E^0\left(R^{\bullet+}/R\right)$ et $E^0\left(F^*/F^{\bullet-}\right)$ sont les potentiels redox du récepteur et du fluorophore

et $\Delta E_{00}\,(F)$ la différence d'énergie entre le niveau vibrationnel le plus bas de l'état excité et le niveau vibrationnel le plus bas de l'état fondamental du fluorophore[(2)]

En solution, il faut tenir compte de la solvatation et des termes d'interaction coulombienne intervenant dans la paire d'ions formée au cours du processus de transfert de charges selon :

$$\Delta_{ET}G^0 = e\left[E^0\left(R^{\bullet+}/R\right) - E^0\left(F^*/F^{\bullet-}\right)\right] - \Delta E_{00}\,(F) - \Delta H_{solv} - \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0 r} \qquad (20)$$

où ε est la constante diélectrique du solvant et r la distance entre les ions.

Dans le cas qui vient d'être décrit, la condition pour que le processus PET intervienne est donc que l'énergie de l'état excité du fluorophore soit suffisante pour oxyder le récepteur et réduire le fluorophore.

En présence de cation, le diagramme d'orbitales frontières du module fluorophore et du module récepteur évolue (Figure I-4).

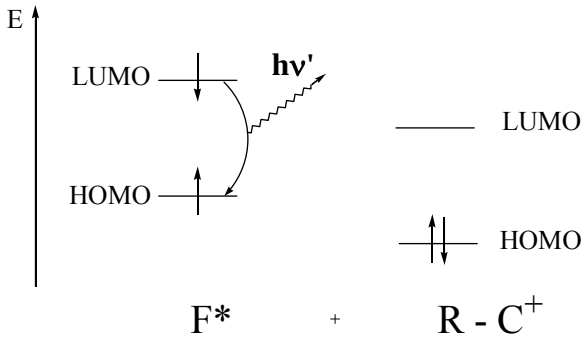


Figure I-4 *: Evolution du diagramme d'orbitales frontières des modules fluorophore et récepteur en présence de cation*

(1) Equation de Rehm Weller - cette nomenclature est déconseillée par les normes IUPAC 2007. L'expression 'Energie de Gibbs du transfert d'électron photoinduit' lui est préférée.
(2) Cette énergie est obtenue par la bande de plus haute énergie du spectre d'émission du fluorophore

Le potentiel d'oxydation du récepteur est augmenté par l'entrée du cation dans le récepteur. Le processus de transfert d'électron photoinduit est empêché et la fluorescence du fluorophore restaurée (émission hν').

b) Oxydation du fluorophore au cours du processus PET

Une seconde possibilité dont les conséquences sont similaires mais dont les raisons électroniques sont différentes, peut être rencontrée. Il s'agit d'un transfert d'électron conduisant cette fois ci à l'oxydation du fluorophore (Figure I-5).

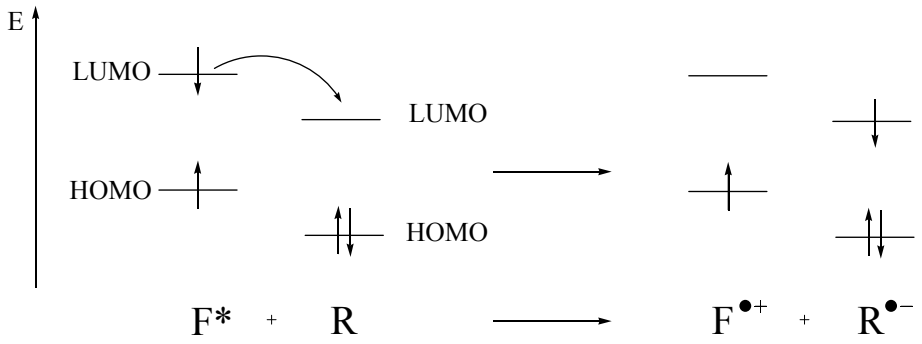


Figure I-5 *: Bilan électronique du processus PET où le fluorophore F* est oxydé et le récepteur R réduit*

Ce type de mécanisme est opérationnel avec des récepteurs pauvres en électrons ou avec des cations de métaux de transition électroactifs (le cuivre par exemple). En phase gaz, l'énergie de Gibbs du transfert d'électron photoinduit s'écrit selon l'équation (21) :

$$\Delta_{ET}G^0 = e\left[E^0\left(F^*/F^{\bullet+}\right) - E^0\left(R/R^{\bullet-}\right)\right] - \Delta E_{00}\,(F) \qquad (21)$$

En solution, les corrections dues à la solvatation sont similaires à celles prises en compte dans la relation (20).

Ce type de mécanisme peut être rencontré lorsque le potentiel de réduction du récepteur est amoindri. C'est dans certains cas ce qui est observé pour des sondes fluorescentes azotées, dans lesquelles la protonation conduit à une extinction de la fluorescence à température ambiante (sous l'effet de la diminution du potentiel d'oxydation de l'amine).[52]

Remarque : Le processus de transfert d'électron photoinduit génère une séparation de charge qui doit induire un réarrangement important de la sphère de solvatation du système. L'immobilisation des molécules de solvant en solution gelée empêche cette réorganisation et

annihile le processus PET. Si l'origine de l'inhibition de fluorescence est un processus PET, il y aura donc à basse température restauration de la fluorescence.

2.2 Mécanisme du transfert de charge photoinduit (PCT)

Lorsqu'un fluoroionophore contient un groupe électrodonneur (souvent un groupe amino) conjugué à un groupe électroaccepteur, l'absorption d'un photon provoque un transfert de charge entre ces deux groupes. L'interaction d'un cation avec le groupe électrodonneur (ou électroaccepteur) modifie l'efficacité du transfert de charge intramoléculaire et affecte les propriétés photophysiques du fluorophore.[47]

a) Interaction du cation avec le groupe électrodonneur

L'interaction du cation avec le groupe électrodonneur diminue le caractère donneur de ce dernier. Le transfert de charge photoinduit est réduit et l'état excité est plus déstabilisé par le cation que l'état fondamental (Figure I-6).

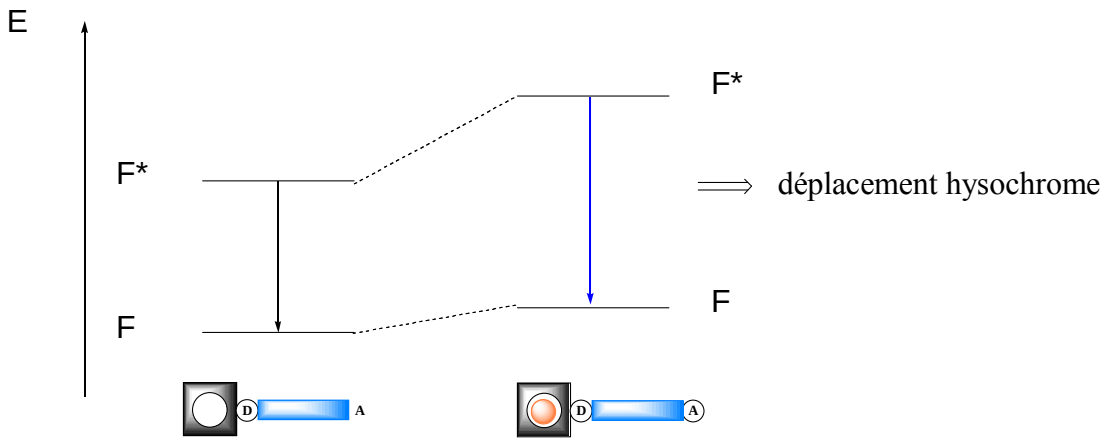


Figure I-6 *: Interaction cation-groupe électrodonneur d'un fluoroionophore de type PCT et conséquence sur le spectre d'émission*

La conséquence attendue est un déplacement hypsochrome du spectre de fluorescence. En fait, le spectre de fluorescence est très peu déplacé : ceci s'explique par le fait que le transfert de charge photoinduit réduit la densité électronique sur l'atome donneur. Cet atome ne participe alors presque plus à la coordination du cation métallique. La fluorescence est donc dans ce cas émise à partir d'espèces dans lesquelles l'interaction entre le cation et le fluorophore n'existe presque plus.

b) Interaction du cation avec le groupe électroattracteur

L'interaction du cation avec le groupe électroattracteur augmente le caractère attracteur de ce dernier. Le transfert de charge photoionduit est renforcé et l'état excité est moins déstabilisé par le cation que l'état fondamental (Figure I-7).

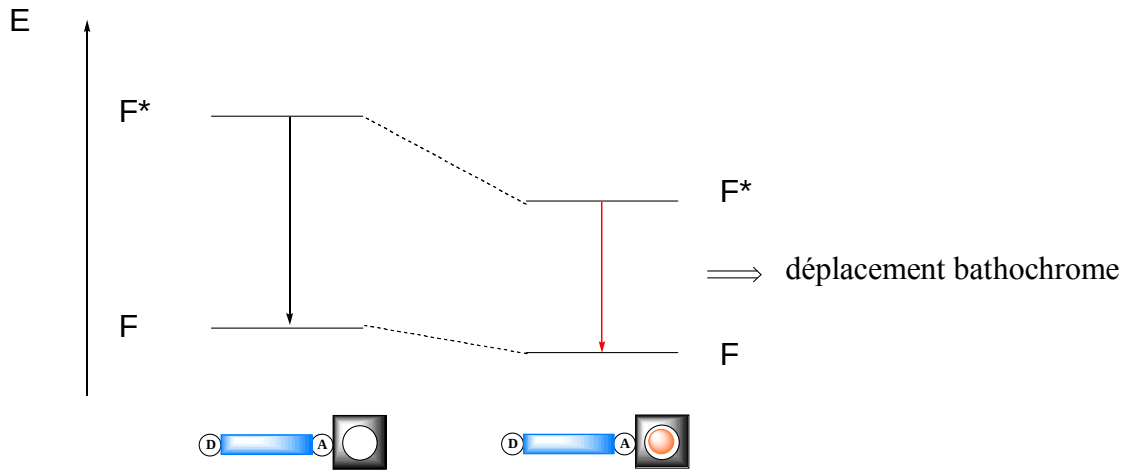


Figure I-7 *: Interaction cation-groupe électroattracteur d'un fluoroionophore de type PCT et conséquence sur le spectre d'émission*

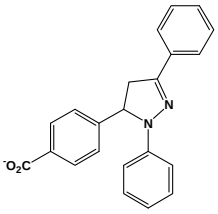
La conséquence attendue est un déplacement bathochrome du spectre de fluorescence (et du spectre d'absorption).

Dans le cadre de ce mémoire, nous avons cherché à développer des fluoroionophores de type PET pour doser des cations tels que Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}. Aussi, dans les exemples de fluoroionophores qui suivent, le processus PET est à l'origine des changements photophysiques des sondes, induits par la présence des cations métalliques.

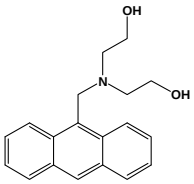
2.3 Exemples de fluoroionophores de type PET

La plupart des fluoroionophores de type PET, comme cela l'a été dit précédemment, sont constitués d'un fluorophore lié de façon covalente à une amine *via* un espaceur méthylène. Le transfert d'électron photoinduit qui s'établit entre le groupe amine et le fluorophore éteint la fluorescence de ce dernier. Quand le groupe amine interagit fortement avec un cation , le transfert d'électron est empêché et une restauration de la fluorescence est observée.

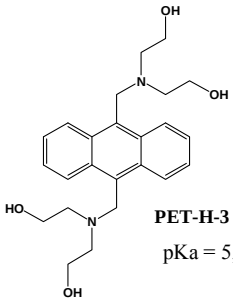
Certains indicateurs de pH fonctionnent selon le mode PET (Figure I-8).[53]



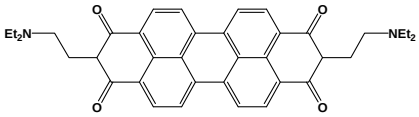
PET-H-1 [53a]
pKa = 4,4



PET-H-2 [51b]
pKa = 7,2



PET-H-3 [51b]
pKa = 5,9



PET-H-4 [53b]
pKa = 9,6

Figure I-8 *: Indicateurs de pH de type PET - pKa (eau/MeOH : 4/1 ou eau/EtOH : 1/1)*

Lorsque ces fluorophores sont non-protonés, leur rendement quantique est faible. Leur protonation induit une augmentation forte de la fluorescence.

Les fluoroionophores PET développés pour la détection et le dosage de cations sont évidemment nombreux. Le choix qui a été fait ici est de les décrire selon la topologie de l'unité réceptrice puisque celle-ci sera en grande partie, avec la nature et le nombre des atomes donneurs, responsable de l'affinité du fluoroionophore pour sa cible. L'unité réceptrice peut être un macrocycle, un cryptant, un podand, un calixarène.

a) Fluoroionophores de type PET à base de macrocycles

Le premier et le plus simple des fluoroionophores de type PET dans lequel l'unité réceptrice est un macrocycle est le composé PET-C-1. Ce capteur a été mis au point pour détecter le potassium (dans le méthanol, le rendement quantique de fluorescence augmente de 0,003 à 0,14 en présence de K^+).[54]

Les fluoroionophores dans lesquels l'unité réceptrice est un polyazamacrocycle sont hydrosolubles et ont été mis au point pour reconnaître des cations comme le zinc. La fluorescence des fluorophores PET-C-2 dépend du pH. A pH 7, la protonation des atomes d'azote du macrocycle annihile l'effet PET, rendant les ligands fluorescents et le dosage du zinc compromis. En revanche, à pH 10, l'intensité de fluorescence de ces composés augmente d'un facteur 14 en présence de zinc.[55] Si la polyamine macrocyclique est directement liée au groupement phényl d'un fluorophore comme dans les systèmes PET-C-3, le pK_a de l'amine tertiaire est abaissé et le changement d'intensité de fluorescence du système en présence de zinc est cette fois ci significatif à pH 7. A pH physiologique, les complexes de zinc sont alors

fluorescents. De plus, dans les fluoroionophores PET-C-3 les fluorophores sont de type fluorescéine ou dichlorofluorescéine : ils sont excitables dans le domaine visible et donc sont tout à fait indiqués pour les applications biologiques.[56]

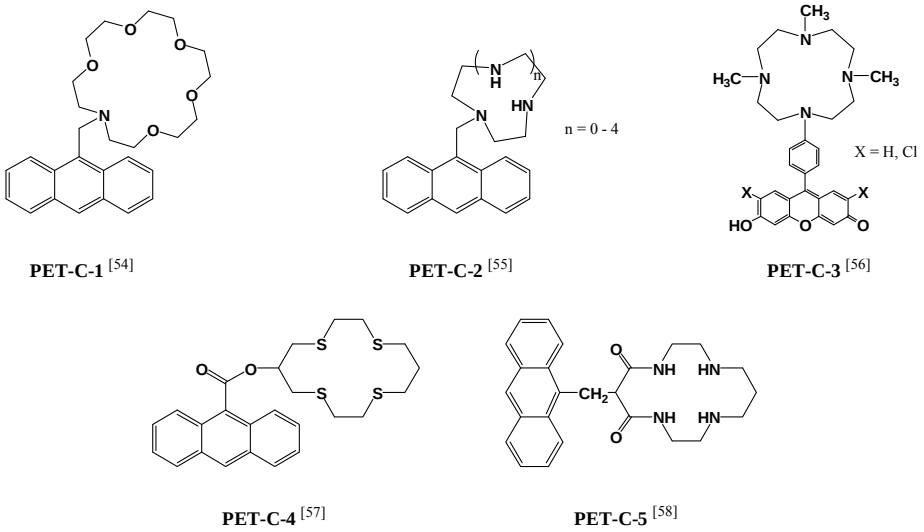


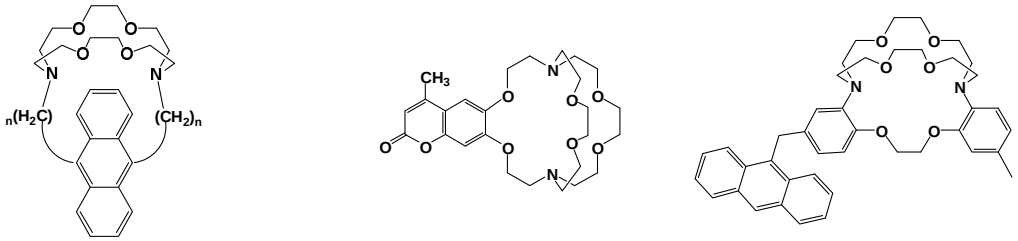
Figure I-9 *: Fluoroionophores de type PET à base de macrocycles*

Dans le composé PET-C-4, les atomes donneurs du macrocycle sont des atomes de soufre pour lesquels l'ion Cu^{II} possède une très bonne affinité. Le mode de fonctionnement de ce capteur est basé sur le principe PET mais diffère des mécanismes précédents puisque la fluorescence est annihilée en présence de cuivre par un transfert d'électron entre le fluorophore et le centre métallique.(3) [57] Le même mode de fonctionnement est observé pour le composé PET-C-5 en présence de cuivre.[58] Il faut remarquer que la présence de cations tels que Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+} et Ni^{2+} ont un effet négligeable sur la fluorescence de PET-C-4.

b) Fluoroionophores de type PET à base de cryptants

Les cryptants PET-C-6, PET-C-7 et PET-C-8 sont des exemples de structures bismacrocycliques utilisées pour détecter et doser le potassium.[59,60,61]

(3) Le transfert PET entre le fluorophore et le cuivre consiste en une oxydation du fluorophore et une réduction du métal. Il met donc en jeu ici le couple Cu^{II}/ Cu^{I}.



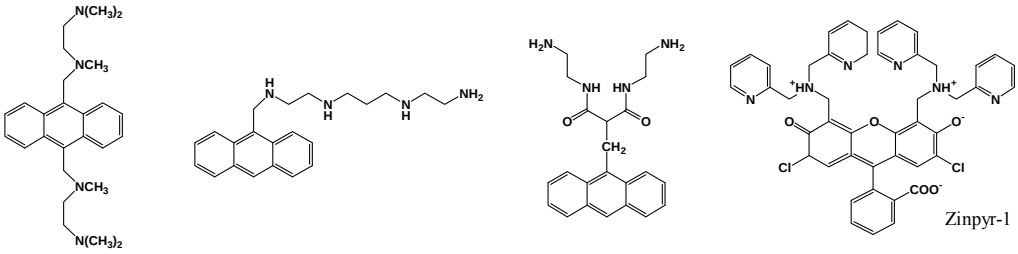
PET-C-6 [59] **PET-C-7** [60] **PET-C-8** [61]

Figure I-10 *: Fluoroionophores de type PET à base de cryptants*

La cavité des cryptants PET-C-7 et PET-C-8 est en effet bien adaptée à la complexation de K^+. PET-C-7 a été utilisé pour suivre les concentrations en K^+ dans le sang et à travers les membranes biologiques.[62] Le comportement de ce capteur, comme celui de PET-C-8,[63] dépend du pH en raison de la protonation possible des atomes d'azote de la cavité. Cet inconvénient peut être contourné par inclusion dans la cavité de cycles benzéniques à proximité des atomes d'azote. Dans ces conditions ceux-ci participent par leur doublet au système aromatique ce qui a pour effet d'abaisser leur pK_a et donc de décaler de domaine de pH dans lequel le processus PET opère.

c) Fluoroionophores de type PET à base de podands et de chélatants azotés

Les récepteurs des fluoroionophores PET-C-9[64] et PET-C-10[65] sont des polyamines linéaires choisies pour leur affinité vis-à-vis des ions de la première série de transition, en particulier vis-à-vis du zinc. Le comportement fluorescent de ces capteurs dépend du pH : la fenêtre de pH dans laquelle ils peuvent être utilisés est limitée. De plus, ils présentent une affinité forte pour Cu^{2+}.



PET-C-9 [64] **PET-C-10** [65] **PET-C-11** [66] **PET-C-12** [67]

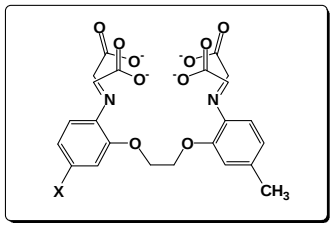
Figure I-11*: Fluoroionophores de type PET à base de podands azotés*

Le fluoroionophore PET-C-11[66] peut signaler la présence de Cu^{2+} et de Ni^{2+} ainsi que favoriser l'oxydation de ces cations. L'extinction de fluorescence de l'anthracène dans

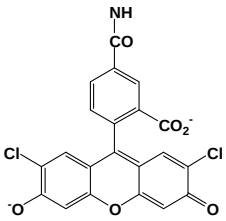
PET-C-11 en présence du cuivre et du nickel fait ici appel à un mécanisme PET du métal au degré redox +2, vers le fluorophore.

Le fluoroionophore PET-C-12[67] comporte comme fluorophore la fluorescéine et comme récepteur l'unité chélatante bis(2-pyridyl méthyl)amine. Ce composé connu aussi sous la nomenclature Zinpyr-1 a été conçu pour détecter et doser le zinc. En présence de Zn^{2+}, en conditions physiologiques, le rendement quantique de fluorescence de PET-C-12 augmente de 0,39 à 0,87. Des concentrations de l'ordre de la nanomole peuvent être détectées. Par ailleurs PET-C-12 ne possède pas d'affinité mesurable pour Ca^{2+} et Mg^{2+}.

Les récepteurs possédant des fonctions carboxyliques sont efficaces pour complexer des cations durs divalents tels que Ca^{2+} et Mg^{2+}. Un certain nombre de fluoroionophores spécifiques du Ca^{2+} ont été mis au point sur ce principe pour doser ce cation à l'échelle de la micromole. Les fluoroionophores PET-C-13, PET-C-14 et PET-C-15 [68] sont spécifiques du calcium. En présence Ca^{2+}, les changements dans les rendements quantiques de fluorescence s'accompagnent de changements similaires dans la durée de vie des états excités.

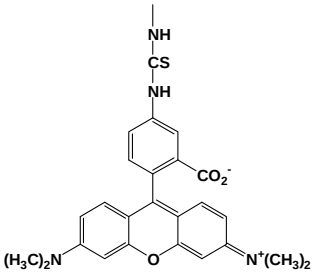


X =



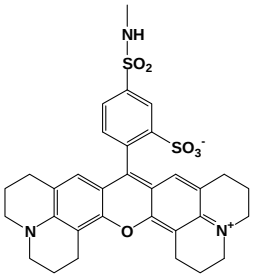
PET-C-13 [68]

Calcium Green



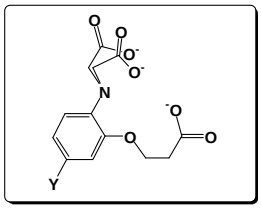
PET-C-14 [68]

Calcium Orange

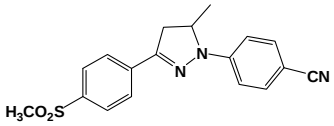


PET-C-15 [68]

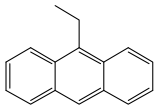
Calcium Crimson



Y =



PET-C-16 [69]



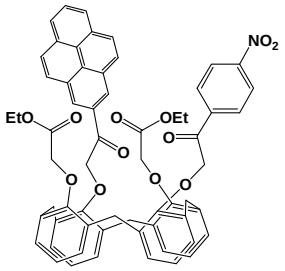
PET-C-17 [69]

Figure I-12 *: Fluoroionophores de type PET à base de chélatants azotés*

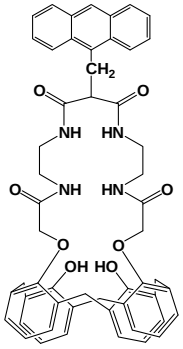
Les composés PET-C-16 et PET-C-17[69] dans lesquels la cavité complexante est de plus petite taille, sont utilisés quant à eux comme capteurs du magnésium.

d) Fluoroionophores de type PET à base de calixarènes

Le fluoroionophore PET-C-18[70] comporte quatre fonctions carbonyle, deux d'entre elles étant liées à un groupement pyrène et à un groupe nitrobenzène situés sur des positions opposées de l'anneau inférieur du calixarène. Ce composé reconnaît sélectivement le sodium, le rendement quantique de fluorescence augmentant de 0,0025 à 0,016 en présence de Na^+. La complexation avec Na^+ empêche une approche du groupement pyrène et du groupe nitrobenzène, réduisant ainsi la probabilité de transfert d'électron photoinduit.



PET-C-18 [70]



PET-C-19 [71]

Figure I-13 *: Fluoroionophores de type PET à base de calixarènes*

Le calixarène PET-C-19 contenant une unité dioxotétraaza- , signale la présence de cations tels que Zn^{2+} et Ni^{2+}.[71] L'interaction de Zn^{2+} avec les groupes amino induit une augmentation de fluorescence tandis que l'interaction avec Ni^{2+} induit une extinction de

fluorescence. Dans les deux cas le mécanisme sous jacent est de type PET (annihilé dans le cas du zinc et opérant dans le cas du nickel).

Ces différents exemples illustrent donc l'intérêt de développer des capteurs dont le fonctionnement est basé sur le mode de transfert d'électron photoinduit. L'avantage certainement le plus important de ces capteurs est l'amplitude des modifications observées pour l'intensité de fluorescence, lorsque les fluoroionophores sont en présence de cations à détecter et doser.

3. Principales sondes fluorescentes pour la détection et le dosage du zinc

3.1 Intérêt biologique du zinc

De façon générale, il est important de savoir détecter des cations impliqués dans des processus biologiques que ce soit à des fins de dosage ou bien à des fins cognitives. Les ions alcalins ou alcalino-terreux tels que Na^+ , K^+, Mg^{2+} et Ca^{2+}(4) sont impliqués dans des processus tels que la transmission de l'influx nerveux, la contraction musculaire, la régulation de l'activité cellulaire. En médecine, suivre la concentration de ces cations dans le sang ou les urines est important d'un point de vue diagnostic. L'enjeu est par exemple de détecter sélectivement le potassium en présence de sodium. A cette liste, on peut aussi ajouter le dosage de Li^+ dans le sérum pour le suivi des patients traités pour des symptômes maniaco-dépressifs.

Depuis quelques années, les efforts des chimistes et biochimistes se sont portés sur la détection de Zn^{2+}. Le zinc(II) est le deuxième métal de transition le plus abondant dans le système biologique après le fer(II). Il ne présente aucune modification de son degré d'oxydation et ce, quel que soit son environnement de coordination. Chez un être humain adulte, la teneur en zinc varie entre 2 et 3 g.(5) [72,73] Il existe en grande concentration dans le système nerveux (0,1- 0,5 mM). Le zinc existe aussi sous forme libre, sa concentration variant de 10^{-11} M dans le cytoplasme à 10^{-3} M dans les vésicules.[74]

Du fait de sa structure électronique (d^{10}), Zn^{2+} est un métal 'transparent' aux techniques spectroscopiques et magnétiques usuelles.[72,75] Pour cette raison, le rôle biologique de ce métal a mis un certain temps avant d'être élucidé.

Le rôle le plus important du zinc est structural.[74] Il intervient comme cofacteur dans certaines métalloprotéines. Parmi l'ensemble de ces protéines, la famille la plus connue est

(4) Concentrations de quelques cations dans le sang (pH 7.35 - 7.42) et les *urines* (pH 6 - 7) :
Na^+ : 143 mM - *125 mM* ; K^+ : 5 mM - *65 mM* ; Mg^{2+} : 1mM - *4 mM* ; Ca^{2+} : 1,5 mM - *4 mM*
(5) La quantité de cuivre chez un être humain adulte est de 250 mg

celle des facteurs de transcription (III A) dont les 'doigts à zinc' font partie (Schéma 1-17).[72,73,75b] Dans ces protéines, l'environnement du zinc est tétraédrique, la sphère de coordination étant constituée de deux groupements histidine et de deux groupements cystéine.

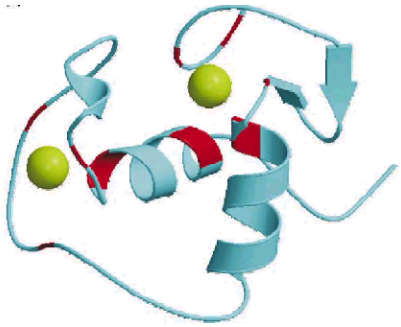


***Schéma 1-17**: Structure des "doigts à zinc" (les ions Zn(II) sont représentés par des sphères)*

Le zinc a un en rôle génétique important, il se trouve dans les grains de pollen et participe à la formation de la membrane interne des cellules reproductrices mâles.[4] De même, ce métal intervient dans la régulation de l'expression génétique, dans la duplication des ADN et ARN (par l'intermédiaire des protéines métallo-régulatrices) et dans le renouvellement du système immunitaire. La présence du zinc est également très importante dans la formation des protéines responsables de la sécrétion de l'insuline ainsi qu'au niveau de la croissance chez les enfants.

A côté de ses rôles structuraux et génétiques, le zinc possède un rôle catalytique. C'est le cas dans plusieurs métallo-enzymes d'hydrolyse, telle que l'anhydrase carbonique.[72,73,75] Cette enzyme intervient dans la conversion du dioxyde de carbone en bicarbonate. Dans cette enzyme, le zinc est coordiné par trois histidines, le quatrième site de coordination étant disponible pour la coordination d'une molécule d'eau. L'espèce active dans le processus catalytique est une espèce du type Zn-OH$^-$ dans laquelle la déprotonation de la molécule d'eau, assistée par l'acidité du cation, intervient à pH physiologique (Schéma 1-18).

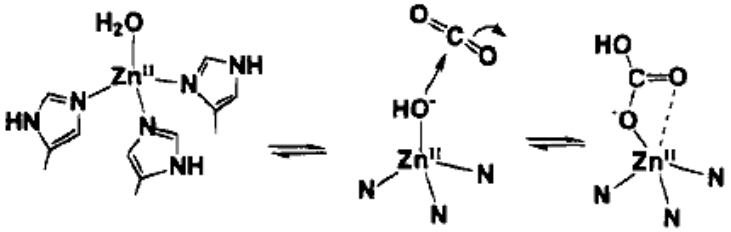


***Schéma 1-18** : Activation du CO_2 par l'anhydrase carbonique*

Récemment enfin, le rôle du zinc dans les maladies neurodégénératives a été évoqué.[76] Le zinc intervient au niveau synaptique et semble moduler l'excitabilité du cerveau en permettant au signal nerveux de se propager. Dans ce cas, les transmetteurs du zinc véhiculent ce cation à travers les membranes vers les vésicules, où la concentration en zinc est d'environ 30 µM durant une forte excitation (Schéma 1-19). [77]

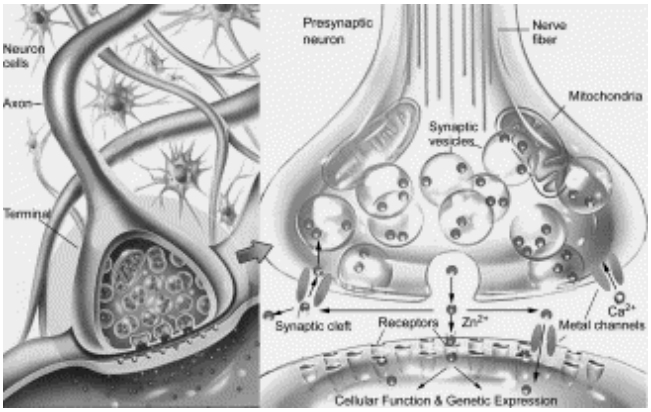


Schéma 1-19 *: Schéma représentant les voies de signalisation du zinc(II) dans la zone synaptique.[77]]*

Tous ces différents points soulignent donc l'importance du zinc d'un point de vue biologique. Il est donc évident qu'une carence en zinc ou un désordre métabolique en zinc peuvent être préjudiciables. [72,78] Il est donc nécessaire de pouvoir détecter et doser ce cation en milieu biologique dans une gamme de concentration assez large. Si la quantité totale dans les cellules est facile à détecter par absorption atomique et ICP-MS, le dosage de la quantité libre est difficile et demande des nouvelles techniques telles que la fluorescence (technique qui répond largement aux exigences de la médecine et surtout l'imagerie médicale).

3.2 Exemples de sondes fluorescentes pour la détection et le dosage du zinc

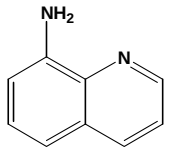
Le zinc est un cation 'inoffensif' du point de vue de ses propriétés photophysiques, son inertie redox excluant toute possibilité de transfert d'électron photoinduit vers le fluorophore. En ce sens, son comportement est similaire à celui des cations du bloc s. Comme le paragraphe précédent l'a montré, l'exploration des différents rôles physiologiques de ce cation est d'importance. Dans ce but, un certain de nombre de sondes fluorescentes, ont été mises au point, qu'elles soient intrinsèques ou extrinsèques. Dans le cas de sondes extrinsèques, les récepteurs utilisés pour chélater spécifiquement le zinc sont en nombre assez limité. Ces récepteurs sont soit des ligands de type (2-méthylpyridine) amine, soit des ligands

macrocycliques (cyclen en particulier) ou des bioligands analogues à ceux présents dans les protéines de type 'doigt à zinc'. Les fluorophores possibles sont essentiellement de type fluorescéine ou dansyl.[72,79]

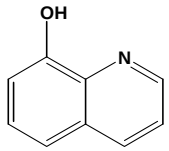
a) Sondes fluorescentes intrinsèques

Rappelons que dans ces structures, l'unité fluorescente porte les fonctions complexantes vis-à-vis des cations métalliques.

Les premiers fluorophores mis au point pour détecter et doser le zinc sont des dérivés de quinoline. Les exemples les plus représentatifs de cette catégorie de fluorophores sont la 8-aminoquinoline (8-AQ) et la 8-hydroxyquinoline (8-HQ ou oxine) (Schéma I-20).[80]



8-AQ



8-HQ

Schéma I-20 *: Fluorophores de type quinolinique*

Quel que soit le pH, ces molécules sont non fluorescentes[81] du fait de l'existence de liaison hydrogène intramoléculaire (entre l'atome d'azote hétérocyclique et le groupement OH ou NH_2) ou intermoléculaire (avec le solvant).[82,83] Lorsque ces molécules sont chélatées par le zinc, le transfert d'électron, précédemment responsable de l'extinction de fluorescence, est empêché : une émission de fluorescence intense intervient.

Du fait de la réactivité du groupe alcool ou du groupe amino vis-à-vis d'espèces biologiques actives, ces fluorophores ne sont pas utilisables en milieu biologique. Ils ont néanmoins servi de point de départ à la synthèse de dérivés quinoliniques mieux adaptés comme le TSQ (Schéma I-21).[84]

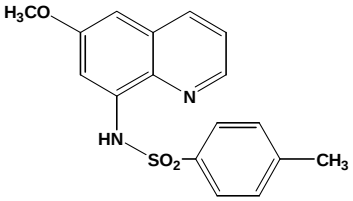
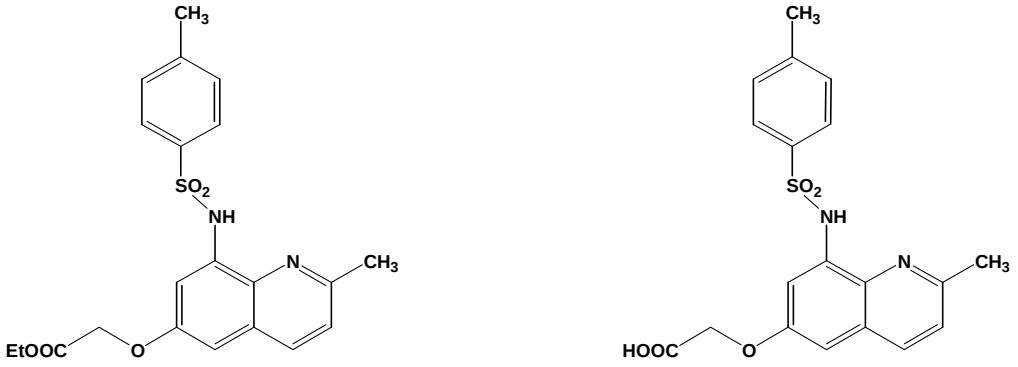


Schéma I-21 *: Structure du* ***TSQ*** *– Exc : 334 nm, Em : 495 nm*

Le TSQ ou 6-méthoxy-8-*p*-toluenesulphonamido-quinoline, est le premier composé utilisé pour détecter le zinc par imagerie *in vitro*. La fluorescence du TSQ est très faible tandis que celle de son complexe de zinc,(6) sous excitation dans l'UV à pH 7,4, possède une forte intensité de fluorescence avec un maximum d'émission à 495 nm et un rendement quantique de 0,1.[85] TSQ est sélectif vis-à-vis du zinc puisqu'il le détecte même en présence de calcium et magnésium en quantité physiologique. Néanmoins, TSQ possède l'inconvénient majeur de ne pas être soluble dans l'eau (les solutions de TSQ doivent être préparées dans l'éthanol ou le DMSO).

Dans le but d'améliorer la solubilité du TSQ, des groupements acides ou esters ont été greffés sur la structure de ce composé. Ces nouveaux fluorophores constituent la famille des composés Zinquin (Schéma I-22).[86,87,88]



Zinquin – forme ester **Zinquin** – forme acide

Schéma I-22 *: Structure des composés Zinquin – Exc : 370 nm, Em : 490 nm*

L'introduction des groupements esters ou acides permet l'internalisation des fluorophores dans la cellule, au niveau du cytoplasme. Après que le fluorophore est entré dans la cellule, la partie ester peut être hydrolysée par les estérases intracellulaires pour générer une forme carboxylate anionique (Schéma I-23). Cette forme complexe alors Zn^{2+}, sous forme de complexe ligand : Zn 1 :1 et/ou 2 :1.

(6) A priori, le complexe TSQ : Zn^{2+} est un complexe de stoechiométrie 2 :1.

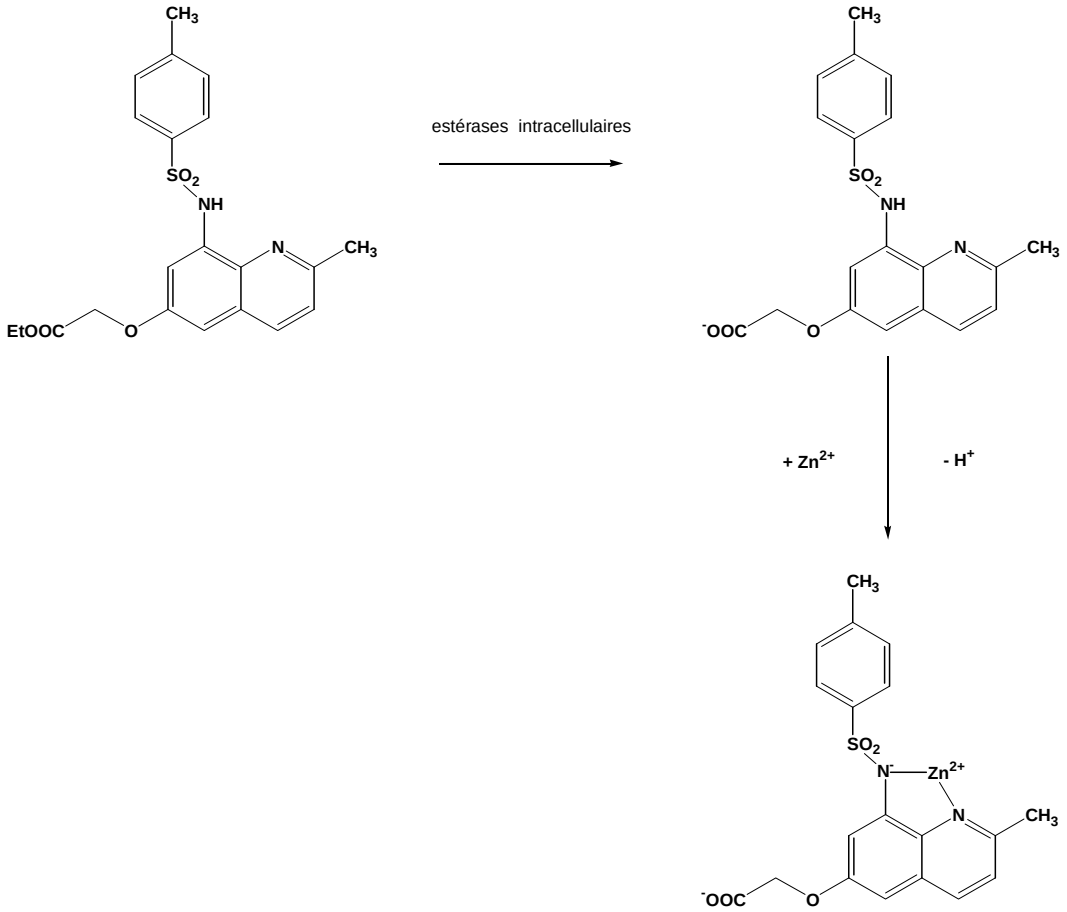
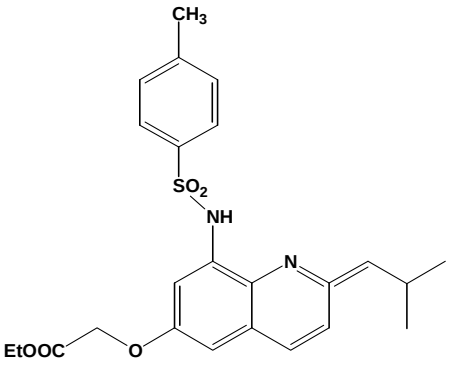


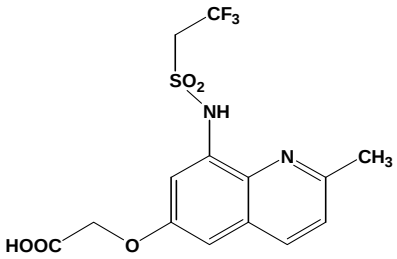
Schéma 1-23 *: Complexation intracellulaire du Zn^{2+} par Zinquin – formation du complexe 1 :1*

La capacité de ce fluorophore à franchir la membrane cellulaire et à s'associer au zinc intracellulaire libre, a contribué au succès de cette sonde pour déterminer le rôle de ce cation dans la croissance cellulaire.

Diverses améliorations ont été aménagées sur la structure Zinquin pour améliorer sa fluorescence et sa sélectivité. Les composés mis au point sont indiqués dans le Schéma I-24.[89,90] Du fait de l'extension du système conjugué, l'analogue isobutényl est trois fois plus fluorescent que le Zinquin.



a



b

Schéma I-24 *: Analogues des composés Zinquin : a- isobutényl, b- trifluoroéthylsulfonyl*

Une autre limite des sondes à motif quinoline est la nécessité d'utiliser des longueurs d'onde excitatrices situées dans l'UV. L'aménagement structural des sondes consiste alors à condenser un groupement dansyl sur l'aminoquinoline de façon à déplacer la longueur d'onde excitatrice vers les faibles énergies. (Composé Danquin Schéma I-25)[91]

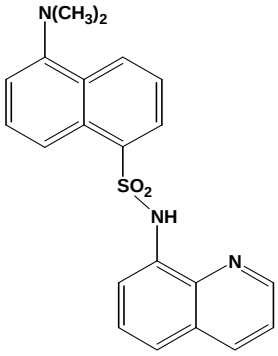


Schéma I-25 : *Structure du composé* ***Danquin***

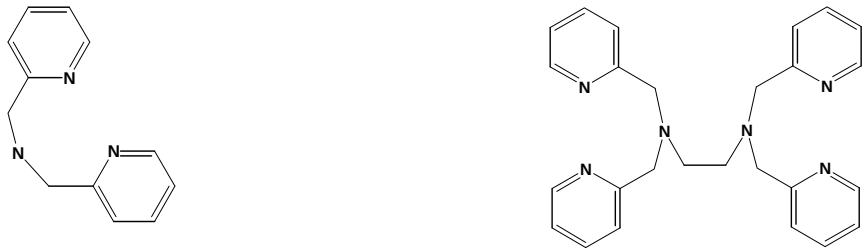
Une fois coordiné au zinc, la fluorescence de ce composé est déplacée vers le bleu et l'intensité de fluorescence est augmentée. Ce comportement est lié à la formation d'un complexe dans lequel le ligand est déprotoné.[92]

b) Sondes fluorescentes extrinsèques

Rappelons que l'architecture de ces sondes est de type 'récepteur – espaceur – fluorophore'. Les exemples de sondes extrinsèques détaillés ci-après auront comme récepteur soit un ligand de type bis(2-pyridylméthyl) amine soit un ligand de type polyamine.

b1 –Ligands de type bis(2-pyridylméthyl) amine

Les ligands de type bis(2-pyridylméthyl) amine (ou di-2-picolylamine DPA) et N, N, N', N'-tetrakis(2-pyridylméthyl)ethylèneamine (ou TPEN), sont des chélateurs neutres spécifiques du zinc, comportant respectivement trois et six atomes d'azote donneurs (Schéma I-26). Comme ces ligands sont protonables, leur comportement fluorescent sera dépendant du pH.



a b

Schéma I-26 : *Structure des ligands a-* ***DPA*** *et b-* ***TPEN***

L'un des premiers fluorophores dérivés du DPA possède comme groupement fluorescent un groupement anthrylméthyl (composé DPA-1 Schéma I-27).

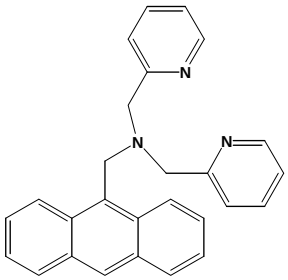


Schéma I-27 *: Structure du fluoroionophore* ***DPA-1***

Ce composé est un fluoroionophore de type PET pour lequel la fluorescence est exaltée en présence de protons. En présence du zinc, la fluorescence est augmentée d'un facteur soixante dix sept.

Dans le but de décaler la longueur d'onde d'excitation des fluoroionophores vers la région visible, le fluorophore peut être avantageusement remplacé par un fluorophore de type fluorescéine.[7] La substitution du ligand DPA par des dérivés de la fluorescéine conduit à la

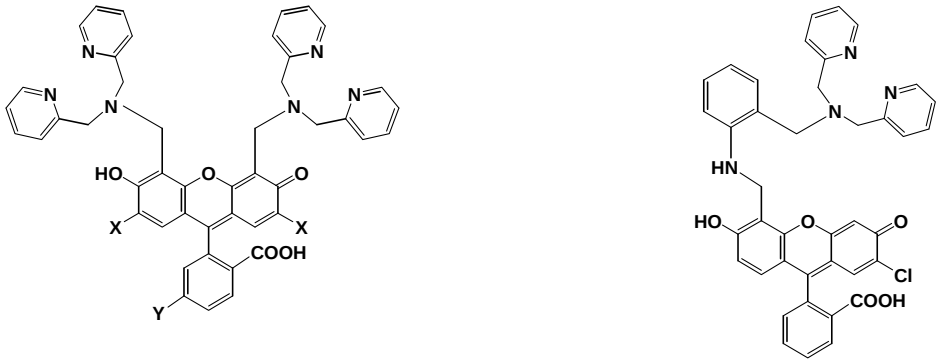
[7] Le comportement fluorescent de la fluorescéine est lui-même dépendant du pH et est limité à une zone de pH restreinte (au alentours de pH 6,7, l'espèce dont la fluorescence est la plus importante étant la forme anionique). Afin d'obtenir une fluorescence importante sur une gamme de pH plus vaste, des groupements électroattracteurs convenablement disposés peuvent être ajoutés.

famille des composés Zinpyr. Les premiers éléments de la famille mis au point et utilisés pour doser le zinc à l'échelle micromolaire sont représentés dans le Schéma I-28.[93,94]

a b

Schéma I-28 *: Premiers composés de la famille Zinpyr : a- Newport Green, b- Newport Green PDX*

Ces deux fluoroionophores voient leur fluorescence augmenter d'un facteur trois en présence de zinc. Ils sont tous les deux sélectifs vis-à-vis du zinc et insensibles au calcium. Malgré une augmentation de fluorescence intéressante, l'affinité de ces ligands pour le zinc reste encore faible, ce qui est un handicap pour une détermination quantitative de la teneur en zinc. Dans le but d'améliorer l'affinité de ces systèmes pour le zinc, des atomes coordinants supplémentaires peuvent être ajoutés sur le squelette fluorescéine (Schéma I-29).[67,95,96]



a- X = Cl, Y = H : **ZP1**
b- X = H , Y = H : **ZP2**

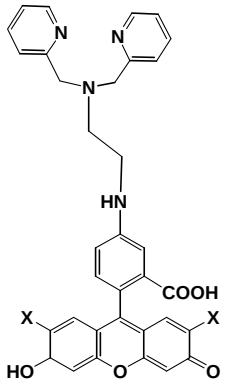
ZP3

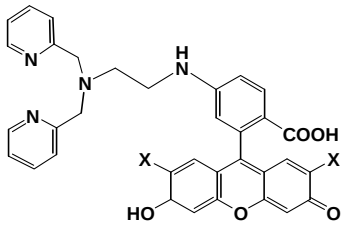
Schéma I-29 : *Dérivés Zinpyr de type ZP*

La structure cristallographique du complexe de zinc obtenu à partir du ligand ZP1 montre que ce dernier est un complexe dinucléaire ($[Zn_2ZP1]^{2+}$) dans lequel le zinc est pentacoordiné. Cette structure va dans le sens d'une forte affinité des ligands ZP1 et ZP2 pour le zinc. En solution aqueuse, le processus de complexation de ces ligands se fait en deux étapes, chacune de ces étapes correspondant à la complexation d'un ion zinc par chacune des unités DPA. Seule l'insertion du premier cation s'accompagne d'une exaltation de la fluorescence. De ce fait, la coexistence en solution de complexes mono et dinucléaires de zinc ainsi qu'un comportement en fluorescence inattendu compromet l'utilisation des ligands ZP1 et ZP2 pour une analyse quantitative du zinc.

Afin de lever l'ambiguïté quant à la stœchiométrie du complexe de zinc formé, le ligand ZP3 a été synthétisé.[96] Seule, une seule unité complexante DPA est présente et un atome d'azote donneur de type aniline permet de décaler la zone de pH pour laquelle le processus PET est opérant. Si le ligand ZP3 est faiblement fluorescent, son complexe de zinc est vingt deux fois plus fluorescent.

Une nouvelle combinaison du ligand DPA avec cette fois ci une 5- ou 6-amino fluorescéine permet d'accéder à la famille des composés ZnAF (Schéma I-30).[97,98,99]





a- X = H : ZnAF1 b- X = H : ZnAF2

c- X = F : ZnAF1F d- X = H : ZnAF2F

Schéma I-30 : *Dérivés Zinpyr de type ZnAF*

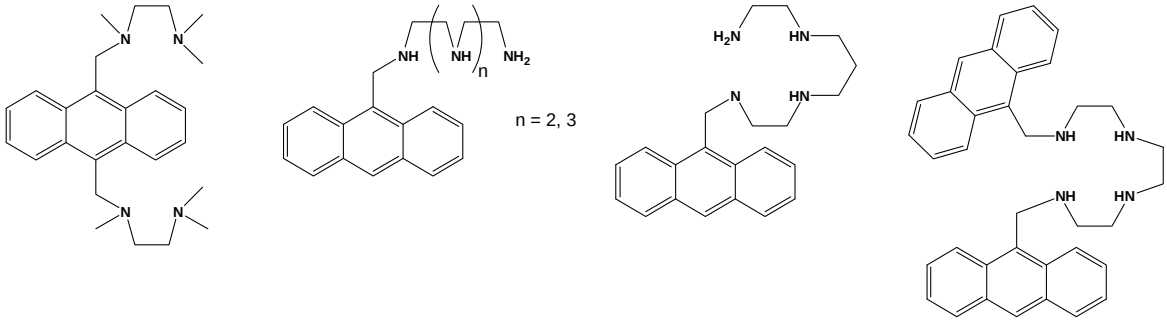
Le groupement amine secondaire se comporte comme un inhibiteur fort du transfert d'électron et les ligands ZnAF1 et ZnAF2 voient leur intensité de fluorescence augmenter en présence du zinc au dessus de pH 7. La présence de groupements fluor sur la fluorescéine diminue la densité électronique du système conjugué, ce qui a pour conséquence de décaler

vers les basses valeurs de pH la zone pour laquelle l'augmentation de fluorescence des ligands ZnAF1F et ZnAF2F en présence de zinc est exploitable.

b2 –Ligands de type polyamine

Les polyamines sont de bons complexants du zinc et à ce titre, peuvent être utilisées comme récepteurs dans les fluoroionophores. Les atomes d'azote constituent de bons donneurs d'électrons pour les fluorophores adjacents, ce qui confère au fluoroionophore un comportement en fluorescence dépendant du pH.

Les premiers fluorophores comportant des récepteurs polyamines sont reportés dans le Schéma I-31.[100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108]

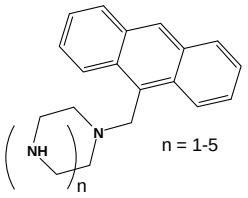


ZnPol1[100, 101] ZnPol2[102] ZnPol3[103, 107] ZnPol4[108]

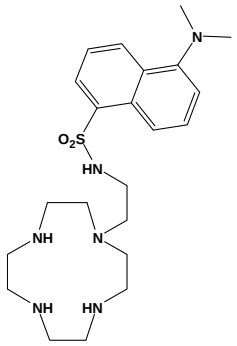
Schéma I-31 : *Fluoroionophores à récepteurs polyamines linéaires*

Tous ces fluoroionophores voient leur intensité de fluorescence exaltée en présence de zinc mais aussi de cadmium. En revanche, leur fluorescence est inhibée en présence de cuivre, de nickel ou de mercure. Le dosage du zinc par ces fluoroionophores est toutefois peu développé du fait d'une part, de leur affinité faible pour ce cation et d'autre part du fait des divers niveaux de protonation des ligands.

Les polyamines macrocyliques possèdent une meilleure affinité pour le zinc, en particulier la cavité cyclen. Pour cette raison, plusieurs fluoroionophores dans lesquels la partie réceptrice est généralement un cyclen, ont été mis au point. (Schéma I-32)[79, 55, 109, 110, 111, 112, 113, 56]



ZnPoc1[55]

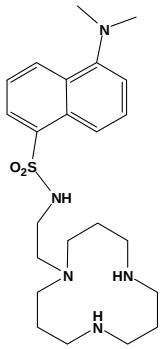


ZnPoc2[109]

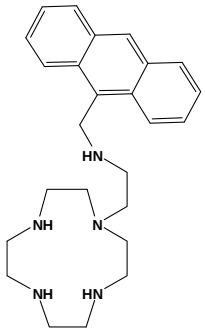
λ_{exc} = 320 nm, λ_{em} = 582 nm

Φ (ZnPoc2) = 0,03

Φ (complexe Zn) = 0,11



ZnPoc3[110]

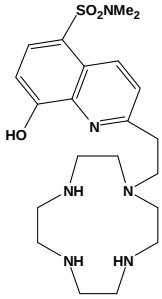


ZnPoc4[111]

λ_{exc} = 368 nm, λ_{em} = 416 nm

Φ (ZnPoc4) = 0,14

Φ (complexe Zn) = 0,44

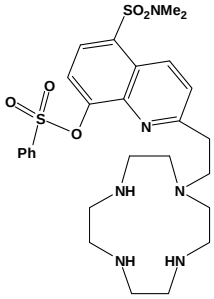


ZnPoc5[112]

λ_{exc} = 338 nm, λ_{em} = 478 nm

Φ (ZnPoc5) = 0,0022

Φ (complexe Zn) = 0,044



ZnPoc6[113]

λ_{exc} = 328 nm, λ_{em} = 512 nm

Φ (ZnPoc6) = 0

Φ (complexe Zn) = $8,4\times10^{-3}$

Schéma I-32 : *Fluoroionophores à récepteurs polyamines cycliques et caractéristiques photophysiques des principaux composés*

Les premiers fluoroionophores de ce type mis au point sont les composés ZnPoc1[55] parmi lesquels, celui basé sur un ligand cyclen présente, en milieu basique, une fluorescence quatorze fois plus importante en présence de zinc. L'inconvénient du système est qu'en l'absence de cation, la fluorescence du ligand seul à pH neutre est aussi importante. Ceci est à nouveau la conséquence dans les polyamines protonées de l'inhibition du processus PET.

Depuis ces premiers travaux, de nombreux efforts ont été consentis dans le but d'améliorer la réponse en fluorescence et la sélectivité de ceux-ci. Une amélioration décisive a été apportée par l'introduction en tant que fluorophore, d'un groupement dansyl dans le composé ZnPoc2[109] (ou son analogue ZnPoc3[110]). L'affinité de ZnPoc2 pour le zinc se manifeste par une constante de complexation élevée (K = $10^{20,8}$). Le complexe est de

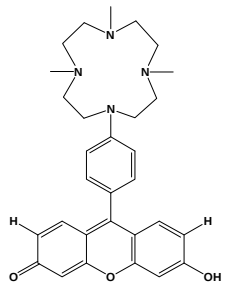
stoechiométrie 1 :1. Dans le complexe, le zinc est pentacoordiné par les quatre atomes d'azote du macrocycle et l'atome d'azote du groupement sulfonamide. Les caractéristiques photophysiques du complexe de zinc sont une longueur d'onde excitatrice de 320 nm, une longueur d'onde d'émission de 582 nm et rendement quantique Φ pour le complexe de 0,11 (Φ (ZnPoc2) = 0,03).

Le composé ZnPoc4[111] possède des caractéristiques de complexation et de fluorescence vis-à-vis du zinc voisines (K = 17,6, λ_{exc} = 368 nm, λ_{em} = 416 nm, Φ (ZnPoc3) = 0,14 Φ (complexe) = 0,44).

Le composé ZnPoc5[111] voit son intensité de fluorescence augmenter d'un facteur 17 en présence de zinc. Le complexe de zinc est toujours de stoechiométrie 1 :1. Dans le complexe, le zinc est hexacoordiné, les quatre atomes d'azote du macrocycle, l'atome d'azote quinolinique et la fonction alcool déprotonée en position 8 du cycle quinolinique participant à la sphère de coordination du cation.

Le composé ZnPoc6[112] est l'analogue 'intelligent' de ZnPoc5. Le groupement benzène-sulfonyle en position 8 du cycle quinolinique augmente la perméabilité cellulaire du fluoroionophore. Celui-ci pénètre alors beaucoup plus facilement à l'intérieur des cellules et complexe le zinc intracellulaire libre. La complexation du fluoroionophore par le zinc s'accompagne de l'hydrolyse du groupement benzène-sulfonyle. Le groupement benzène-sulfonyle se comporte donc comme un groupement sacrificiel dont la perte se traduit à l'intérieur des cellules, par l'augmentation de l'intensité de fluorescence du système.

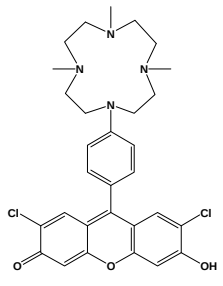
Dans le but de décaler vers la région visible les longueurs d'onde excitatrices des fluoroionophores, des fluorophores de type fluorones ont été greffés sur des cavités cyclen (Schéma I-33).[56]



ZnACF1[56]

λ_{exc} = 495 nm, λ_{em} = 515 nm

Φ (complexe Zn)/ Φ(ZnACF1) = 14



ZnACF2[56]

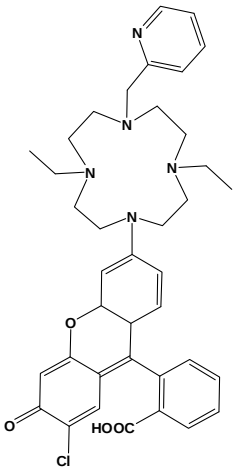
λ_{exc} = 505 nm, λ_{em} = 525 nm

Φ (complexe Zn)/ Φ(ZnACF2) = 26

Schéma I-33 : *Fluoroionophores à récepteurs polyamines cycliques et fluorophores de type fluorone*

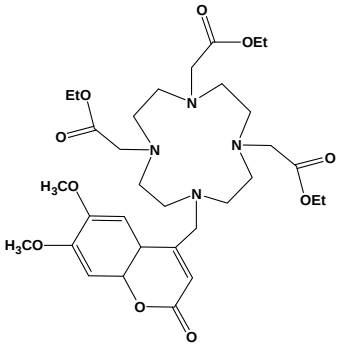
Si les propriétés photophysiques des composés sont améliorées par rapport aux systèmes ZnPOC, leur affinité pour le zinc est moindre. De plus, la vitesse de complexation du zinc par les systèmes ZnACF est plus lente.

Il en est de même pour le fluoroionophore RF-2 à fluorophore Rhodafluor,[114] pour lequel d'une part la constante de complexation du zinc est relativement faible et d'autre part, l'augmentation de fluorescence en présence de zinc est modeste (ϕ_{RF-2} = 0,36 et ϕ_{ZnRF-2} = 0,56).



ZnRF2[114]

a



ZnMCM[115]

b

Schéma I-34 : *Fluoroionophores à récepteurs polyamines cycliques et fluorophores de type : a- Rhodafluor, b- méthyl coumarine*

La substitution du cyclen par un groupe méthyl-coumarine permet d'accéder à un nouveau type de sonde ZnMCM.[115] Ce type de fluoroionophore peut être utilisé pour le suivi du zinc par imagerie des cellulaires tumorales de la glande pituitaire chez le rat mais à nouveau, la vitesse de complexation de ZnMCM vis-à-vis du zinc est malheureusement relativement lente.

C- EN CONCLUSION

L'ensemble des exemples décrits dans ce chapitre montre l'intérêt de savoir détecter les cations et en particulier le zinc par fluorescence. Le défi est de mettre au point des fluoroionophores pour lesquels la vitesse de complexation de ces cations soit rapide (en particulier dans les conditions physiologiques) et la stabilité thermodynamique des complexes importante. La stoechiométrie des complexes doit par ailleurs être parfaitement maîtrisée.

D'un point de vue photophysique, il est certes souhaitable que les fluorophores possèdent des propriétés en terme de longueur d'onde excitatrice et d'émission compatibles avec le milieu biologique. Toutefois, il faut souligner que les derniers exemples décrits dans ce chapitre montrent que l'amélioration de ces propriétés se fait au détriment de la vitesse de complexation et de la stabilité des complexes. Pour mettre au point de nouveaux systèmes, il s'agira donc de trouver un compromis acceptable entre les propriétés de complexation du récepteur et les propriétés photophysiques du fluorophore.

Références bibliographiques

[1] C. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc*. **1967**, *89*, 7017-7036.

[2] B. Bosnich, C. K. Poon, M. L. Tobe, *Inorg. Chem*. **1965**, *4*, 1102-1108.

[3] J. Van Alphen, *J. Recl. Trav. Chim*. **1936**, *56*, 343-348.

[4] B. Dietrich, J.M. Lehn, J.P. Sauvage, *Tetrahedron Lett.* **1969**, *34*, 2885-2888.

[5] N. F. Curtis, *J. Chem. Soc.* **1960**, 4409-4413.

[6] a) F. Boschetti, F. Denat, E. Espinosa, A. Tabard, Y. Dory, R. Guilard, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7042-7053. b) M. Le Baccon, F. Chuburu, L. Toupet, H. Handel, M. Soibinet, I. Déchamps-Olivier, J. P. Barbier, M. Aplincourt, *New J. Chem.* **2001**, *25*, 1168-1174. c) F. Denat, S. Brandès, R. Guilard, *Synlett.* **2000**, *5*, 561-574. d) H. Fensterbank, J. Zhu, D. Riou, C. Larpent, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 811-815. e) B. Gaudinet-Hamann, J. Zhu , H. Fensterbank , C. Larpent, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 287-290. f) N. Oget, F. Chuburu, J. J. Yaouanc, H. Handel, *Tetrahedron* **1996**, 2995-3004. g) V. Patinec, J. J. Yaouanc, J. C. Clément, H. Handel, H. des Abbayes, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 79-82. h) H. Bernard, J. J. Yaouanc, J. C. Clément, H. des Abbayes, H. Handel, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 639-642. i) A. Filali, J. J. Yaouanc, H. Handel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 560-561.

[7] B. Bosnich, M. L. Tobe, G. A. Webb, *Inorg. Chem*. **1965**, *4*, 1109-1112.

[8] a) R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533-3539. b) R. G. Pearson, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 734-740.

[9] a) A. E. Martell, R. M. Smith, R. J. Motekaïtis, NIST Critically selected stability constants of Metal Complexes Database, NIST Standard Reference Database, version 4, **1997**. b) K. J. Powell, Academic software Mini SCDatabase, version 5, 3, **1999**.

[10] R. Barbucci, L. Fabbrizzi, P. Paoletti, A. Vacca, J. *Chem. Soc. Dalton Trans.* **1973**, 1763-1767.

[11] T. Koike, S. Kajitani, I. Nakamura, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1210-1219.

[12] M. Kodama, E. Kimura. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1977**, 2269-2276.

[13] a) V. J. Thom, G. D. Hosken, R. D. Hancock, *Inorg. Chem*. **1985**, *24*, 3378-3381.

[14] D. L. Wright, J. H. Holloway, C. N. Reilley, *Analyt. Chem*. **1965**, *37*, 884-892.

[15] B. P. Hay, R. D. Hancock, *Coord. Chem. Rev.* **2001***, 212,* 61-78.

[16] a) R. D. Hancock, B. S. Nakani, F. Marsicano, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2531-2535. b) R. D. Hancock, P. W. Wade, M. P. Ngwenya, A. S. De Sousa, K. V. Damu, *Inorg. Chem*. **1990**, *29*, 1968-1974.

[17] a) N. W. Alcock, E. H. Curson, N. Herron, P. Moore, *J. Chem. Soc., Dalton Trans*. **1979**, 1987-1993. b) V. J. Thöm, C. C. Fox, J. C. A. Boeyens, R. D. Hancock, *J. Am. Chem. Soc*. **1984**, *106*, 5947-5955.

[18] P. H. Frederick, D. W. Margerum, *Inorg. Chem.* **1974**, *13*, 2941-2949.

[19] A. Bianchi, M. Micheloni, P. Paoletti, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *110*, 17-113.

[20] M. Ciampolini, M. Micheloni, N. Nardi, P. Paoletti, P. Dapporto, F. Zanobini, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1984**, 1357-1362.

[21] E. K. Barefield, H. C. Freeman, D. G. V. Derveer, *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 552-558.

[22] a) D. Meyerstein, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *141*, 185-186.

[23] G. Golub, H. Cohen, P. Paoletti, A. Bencini, L. Messori, I. Betini, D. Meyerstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8353-8361.

[24] A. Donnelly, M. Zimmer, *Inorg. Chem*. **1999**, *38*, 1650-1658.

[25] T. Kurisaki, S. Matsuo, H. Yamashige, H. Wakita, *J. Mol. Liq.* **2005**, *119*, 153-158.

[26] P. S. Pallavicini, A. Perotti, A. Poggi, B. Seghi, L. Fabbrizzi, *J. Am. Chem. Soc*. **1987**, *109*, 5139-5144.

[27] S. Lacerda, M. P. Campello, I. C. Santos, I. Santos, R. Delgado, *Polyhedron* **2007**, *26*, 3763-3773.

[28] a) S. El Ghachtouli, C. Cadiou, I. Déchamps-Olivier, F. Chuburu, M. Aplincourt, T. Roisnel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 3472-3482. b) S. El Ghachtouli, C. Cadiou, I. Déchamps-Olivier, F. Chuburu, M. Aplincourt, H. Handel, T. Roisnel, *New J. Chem*. **2006** *30*, 392-398.

[29] a) A. E. Goeta, J. A. K. Howard, D. Maffeo, H. Puschmann, J. A. G. Williams, D.S. Yufit, *Dalton Trans*. **2000**, 1873-1880. b) A. S. Batsanov, A. E. Goeta, J. A. K. Howard, D. Maffeo, H. Puschmann, J. A. G. Williams, D.S. Yufit, *Polyhedron* **2001**, *20*, 981-986.

[30] C. Bucher, E. Duval, J. M. Barbe, J. N. Verpeaux, C. Amatore, R. Guilard, *C. R. Acad. Sci. Paris, Série II C, Chimie* **2000**, *3*, 211-222.

[31] M. Di Vaira, F. Mani, N. Nardi, P. Stoppioni, A. Vacca, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1996**, 2679-2684.

[32] E. J. Billo, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 236-238.

[33] M. B. Obercholzer, L. C. Siegfried, T. A. Kaden, *Inorg. Chim. Acta* **1996**, *246*, 41-45.

[34] K. Cabbiness, D. W. Margerum, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 2151-2153.

[35] a) B. F. Liang, C. S. Chung, *Inorg. Chem.* **1983**, *20*, 2152-2155. b) B. F. Liang, C. S. Chung, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 1017-1021.

[36] T. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1970**, *53*, 617-622.

[37] V. J. Thöm, D. R. Hancock, *J. Chem. Soc., Dalton Trans*. **1985**, 1877-1880.

[38] A. Evers, D. R. Hancock, *Inorg. Chim. Acta* **1989**, *160*, 245-248.

[39] J. A. Drumhiller, F. Montavon, J. M. Lehn, R. W. Taylor, *Inorg. Chem*. **1986**, *25*, 3751-3757.

[40] H. Elias, *Coord. Chem. Rev*. **1999**, *187*, 37-73.

[41] a) F. McLaren, P. Moore, A. M. Wynn, *J. Chem. Soc., Chem. Commun*. **1989**, 798-800. b) R. W. Hay, P. R. Norman, *Inorg. Chim. Acta* **1980**, *45*, L139-L141.

[42] A. P. Leugger, L. Hertli, T. A. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61*, 2296-2306.

[43] B. Valeur, Invitation à la fluorescence moléculaire, De Boeck, **2004**.

[44] P. G. Sammes, G. Yahioglu, *Chem. Soc. Rev.* **1994**, *23*, 327-334.

[45] a) A. P. de Silva, H. Q. Nimal Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. Mc Coy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566. b) A. P. de Silva, D. B. Fox, A. J. M. Huxley, N. D. Mc Clenaghan, J. Roiron, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *185 - 186*, 207 - 306. c) A. P. de Silva, D. B. Fox, A. J. M. Huxley, T. S. Moody, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205*, 41 - 57. d) A. P. de Silva, D. B. Fox, T. S. Moody, S. M. Weir, *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 503 - 511. e) J. F. Callan, A. P. de Silva, D. C. Magri, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8551 - 8588.

[46] B. Valeur, I . Leray, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205*, 3 – 40.

[47] C. W. Rogers, M. Wolf, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *233 - 234*, 341 – 350.

[48] a) V. Amendola, M. Di Casa, L. Fabbrizzi, M. Lichelli, C. Mangano, P. Pallavicini, A. Poggi, *J. Incl. Phen.* **2001**, *41*, 13 - 18. b) L. Fabbrizzi, M. Lichelli, N. Marcotte, F. Stomeo, A. Taglietti, *Supramolecular Chemistry* **2002**, *14*, 127 - 132. c) L. Fabbrizzi, M. Lichelli, A. Taglietti, *Dalton Trans.* **2003**, 3471 - 3479. d) V. Amendola, L. Fabbrizzi, F. Foti, M. Liccheli, C. Mangano, P. Pallavicini, A. Poggi, D. Sacchi, A. Taglietti, *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 273 - 299.

[49] L. Basabe-Demonts, D. N. Reinhoudt, M. Crego-Calama, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 993 - 1017.

[50] M. R. Wasielewski, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 435 - 461.

[51] a) R. A. Bissel, A. P. de Silva, H. Q. Nunal Gunaratne, P. L. Mark Lynch, G. E. M. Maguire, K. R. A. Samankumara Sandanayaki, *Chem. Soc. Rev.* **1992**, 187-195. b) R. A. Bissel, E. Calle, A. P. de Silva, S. De Silva, H. Q. Nunal Gunaratne, J. L. Habib-Jiwan, S. L. Annesley Peiris, R. A. D. Dayasiri, Rupasinghe, T. K. Shantha D. Samarasinghe, K. R. A.

Samankumara Sandanayake, J. P. Soumillion, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1992**, 1559-1564.

[52] A. P. de Silva, H. Q. Nunal Gunaratne, P. L. Mark Lynch, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1995**, 685-690.

[53] a) a) A. P. de Silva, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1054-1056. b) L. M. Daffy, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1810-1815.

[54] A. P de Silva, S. A. de Silva, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 1709-1710

[55] E. U. Akkaya, M. E. Huston, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3590-3593.

[56] T. Hirano, *Angew. Chem. Int. Engl.* **2000**, *39*, 1052-1054.

[57] G. de Santis, L. Fabbrizzi, M. Lichelli, C. Mangano, D. Sacchi, N. Sardone, *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *257*, 69-76.

[58] L. Fabbrizzi, M. Lichelli, P. Pallavicini, A. Perotti, A. Taglietti, D. Sacchi, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 75-82.

[59] F. Fages, J. P. Desvergne, H. Bouas Laurent, P. Marsau, J. M. Lehn, F. Kptzyba Hibert, A. M. Albrecht Gary, M. Al Joubbeh, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8672-8680.

[60] K. Golchini, M. Mackovic Basic, S. A. Gharib, D. Masilamani, M. E. Lucas, I. Kurtz, *Am. J. Physiol.* **1990**, 258, F438.

[61] A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, K. R. A. S. Sandanayake, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5193-5196.

[62] K. Golchini, M. Mackovic Basic, S. A. Gharib, D. Masilamani, M. E. Lucas, I. Kurtz, *Am. J. Physiol.* **1990**, 258, F438.

[63] A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, K. R. A. S. Sandanayake, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5193-5196.

[64] M. E. Huston, K. W. Haider, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4460-4462.

[65] L. Fabbrizzi, M. Lichelli, P. Pallavicini, A. Taglietti, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1733-1736.

[66] L. Fabbrizzi, M. Lichelli, P. Pallavicini, A. Perotti, D. Sacchi, *Angew. Chem. Int. Engl.* **1994**, *33*, 1975-1977.

[67] G. K. Walkup, S. C. Burdette, S. J. Lippard, R. Y. Tsien, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5644-5645.

[68] A. W. Czarnik (Ed), *Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition*, ACS Symposium Series 358, American Chemical Society, Washington, DC, **1993**.

[69] A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, G. E. M. Maguire, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1213-1214.

[70] I. Aoki, T. Sakaki, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 730-732

[71] F. Unob, Z. Asfari, J. Vicen, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2951-2954.

[72] P. Jiang and Z. Guo, *Coord. Chem. Rev*. **2004**, *248*, 205-229.

[73] a) N. C. Lim, H. C. Freake and C.Brukner, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 38-49, b) J. H. Laity, B. M., Lee, P. E. Wright, *Curr. Opin. Struct. Biol*. **2001**, *11*, 39-46.

[74] J. J. R. Fraústo da Silva, R. J. P. Williams, *The Biological Chemistry of the Elements*, Oxford University, **2001**, p 315.

[75] H. Vahrenkamp, *Dalton Trans*. **2007**, 4751-4759.

[76] S. Burdette, S. J. Lippard, *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *216-217*, 333-361.

[77] E. P. Huang, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. **1997**, *94*, 13386-13387.

[78] A.S. Prasad, *Am. J. Nutr*. **1991**, *53*, 403.

[79] E. Kimura, T. Koike, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 179-184.

[80] K. Soroka, R. S. Vithanga, D. A. Philips, B. Walker, P. K. Dasgupta, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 629-636.

[81] S. G. Schulman, L. B. Sanders, *Anal. Chim. Acta* **1971**, *56*, 83-89.

[82] N Leroux, M. Goethals, T. Zeegers Huyskens, *Vib. Spectrosc.* **1995**, *9*, 235-243.

[83] L. Van Meervelt, M. Goethals, N Leroux, T. Zeegers Huyskens, *J. Phys. Org. Chem.* **1997**, *10*, 680-686.

[84] C. J. Frederickson, E. J. Kasarskis, D. Ringo, R. E. Frederickson, *J. Neurosci. Methods* **1987**, *20*, 91-103.

[85] J. C. Andrews, J. P. Nolan, R. H. Hammerstedt, B. D. Bavister, *Cytometry* **1995**, *21*, 153-159.

[86] P. D. Zalewski, I. J. Forbes, W. H. Betts, *Biochem. J.* **1993**, *296*, 403-408.

[87] P. D. Zalewski, I. J. Forbes, R. F. Seamark, R. Borlinghaus, W. H. Betts, S. F. Lincoln, A. D. Ward, *Chem. Biol.* **1994**, *3*, 153-161.

[88] I. B. Mahadevan, M. C. Kimber, S. F. Lincoln, E. R. T. Tiekink, A. D. Ward, W. H. Betts, I. J. Forbes, P. D. Zalewski, *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 561-568.

[89] M. C. Kimber, I. B. Mahadevan, S. F. Lincoln, A. D. Ward, E. R. T. Tiekink, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8204-8209.

[90] M. C. Kimber, I. B. Mahadevan, S. F. Lincoln, A. D. Ward, W. H. Betts, *Aust. J. Chem.* **2001**, *54*, 43-49.

[91] P. Jiang, L. Chen, J. Lin, Q. Liu, J. Ding, X. Gao, Z. Guo, *Chem. Commun.* **2002**, 1424-1425.

[92] B. Valeur, Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Wiley-WCH, Weinheim, **2001**.

[93] R. P. Haugland, *Handbook of Fluorescent Probes and Research products*, 9th ed., Molecular Probes Inc., **2002**.

[94] P. Marin, M. Israel, J. Glowinski, J. Premont, *Eur. J. Neurosci.* **2000**, *12*, 8-18.

[95] S. C. Burdette, G. K. Walkup, B. Spingler, R. Y. Tsien, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7831-7841.

[96] S. C. Burdette, C. J. Frederickson, W. Bu, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1778-1787.

[97] T. Hirano, K. Kikuchi, Y. Urano, T. Higuchi, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12399-12400.

[98] T. Hirano, K. Kikuchi, Y. Urano, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6555-6562.

[99] K. Komatsu, K. Kikuchi, H. Kojima, Y. Urano, T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10197-10204.

[100] M. E. Huston, K. W. Haider, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4460-4462.

[101] A. W. Czarnik, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *37*, 302-308.

[102] L. Fabbrizzi, M. Lichelli, P. Pallavicini, D. Sacchi, A. Taglietti, *Analyst* **1996**, *121*, 1763-1768.

[103] S. A. Van Arman, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5376-5377.

[104] M. A. Bernardo, F. Pina, B. Escuder, E. Garcia-Espana, M. L. Godino-Salido, J. Latorre, S. V. Luis, J. A. Ramrez, C. Soriano, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1999**, 915-922.

[105] S. Alves, F. Pina, M. T. Albelda, E. Garcia-Espana, S. Soriano, S. V. Luis, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, 405-412.

[106] L. Fabbrizzi, M. Lichelli, P. Pallavicini, A. Taglietti, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1733-1736.

[107] L. Fabbrizzi, M. Lichelli, P. Pallavicini, A. Perotti, A. Taglietti, D. Sacchi, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 75-82.

[108] J. A. Scalfani, M. T. Maranto, T. M. Sisk, S. A. Van Arman, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2193-2196.

[109] T. Koike, T. Watanabe, S. Aoki, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12696-12703.

[110] T. Koike, T. Abe, M. Takahashi, K. Ohtani, E. Kimura, M. Shiro, *Dalton Trans.* **2002**, 1764-1768.

[111] S. Aoki, S. Kaido, H. Fujioka, E. Kimura, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 1023-1030.

[112] S. Aoki, K. Sakurama, N. Matsuo, Y. Yamada, R. Takasawa, S Tanuma, M. Shiroo, K. Takeda, E. Kimura, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 9066-9080.

[113] S. Aoki, K. Sakurama, R. Ohshima, N. Matsuo, Y. Yamada, R. Takasawa, S Tanuma, K. Takeda, E. Kimura, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 2747-2754.

[114] S. C. Burdette, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 6816-6823.

[115] N. C. Lim, L. Yao, H. C. Freake, C. Bruckner, *Bioinorg. Chem. Med. Lett.* **2003**, *13*, 2251-2254.

CHAPITRE II

Synthèse, étude physicochimique du ligand cyclen-méthylbenzimidazole (L^1H) et de ses complexes de zinc(II), cuivre(II) et cadmium(II)

Dans le chapitre bibliographique, nous avons indiqué que les développements récents dans le domaine de la chimie des tétraazamacrocycliques ont pour objectif de concevoir des systèmes capables de détecter l'événement de complexation et d'utiliser le signal émis pour par exemple, doser des cations. Pour doser ces cations à faible concentration, il est souhaitable, comme cela a aussi été précisé dans le chapitre bibliographique, d'utiliser comme technique la fluorescence. Pour atteindre ce but, les tétraazamacocyles doivent être convenablement fonctionnalisés. Pour cela, nous avons choisi dans ce chapitre d'étudier les propriétés de complexation du plus petit des tétraazamacrocyles, le cyclen, fonctionnalisé par une sonde fluorescente, le méthylbenzimidazole.

Etant donné son importance en milieu biologique, le cation que nous souhaitons cibler en priorité est le zinc.[1] Ce choix a donc conditionné celui de la sonde, les motifs imidazoles étant connus dans les systèmes biologiques pour leur affinité vis-à-vis de ce cation.[2]

Au cours de chapitre, nous nous intéresserons donc à l'affinité du ligand cyclen-méthylbenzimidazole **L^1**H pour le Zn^{2+} ainsi que pour des cations réputés compétiteurs comme le Cu^{2+} et le Cd^{2+}.*

Nous chercherons à caractériser les complexes identifiés pour les trois systèmes {Zn(II)-**L^1**H}, {Cu(II)-**L^1**H}, {Cd(II)-**L^1**H} à l'état solide et en solution.

Enfin, nous étudierons les propriétés photophysiques du ligand **L^1**H vis-à-vis de ces trois cations.

A – SYNTHESE ET ETUDE DES PROPRIETES ACIDO-BASIQUES DU CYCLEN – METHYLBENZIMIDAZOLE L^{1}H

1. Synthèse de L^{1}H

Le cyclen-méthylbenzimidazole **L^1**H est un cyclen monoN-alkylé. La monoN-alkylation sélective du cyclen peut être obtenue grâce à une séquence de protection d'alkylation et de déprotection. Dans ce travail, la stratégie de synthèse choisie repose sur la voie bisaminal dont le protocole a été mis au point par le groupe de H. Handel (*cf.* page 134).[3] Dans un premier temps, la condensation du glyoxal sur le cyclen conduit au cyclen-glyoxal dont deux des quatre fonctions amines sont alkylables. La présence du pont bisaminal dans le cyclen oriente deux doublets de deux atomes d'azote vers l'intérieur de la cavité (doublets endo) tandis que les deux autres doublets sont orientés vers l'extérieur de la cavité

* Même si le Cd^{2+} est en extrêmement faible concentration dans le milieu biologique et ne perturbe pas la réponse des systèmes de détection vis-à-vis du Zn^{2+}, il est toujours étudié en tant qu'interférent potentiel.

(doublets exo). Dans une réaction de substitution nucléophile, les doublets exo sont beaucoup plus nucléophiles que les doublets endo vis-à-vis de l'électrophile. Le cyclen-glyoxal est ensuite engagé dans des conditions de substitution nucléophile avec l'agent alkylant (ici le chlorométhyl benzimidazole) en solution dans le THF anhydre (Schéma II-1). Dans ce solvant, le bisaminal monoN-méthylbenzimidazole précipite. Après complète précipitation, ce sel est isolé puis déprotégé par hydrazinolyse. Le ligand **L**^{1}H précipite sous forme d'un solide jaune pâle dans l'hydrate d'hydrazine.

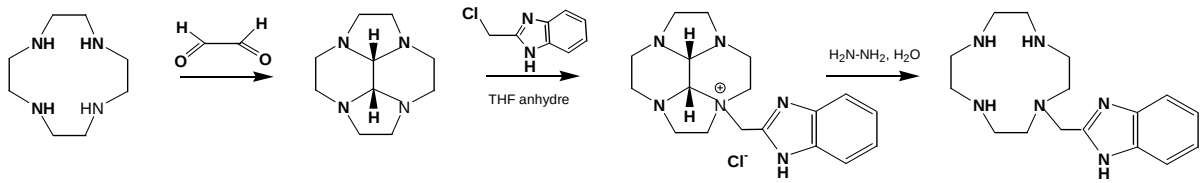


Schéma II-1 : *Synthèse du cyclen-méthylbenzimidazole* ***L***^{1}*H*

2. Etude potentiométrique du ligand L^{1}H

2.1 Allure des courbes expérimentales de neutralisation

Les ligands tétraazamacrocycliques sont de très bons complexants pour les ions de métaux de transition. L'étude de la complexation du ligand **L**^{1}H par les ions Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} implique la connaissance préalable de ses constantes de protonation. Pour cette raison, les constantes de protonation de **L**^{1}H ont été déterminées par potentiométrie.

Les propriétés acido-basiques du ligand **L**^{1}H ont été étudiées à une température constante de 25,0°C et à une force ionique de 1 (KNO_3). Le ligand est solubilisé dans de l'acide nitrique (10^{-2} mol.L^{-1}) puis dosé par une solution d'hydroxyde de potassium (0,1 mol.L^{-1}) entre pH = 2 et pH = 12.

La courbe de dosage du ligand **L**^{1}H par KOH 0,1 mol.L^{-1} (▲) ainsi que celle correspondant au dosage de 4 mL d'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} **(●)** sont données dans la Figure II-1.

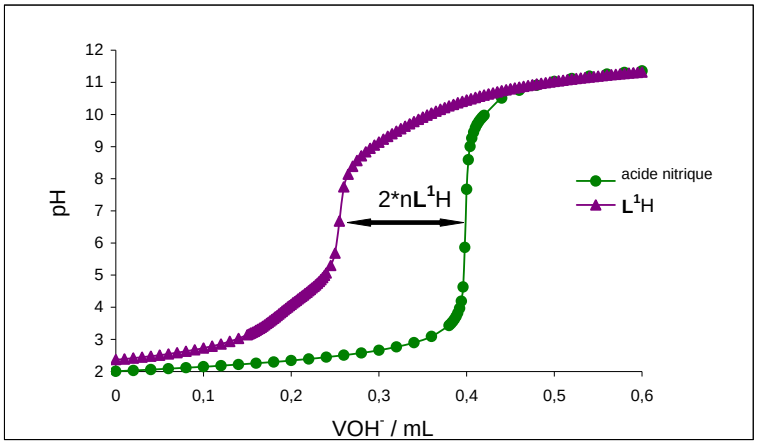


Figure II-1 *: Courbes de neutralisation par KOH 0,1 mol.L^{-1}, 25°C :*
(▲) du ligand **L^{1}H** *(v = 4 mL, c = 2.10^{-3} mol.L^{-1} en solution dans l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1})*
et (●) de 4 mL d'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}, I = 1 (KNO_3)

La différence des volumes équivalents entre la courbe de neutralisation de l'acide nitrique et celle du ligand **L^1**H correspond à la "consommation" de protons par le ligand en solution (fixation des protons correspondant aux acidités faibles). Dans notre cas, cette différence est associée à deux fois la quantité n_{L^1H} de ligand introduite.

Si l'on veut calculer le volume équivalent associé au titrage du ligand **L^1**H, il faut rappeler que ce ligand est dissous dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}. A l'équivalence, le nombre de moles d'ions d'hydroxyde versé sera égal à la différence entre le nombre de protons apportés par l'acide (n_{H^+}) et le nombre de protons consommés par le ligand (soit deux fois la quantité n_{L^1H} de ligand utilisée) d'où la relation :

$$V_{OH^-} = \frac{n_{H^+} - 2n_{L^1H}}{c_{OH^-}}$$

où c_{OH^-} est la concentration de la base ajoutée.

Dans les conditions de la Figure II-1, ce volume sera de 0,24 mL.

Le ligand **L^1**H possède potentiellement six sites acido-basiques. Quatre de ces sites correspondent aux amines macrocycliques : par analogie avec le cyclen,[4] deux de ces sites correspondent à des acidités relativement fortes, les deux autres étant associés à des acidités faibles. Deux sites acido-basiques supplémentaires sont présents sur le groupement fonctionnel : il s'agit des fonctions imine et amine pyrrolique du benzimidazole.[5,6,7] Entre pH = 2 et pH = 3,5, l'allure de la courbe correspond bien à la neutralisation des acidités fortes

de $\mathbf{L^1}$H ainsi que de l'acide nitrique en excès. Entre pH 4 et 5, la neutralisation d'une acidité supplémentaire a lieu. Au-delà de l'équivalence (pH > 8) l'allure de la courbe de titrage est caractéristique de la neutralisation successive de plusieurs acidités faibles : des calculs ont par conséquent été effectués pour déterminer le nombre et les valeurs des constantes d'acidité de $\mathbf{L^1}$H.

2.2 Détermination des constantes de protonation de $\mathbf{L^1}$H

Les logarithmes des constantes globales de protonation ont été calculées avec le programme PROTAF[8] à partir de sept solutions de $\mathbf{L^1}$H (entre 2.10^{-3} mol.L^{-1} et 10^{-3} mol.L^{-1}) titrées par de la potasse (0,1 mol.L^{-1}). Comme cela a été dit précédemment, le ligand $\mathbf{L^1}$H possède six sites acido-basiques mais dans nos conditions expérimentales, seules quatre constantes de protonation ont pu être déterminées avec une précision correcte. Une bonne adéquation entre les courbes expérimentales et les courbes calculées de PROTAF est observée en prenant en compte les cinq espèces $\mathbf{L^{1-}}$, $\mathbf{L^1}$H, $\mathbf{L^1}H_2^+$, $\mathbf{L^1}H_3^{2+}$, $\mathbf{L^1}H_4^{3+}$, (Figure II-2, Tableau II-1).

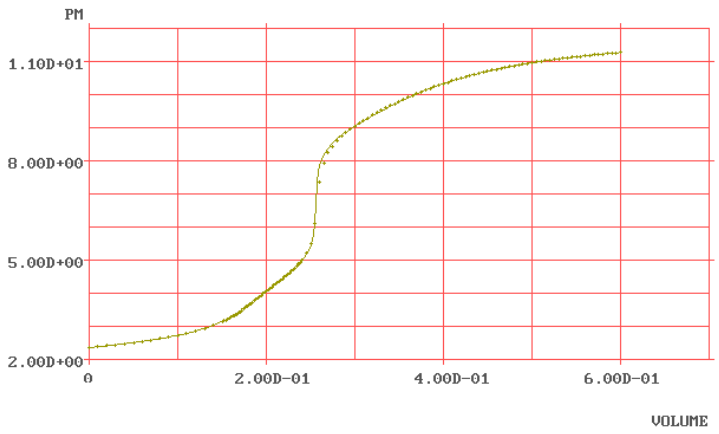


Figure II-2 *: Courbes de neutralisation expérimentale (•) et calculée (-) par PROTAF pour* $\mathbf{L^1}$*H par KOH 0,1 mol.L*$^{-1}$*, 25°C, v = 4 mL, c =* 2.10^{-3} *mol.L*$^{-1}$ *(en solution dans l'acide nitrique* 10^{-2} *mol.L*$^{-1}$*)*

Tableau II-1 *: Constantes de protonation log K_{01h} de* $\mathbf{L^1}$*H, [L1H] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, 25°C.*

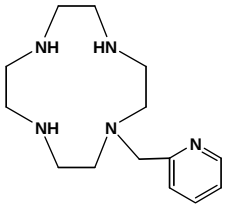
Equilibre	log K_{01h} [(a)]	L^1H [(b)]	Cyclen [(c)]	L^4 [(d)]	L^5 [(e)]
$\mathbf{L}$[(f)] $+ H^+ \rightleftharpoons \mathbf{L}H$	log K_{011}	11,05 (4)			
$\mathbf{L}H + H^+ \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_2]^+$	log K_{012}	10,21 (8)	10,97	10,6	10,32
$\mathbf{L}H_2^+ + H^+ \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_3]^{2+}$	log K_{013}	9,01 (5)	9,87	9,77	7,78
$\mathbf{L}H_3^{2+} + H^+ \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_4]^{3+}$	log K_{014}	4,55 (9)	<2	3,42	4,44
$\mathbf{L}H_4^{3+} + H^+ \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_5]^{4+}$	log K_{015}	<2	<2	<2	<2
$\mathbf{L}H_5^{4+} + H^+ \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_6]^{5+}$	log K_{016}	<2		<2	<2

Les valeurs entre parenthèses correspondent à un intervalle de confiance calculé avec un seuil de confiance à 95%

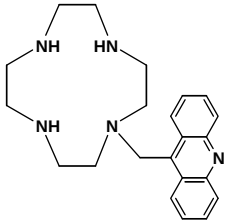
a- K_{01h} correspond à l'équilibre (1) : $LH_{h-1}^{(h-1)+} + H^+ \rightleftharpoons LH_h^{h+}$ *(1)*

et est définie par l'équation (2) : $$K_{01h} = \frac{\left[LH_h^{h+}\right]}{\left[LH_{h-1}^{(h-1)+}\right]\left[H^+\right]} \quad (2)$$

b- Titrage potentiométrique à 25,0(1)°C, I = 1 (KNO_3) ; c- ref [4] ; d- ref [9a] ; e- ref [9b] ; f- pour $\mathbf{L^1}$*H, l'espèce* **L** *correspond à la forme anionique* $\mathbf{L^{1-}}$ *du ligand.*



$\mathbf{L^4}$ *cyclen-méthylpyridine*



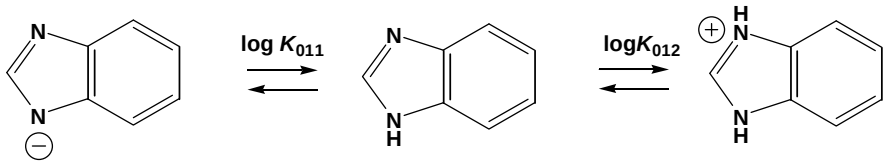
$\mathbf{L^5}$ *cyclen-méthylacridine*

Schéma II-2 : *Structures de* $\mathbf{L^4}$ *et* $\mathbf{L^5}$

Une première interprétation de séquence de protonation pour $\mathbf{L^1}$H peut être effectuée sur la base de la comparaison des constantes de protonation affinées pour $\mathbf{L^1}$H et de celles de ligands pertinents comme le cyclen,[4] le cyclen-méthylpyridine $\mathbf{L^4}$[9] et le cyclen-méthylacridine $\mathbf{L^5}$.[9] Dans le cyclen et les ligands $\mathbf{L^4}$ et $\mathbf{L^5}$, les deux premières constantes de protonation correspondent à la protonation de deux fonctions amines du macrocycle. La N-

alkylation du macrocycle se traduit par une légère diminution de ses constantes de protonation : dans ce cas, l'effet inductif exercé par le substituant diminue le caractère électrodonneur de l'atome d'azote tertiaire ce qui se manifeste par une augmentation de l'acidité des protons ajoutés dans la cavité. Sur la base de cette analyse, il est alors possible de proposer que les constantes log K_{012} = 10,21 et log K_{013} = 9,01 correspondent pour **L**^{1}H à la protonation de deux atomes d'azote macrocycliques.

Les deux autres constantes déterminées pour **L**^{1}H doivent alors être rapprochées des constantes de protonation du substituant benzimidazole (Schéma II-3).



log K_{011} (25°C) = 12,75 [10,11] log K_{012} (25°C) = 5,58 [12]

Schéma II-3 *: Constantes de protonation du benzimidazole.*

Le benzimidazole possède deux sites acido-basiques. Le premier correspond à l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole. Ce site se déprotone en milieu basique et selon les conditions expérimentales, la constante log K_{011} associée est évaluée à 12,75. Le second site correspond à l'atome d'azote de type imine ; il peut être protoné en milieu moyennement acide, la constante logK_{012} associée étant déterminée selon les mêmes conditions expérimentales à 5,58.

Pour le ligand **L**^{1}H, la prise en compte de ces deux étapes de protonation permet de proposer, par proximité des valeurs, que la première constante de protonation de **L**^{1}H (log K_{011} = 11,05) correspond à l'équilibre entre le cyclen benzimidazole, dans lequel le substituant benzimidazole est déprotoné (**L**$^{1-}$), et la forme protonée **L**^{1}H, dans laquelle le proton est fixé par la fonction amine pyrrolique du substituant. La quatrième constante de protonation de **L**^{1}H (log K_{014} = 4,55) peut être associée à la protonation de l'azote imine du benzimidazole.

Une séquence générale de protonation peut alors être proposée pour **L**^{1}H (Schéma II-4).

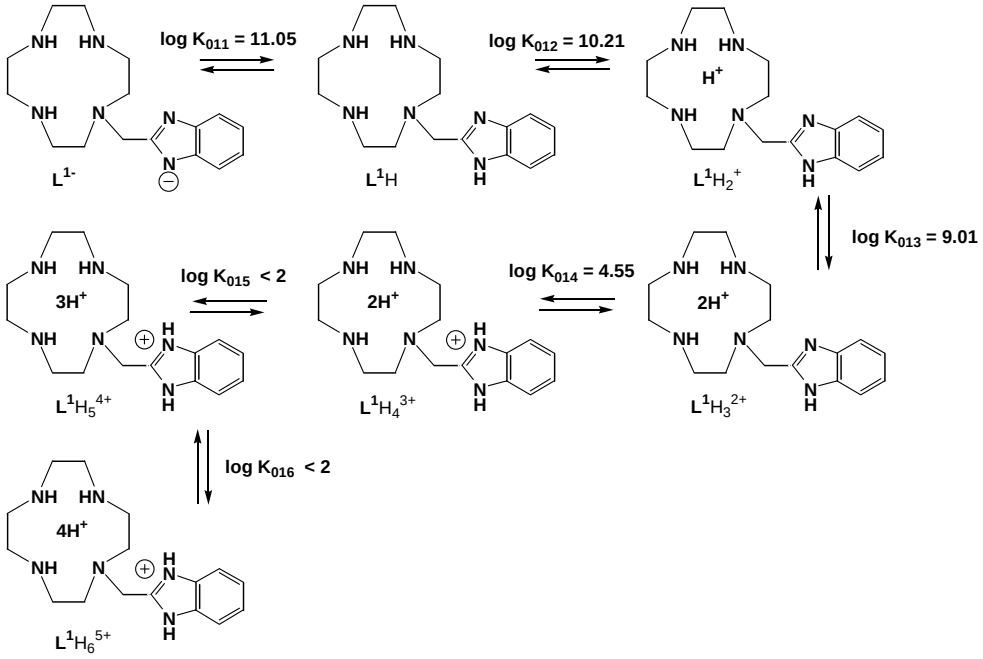


Schéma II-4 *: Séquence de protonation du ligand* ***L¹****H*

Cette séquence demande à être confirmée par des mesures spectroscopiques supplémentaires (*cf.* paragraphe 3).

Les domaines d'existence des espèces protonées et déprotonées issues du ligand **L¹**H peuvent être déterminés, en fonction du pH, sur la base des résultats précédents à l'aide logiciel HYSS [13] (Figure II-3).

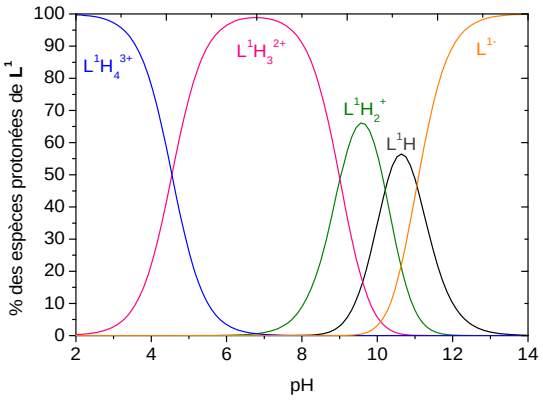


Figure II-3 *: Courbes de répartition en fonction du pH des différentes espèces issues de* ***L¹****H*
*([****L¹****H] = 2.10⁻³ mol.L⁻¹)*

L'examen des courbes de distribution des différentes espèces protonées du cyclen-méthylbenzimidazole montre qu'entre pH 4 et 8, l'espèce majoritaire est $\mathbf{L^1}H_3^{2+}$. Dans ce domaine de pH, en présence d'un cation métallique, c'est donc cette espèce qui sera la forme complexante. Au-delà de pH 9, des espèces $\mathbf{L^1}H^{2+}$, $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^{1-}}$ coexistent en solution.

3. Suivi de la protonation du ligand L^1H par spectroscopie UV et par spectroscopie RMN ^1H

Afin de confirmer la proposition de séquence de protonation établie précédemment pour $\mathbf{L^1}H$, une étude de la réponse du ligand en fonction du pH a été entreprise par spectroscopies UV et RMN ^1H.

3.1 Suivi de la protonation du ligand $\mathbf{L^1}H$ par spectroscopie UV

L'évolution en fonction du pH du signal UV de la sonde benzimidazole dans $\mathbf{L^1}H$ a été suivie entre 220 et 350 nm en faisant varier le pH d'une solution de ligand à 3.10^{-5} mol.L^{-1} par des ajouts de NaOH et/ou de HCl. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure II-4.

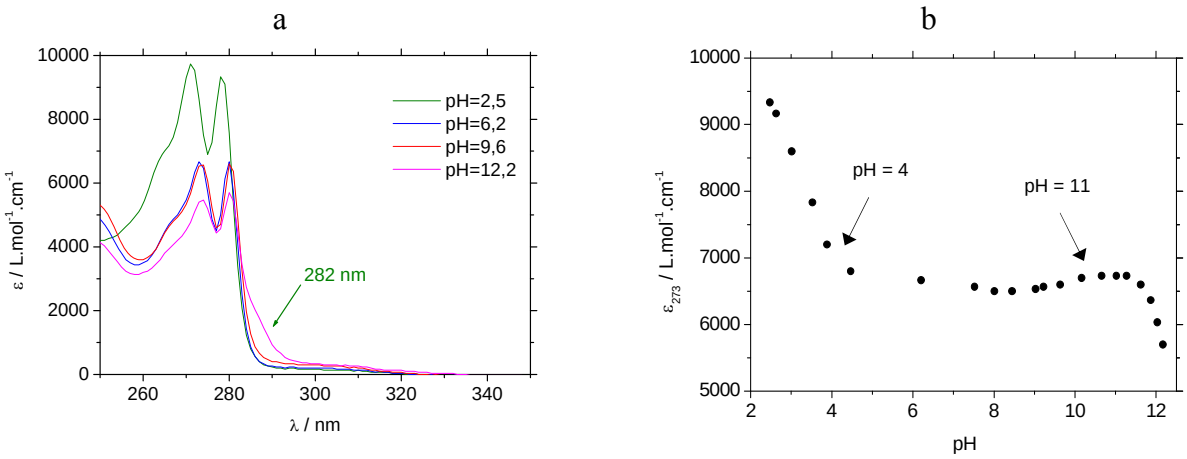


Figure II-4 *: a) Evolution du signal UV de* $\mathbf{L^1}H$ *en fonction du pH ; b)* ε_{273} *(mol^{-1} L cm^{-1}) = f (pH) ([*$\mathbf{L^1}H$*] = 3.10^{-5} mol.L^{-1}, I = 1(NaCl), T = 25°C, ℓ = 1 cm)*

A pH 6, pH auquel l'espèce $\mathbf{L^1}H_3^{2+}$ prédomine (Figure II-3), le spectre électronique enregistré présente un signal large séparé en deux composantes à 273 et 280 nm. Ce signal est caractéristique du chromophore benzimidazole.[14] Par analogie avec les dérivés du benzène,

ces bandes correspondent aux transitions $\pi^* \leftarrow \pi$[15] $S_1(^1L_a) \leftarrow S_0$ et $S_1(^1L_b) \leftarrow S_0$, où ^1L_a et ^1L_b correspondent aux deux premiers états excités du benzimidazole [15c].

L'acidification de la solution se traduit à partir de pH 4, zone dans laquelle l'espèce $\mathbf{L^1}H_4^{3+}$ devient majoritaire (*cf.* diagramme de répartition - Figure II-3), par un léger déplacement hypsochrome des deux bandes précédentes ($\Delta\lambda$ = 2 nm). En parallèle, si l'on suit la variation du coefficient d'absorption molaire associé à la bande λ = 273 nm, on observe que cette valeur augmente de 50% entre la valeur initiale déterminée à pH 6 (ε_{273} (pH = 6) = 6657 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$) et celle déterminée à pH 2,5 (ε_{273} (pH = 2,5) = 9355 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$). Ce phénomène, déjà observé dans le cas de $\mathbf{L^4}$,[9a] est dû à la protonation de l'atome d'azote imine du benzimidazole.[14]

Entre pH 6 et 11, aucune modification n'est observée. Il faut donc conclure que dans cette zone de pH, la sonde benzimidazole n'est pas concernée par les équilibres acido-basiques.

A partir de pH 11, l'augmentation du pH se traduit par un effet hypochrome du signal du benzimidazole. A partir de pH 11, l'espèce majoritaire est l'espèce $\mathbf{L^{1-}}$. En parallèle, un nouveau signal apparaît à λ = 282 nm. Ces deux phénomènes, déjà observés pour le chromophore de type benzimidazole en milieu basique,[11,14] sont attribués à la déprotonation de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole.

En résumé, le suivi de l'évolution de la sonde benzimidazole en fonction du pH permet de confirmer la nature d'une partie des sites de protonation ou de déprotonation mis en jeu pour $\mathbf{L^1}H$. Ainsi, le passage de l'espèce $\mathbf{L^1}H_3^{2+}$ (majoritaire à pH = 6) à l'espèce $\mathbf{L^1}H_4^{3+}$ (majoritaire à pH = 4) correspond à la protonation de l'atome d'azote imine du benzimidazole (log K_{014} = 4,55). Le passage de l'espèce $\mathbf{L^1}H$ (majoritaire à pH = 10) à l'espèce $\mathbf{L^{1-}}$ (majoritaire à pH = 11) correspond à la déprotonation de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole (log K_{011} = 11,05).

3.2 Suivi de la protonation du ligand $\mathbf{L^1}H$ par RMN ^1H

Le même type de suivi peut être effectué en RMN ^1H pour les protons aromatiques de $\mathbf{L^1}H$. A pH 6,2, les signaux RMN ^1H des protons benzimidazole se présentent sous forme de deux doublets de doublets (Figure II-5). L'allure du signal est en accord avec une symétrie locale de type σ rendant les protons aromatiques H_α, ainsi que les protons H_β, équivalents deux à deux.

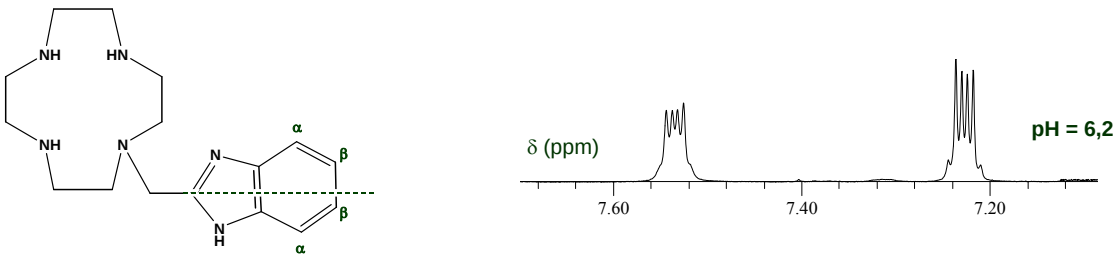


Figure II-5 *: Spectre RMN ^{1}H à pH 6,2 de la partie benzimidazole de* ***L^{1}H***
D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 500 MHz

La variation des déplacements chimiques des protons en fonction du pH montre que l'évolution vers les pH acides est accompagnée par un déblindage des signaux des protons de la sonde (Figure II-6).

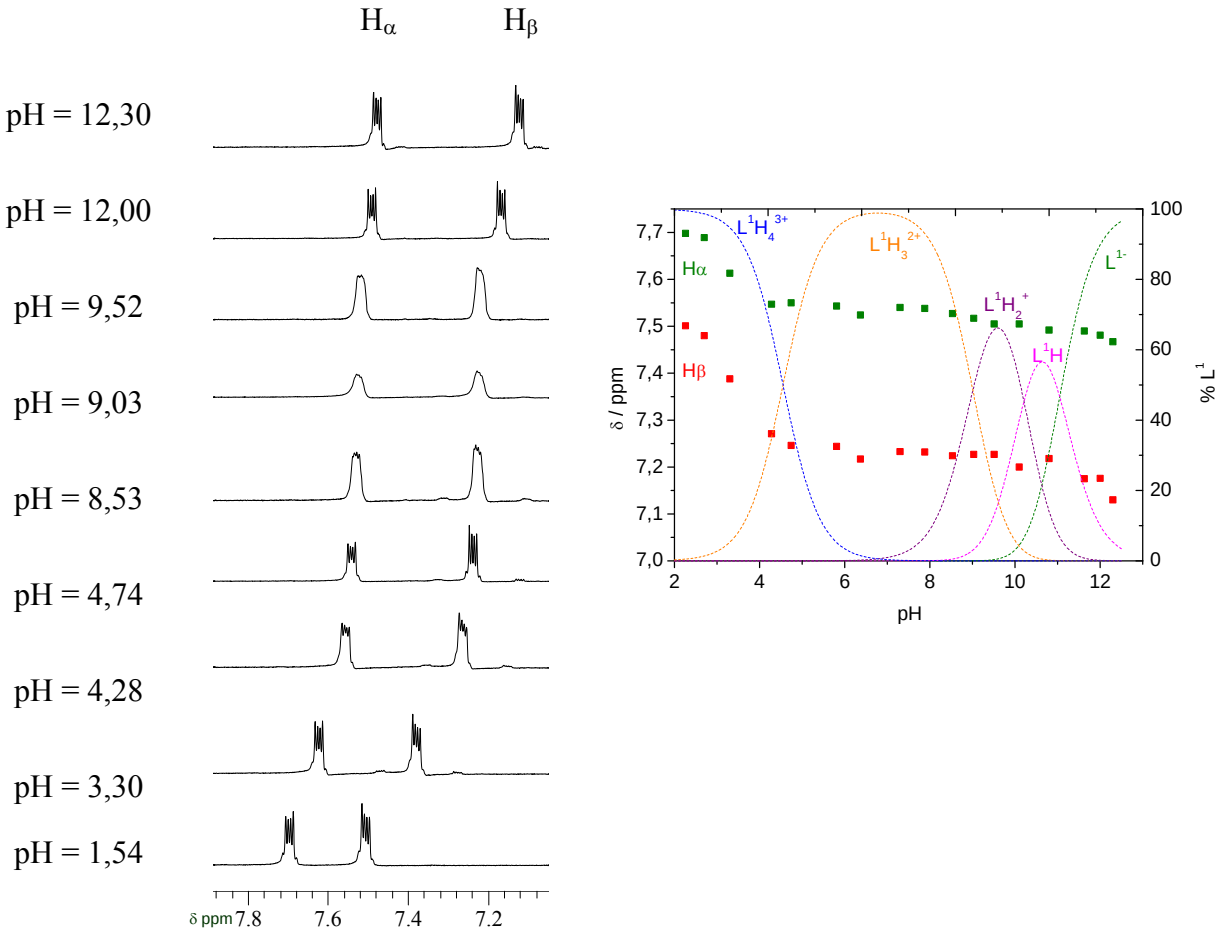


Figure II-6 *: Evolution des δ ($H_{aromatiques}$) du ligand* ***L^{1}H*** *en fonction du pH*
D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 500 MHz

Ce phénomène, comparable à celui observé pour **L^4**,[9a] est dû à un accroissement de la densité de charges positives au niveau du noyau aromatique. L'existence d'un déblindage plus

marqué autour de pH = 4, confirme l'attribution de la constante (log K_{014} = 4,55) à la protonation du benzimidazole. De façon similaire, le blindage observé en milieu basique permet d'associer la constante (log K_{011} = 11,05) à la déprotonation du benzimidazole.

4. Modélisation moléculaire de la séquence de protonation du ligand L^1H

La modélisation du ligand $\mathbf{L^1}H$ ainsi que celle de ses formes protonées ou de son anion peuvent apporter des informations supplémentaires sur la structure des espèces protonées ainsi que conforter l'interprétation de la séquence de protonation. Pour les différentes espèces, les conformères de plus basse énergie ont été obtenus par recherche conformationnelle au niveau semi-empirique (paramètres AM1-logiciel Gaussian[16]) puis optimisés en méthode de la fonctionnelle de la densité (DFT/B3LYP/6-31G* - logiciel Gaussian). Les optimisations ont été effectuées en solution aqueuse par application du modèle de continuum diélectrique polarisable. Ce modèle est en effet connu pour bien traduire les modifications structurales dues à la solvatation.[17]

Dans le Tableau II-2, figurent les géométries minimisées pour le ligand $\mathbf{L^1}H$, pour son anion $\mathbf{L^{1-}}$ et pour ses formes protonées $[\mathbf{L^1}H_2]^+$, $[\mathbf{L^1}H_3]^{2+}$, $[\mathbf{L^1}H_4]^{3+}$. Les formes protonées ont été obtenues par addition successive de protons sur les fonctions amines secondaires en considérant tous les sites de protonation ou toutes les combinaisons de sites de protonation possibles. L'analyse de l'évolution des différentes structures en fonction du degré de protonation du macrocycle sera effectuée par le biais du suivi de l'angle dièdre $C_1C_2N_1N_3$ entre les plans $C_1C_2N_1$ et $C_2N_1N_3$. Sa variation permet de rendre compte de la position relative du fragment benzimidazole par rapport à la couronne macrocyclique (Schéma II-5).

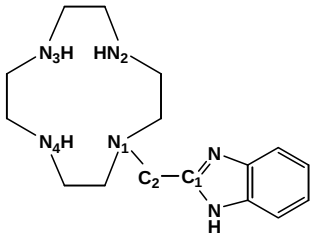
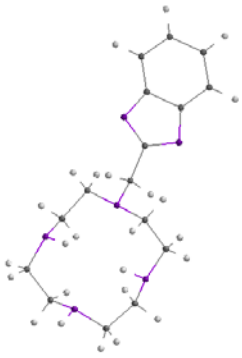
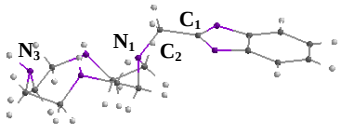
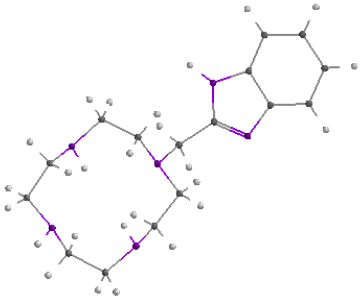
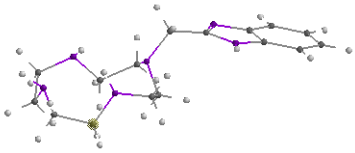
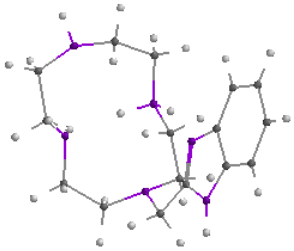
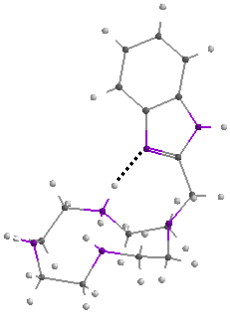
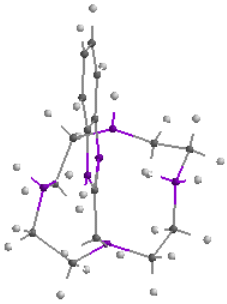
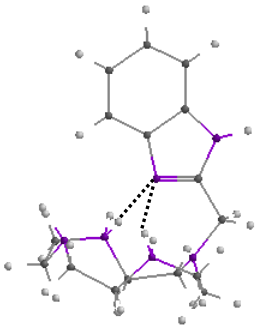
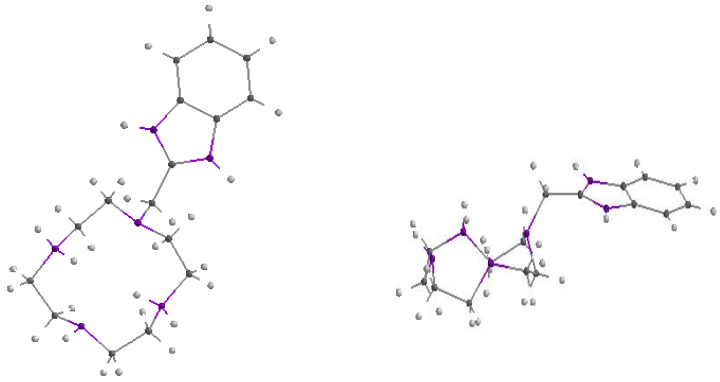


Schéma II-5 *: Définition de l'angle dièdre $C_1C_2N_1N_3$*

Tableau II-2 *: Géométries les plus stables optimisées en DFT/B3LYP/6-31G* pour le ligand* ***L***^{1}*H, son anion et ses espèces protonées (les pointillés correspondent aux liaisons hydrogène)*

	Vue de dessus	Vue latérale	Dièdre $C_1C_2N_1N_3$
$\mathbf{L}^{1-}$			177,43°
$\mathbf{L}^{1}$H			174,99°
$[\mathbf{L}^{1}H_2]^{+}$			-45,18°
$[\mathbf{L}^{1}H_3]^{2+}$			-7,09°

$[\mathbf{L^1}H_4]^{3+}$



179,05°

Pour le ligand $\mathbf{L^1}$H neutre, la structure calculée de plus basse énergie est telle que le substituant benzimidazole est dirigé vers l'extérieur de la cavité macrocyclique. La valeur de l'angle dièdre $C_1C_2N_1N_3$ est de 174,99° ; cette valeur, proche de 180°, indique bien que le fragment benzimidazole est dirigé vers l'extérieur de la cavité macrocyclique. Par ailleurs, dans la structure optimisée, deux des atomes d'hydrogène des fonctions amines secondaires pointent vers l'intérieur de la cavité macrocyclique tandis que l'atome d'hydrogène porté par la fonction amine secondaire porté par l'atome d'azote N_3 est dirigé vers l'extérieur de la cavité.

La structure de l'anion $\mathbf{L^{1-}}$ diffère peu de celle du ligand $\mathbf{L^1}$H. Le fragment benzimidazole déprotoné est dirigé vers l'extérieur de la cavité l'angle dièdre $C_1C_2N_1N_3$ étant de 177,43°.

Pour la forme monoprotonée $[\mathbf{L^1}H_2]^+$, la géométrie optimisée la plus stable correspond à l'ajout d'un proton sur l'azote secondaire N_2 (la situation où cet ajout est effectué sur l'atome d'azote N_4 est, pour des raisons de symétrie, équivalente). Dans cette structure, l'angle dièdre $C_1C_2N_1N_3$ est de -45,18°. Cette valeur, diminuée par rapport à celle déterminée pour le ligand $\mathbf{L^1}$H, illustre la rotation du fragment benzimidazole autour de la liaison N_1-C_2 ; l'atome d'azote imine du fragment benzimidazole N_{im} est à l'aplomb de la couronne macrocyclique. Par voie de conséquence, l'un des deux protons porté par l'atome d'azote N_2 se trouve stabilisé par liaison hydrogène avec N_{im}.

Dans la forme diprotonée $[\mathbf{L^1}H_3]^{2+}$, la géométrie la plus stable correspond à l'ajout de deux protons sur les atomes d'azote secondaires N_2 et N_4 respectivement. La structure optimisée présente ainsi un plan de symétrie comprenant le cycle benzimidazole. Pour cette espèce, la vue de dessus de la structure optimisée montre que par rapport à la forme neutre $\mathbf{L^1}$H, il se produit un réarrangement de la cavité de façon à ce que les répulsions électrostatiques entre les deux protons introduits soient minimisées. Ces deux protons sont par

ailleurs stabilisés par liaison hydrogène avec l'atome d'azote N_{im} du benzimidazole, situé en position apicale par rapport à la cavité macrocyclique.

La forme triprotonée $[\mathbf{L^1}H_4]^{3+}$ la plus stable correspond à l'ajout de deux protons dans la cavité macrocyclique, et un proton sur l'atome d'azote N_{im} du benzimidazole. La géométrie optimisée pour la structure montre que ce dernier atome n'est plus à l'aplomb de la cavité macrocyclique, l'angle dièdre $C_1C_2N_1N_3$ étant de 179,05°. La protonation de N_{im} entraîne donc une rotation du fragment benzimidazole par rapport à la liaison exomacrocyclique N_1-C_2. Dans ces conditions, les protons de la cavité ne sont plus stabilisés par liaison hydrogène.

Ainsi pour $\mathbf{L^1}H$, les calculs DFT viennent appuyer la séquence de protonation proposée sur la base des résultats potentiométriques et spectroscopiques. Les structures moléculaires calculées pour la forme diprotonée $[\mathbf{L^1}H_3]^{2+}$ et l'espèce triprotonée $[\mathbf{L^1}H_4]^{3+}$ montrent de plus que l'addition du troisième proton sur le ligand s'accompagne de réarrangements conformationnels et de rupture de liaisons hydrogène. Ceci indique donc que la protonation de l'espèce $[\mathbf{L^1}H_3]^{2+}$ est un processus énergétiquement plus coûteux.

B – SYNTHESE, CARACTERISATION ET ETUDE DES PROPRIETES ELECTRONIQUES DES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE(II) ET CADMIUM(II) DU LIGAND L^1H

B.1 - Complexes de zinc(II)

1. Synthèse et caractérisation des complexes $[ZnL^1H](NO_3)_2$ et $[ZnL^1H](ClO_4)_2$

1.1 Synthèse des complexes de Zn(II) avec le ligand $\mathbf{L^1}H$

Les complexes $[Zn\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ et $[Zn\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$ ont été préparés selon un mode opératoire commun : le sel de zinc(II), solubilisé dans le méthanol, est ajouté en proportions stœchiométriques à une solution méthanolique du ligand. Après quatre heures d'agitation à reflux, la solution méthanolique est concentrée par évaporation et l'ajout de diéthyléther provoque la précipitation du complexe (*cf.* page 136-137).

1.2. Caractérisation du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ par diffraction de rayons X et RMN ^{13}C

Des monocristaux du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$ ont été obtenus par diffusion lente de diéthyléther dans une solution du complexe dans l'acétonitrile. La structure cristalline du

complexe est présentée à la Figure II-7 (pour des raisons de clarté les atomes d'hydrogène hormis celui de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole, ne figurent pas sur la structure). Les principaux paramètres géométriques du complexe sont donnés dans le Tableau II-3.

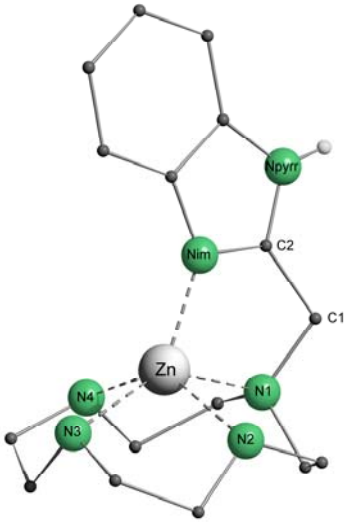


Figure II-7 *: Structure du complexe* $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$

Tableau II-3 *: Longueurs (Å) et angles de liaison (°) principaux du complexe* $[Zn\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$

$Zn\text{-}N_1$	2,237(2)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_2$	81,22(6)
$Zn\text{-}N_2$	2,105(2)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_3$	141,03(6)
$Zn\text{-}N_3$	2,115(2)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_4$	81,85(6)
$Zn\text{-}N_4$	2,116(2)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_{im}$	80,60(6)
$Zn\text{-}N_{im}$	1,983(2)	$N_2\text{-}Zn\text{-}N_3$	83,25(6)
$N_{im}\text{-}C_2$	1,324(2)	$N_2\text{-}Zn\text{-}N_4$	133,47(6)
$N_{pyrr}\text{-}C_2$	1,347(2)	$N_2\text{-}Zn\text{-}N_{im}$	114,79(6)
		$N_3\text{-}Zn\text{-}N_4$	83,42(6)
		$N_3\text{-}Zn\text{-}N_{im}$	138,19(6)
		$N_4\text{-}Zn\text{-}N_{im}$	104,64 (6)

L'analyse des monocristaux par diffraction des rayons X montre que le complexe cristallise dans un système monoclinique (groupe d'espace $P_{21/c}$) avec une molécule d'acétonitrile de cristallisation (Annexe Tableau A). La maille élémentaire comprend quatre complexes (Z = 4). Dans le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, le zinc(II) est pentacoordiné : sa sphère de coordination est formée par les quatre atomes d'azote macrocycliques (N_1-N_4) et l'azote imine

du benzimidazole (N_{im}). La coordination de N_{im} conduit à la formation d'un cycle chélate à cinq chainons stabilisant la structure. En ce qui concerne les longueurs des liaisons Zn-N, les distances Zn-N (secondaire) varient entre 2,105 et 2,116 Å ; elles sont plus courtes que la distance Zn-N (tertiaire) égale à 2,237 Å. Cette différence s'explique par le fait que les amines tertiaires sont de moins bons donneurs d'électrons que les amines secondaires : elles sont donc moins fortement liées au zinc.[18,19,20] D'autre part, la longueur de liaison axiale Zn-N_{im} (1,982 Å) est plus courte que les liaisons équatoriales ce qui souligne la forte interaction entre l'atome d'azote imine du benzimidazole et le zinc. Il est important de noter que la participation des atomes d'azote imine de fragments imidazoles d'acides nucléiques (comme l'histidine) ou de nucléotides (tels que l'adénine et la guanine) est indispensable à la stabilisation du Zn(II) dans les systèmes enzymatiques tels que l'anhydrase carbonique par exemple.[2c] La coordination de l'atome d'azote imine du benzimidazole dans le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ relève donc du même principe. Dans ces conditions, la géométrie autour du Zn(II) est donc de type pyramide à base carrée.

Par ailleurs, si on compare des distances C-N de la partie imidazole dans le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (C_2–N_{im} : 1,324 Å et C_2–N_{pyrr} : 1,347 Å) et dans le benzimidazole libre[21] (C_2–N_{im} : 1,297 Å et C_2–N_{pyrr} : 1,344 Å) on observe que la distance C_2–N_{im} augmente lorsque le benzimidazole est coordiné au zinc. Cette augmentation peut être expliquée par une délocalisation électronique de la partie imidazole vers le cation, induite par le caractère acide de Lewis du Zn(II) (Schéma II-6).

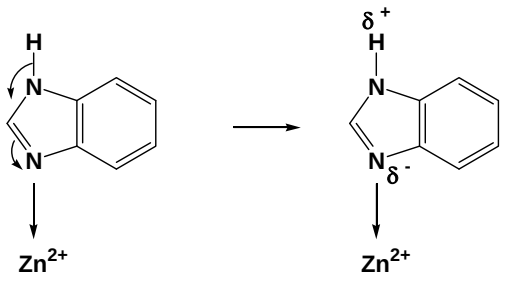


Schéma II-6: *Délocalisation électronique au sein de* $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$

Dans ces conditions, la coordination de l'atome d'azote imine du benzimidazole au Zn(II) devrait exalter l'acidité de l'hydrogène de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole (*cf*. étude de la stabilité thermodynamique du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$).

La sphère de coordination du zinc ayant été précisée à l'état solide, il est intéressant de savoir si en solution, le mode de coordination du zinc est maintenu. Pour cette raison, et

puisque le complexe de zinc est diamagnétique, la comparaison des spectres RMN ^{13}C du ligand et du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ a été effectuée (Schéma II-7).

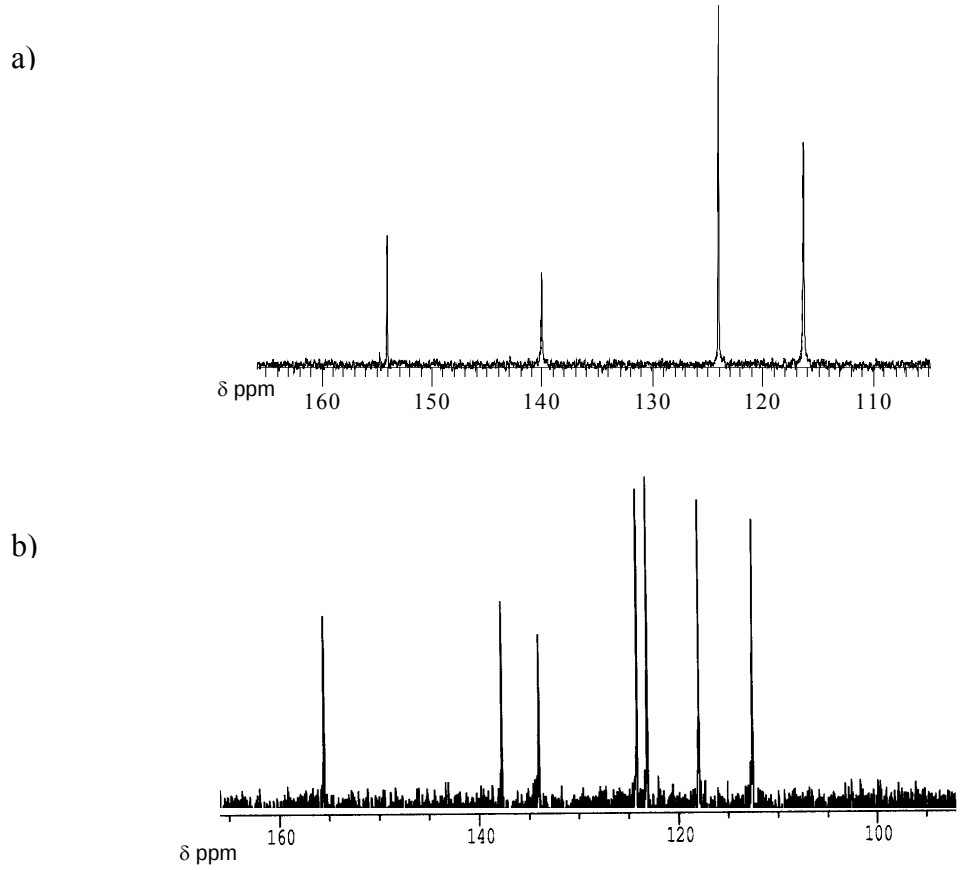


Schéma II-7 *: Comparaison des spectres RMN ^{13}C de a) $\mathbf{L^1}H$ et b) $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, D_2O, 250 MHz*

Dans le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, si le substituant benzimidazole est coordiné au zinc, les signaux des atomes de carbone benzimidazole doivent être les premiers à être affectés par la coordination. Il suffit donc d'analyser la modification de ces signaux au cours de la complexation.

Dans le ligand $\mathbf{L^1}H$, les atomes de carbones aromatiques du substituant se présentent sous la forme de quatre résonances à 116,1, 124,0, 134,0 et 153,9 ppm. Dans le ligand $\mathbf{L^1}H$ ces atomes de carbone sont donc équivalents deux à deux.

Dans le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, les mêmes atomes de carbone se présentent sous la forme de sept résonances à 112,5, 117,9, 123,1, 124,1, 133,9, 137,7 et 155,5 ppm. Dans ce cas, les atomes de carbone de la partie benzimidazole ne sont plus équivalents. Cette perte de symétrie déjà observée dans le cas des complexes de Zn(II) et Cd(II) de ligands macrocycliques fonctionnalisés par deux groupements benzimidazole,[15a] peut être expliquée

par la coordination du benzimidazole au métal. Il semble par conséquent que la géométrie du complexe à l'état solide soit maintenue en solution.

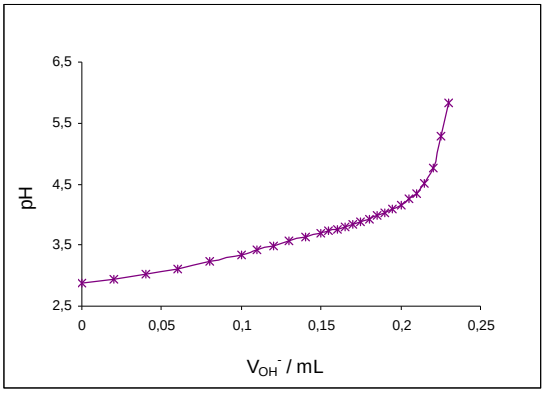
2. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de zinc(II) avec L^1H

2.1 Etude potentiométrique

Dans le but de quantifier la stabilité du complexe formé par le Zn(II) avec $\mathbf{L^1}H$, les constantes globales de formation du complexe et de ses formes protonées ont été déterminées par potentiométrie selon une méthode mise au point par Kimura *et coll.*.[22] Pour cela, une solution acide contenant un équivalent de $Zn(NO_3)_2$ et de ligand $\mathbf{L^1}H$ est titrée directement par une solution de KOH. Au cours de ce titrage, d'importants problèmes de stabilisation de pH ont été rencontrés. L'instabilité du pH s'explique par une formation lente des complexes de zinc en milieu acide (en particulier lorsque les atomes d'azote du macrocycle et celui du benzimidazole, responsables de la coordination, sont protonés).

Afin de s'affranchir de ces problèmes de cinétique, la méthode des « batch » a été utilisée.[23] Cette méthode, qui revient donc à construire une courbe pH = f(v_{OH^-}) point par point, consiste en la préparation de solutions séparées contenant une quantité fixe de ligand, de métal et d'acide nitrique. A chacune de ces solutions est ajouté un volume connu de potasse. Les solutions préparées sont ensuite stockées sous argon à 40°C. Les pH de ces solutions sont régulièrement mesurés jusqu'à ce que l'équilibre thermodynamique soit atteint (c'est à dire lorsqu'aucune variation de pH n'est plus constatée). Un exemple de courbe de titrage obtenue par cette méthode est présentée en Figure II-8a.

a



b

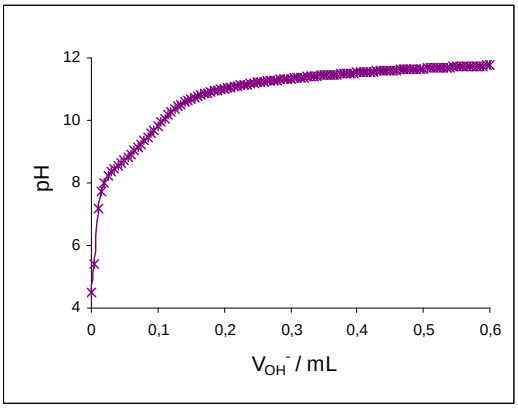


Figure II-8 *: Titrage potentiométrique du système {Zn(II)-$\mathbf{L^1}H$}*

a) Méthode des « batch » ; b) Titrage en continu du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$

($[\mathbf{L^1}H] = [Zn\mathbf{L^1}H]^{2+} = 2.10^{-3}$ mol.L^{-1}, $[OH^-] = 0,1$ mol.L^{-1}, T = 25°C, I = 1 (KNO_3))

En raison de contraintes expérimentales, la méthode de solutions séparées n'est pas applicable au-delà de pH = 7. Afin de compléter l'étude potentiométrique au-delà de ce pH, des titrages en continu de solutions de complexe $[Zn\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ par la potasse sont réalisés. L'allure d'une de ces courbes de titrage (Figure II-8b) semble indiquer que le complexe est le siège d'une (ou de plusieurs) déprotonation(s) entre pH 8 et 11. A titre de comparaison, les mêmes expériences ont été réalisées sur les systèmes {Zn(II)-cyclen} et {Zn(II)-$\mathbf{L^4}$} afin de juger l'influence du substituant sur la stabilité du complexe.

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes de Zn(II) avec $\mathbf{L^1}$H

En regroupant les données des deux méthodes de titrage et à l'aide du logiciel PROTAF, les constantes globales de formation et de déprotonation des complexes des différents systèmes {Zn(II)-ligand} ont pu être déterminées (Tableau II-4).

Tableau II-4 *: Constantes globales de formation des complexes Zn/$\mathbf{L^1}$H, Zn/$\mathbf{L^4}$ et Zn/cyclen. Conditions expérimentales utilisées : [L] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, [L]/[M] =1,2, 1,5, 1,8, [complexe] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, T = 25°C, I = 1 (KNO_3)*

Equilibre	$\mathbf{L^1}$	$\mathbf{L^4}$	**cyclen**
	log β_{mlh} [a]	log β_{mlh}	log β_{mlh}
$Zn+\mathbf{L}+H^+ \rightleftharpoons Zn\mathbf{L}H$	27,18(8)		
$Zn+\mathbf{L} \rightleftharpoons Zn\mathbf{L}$	18,53(6)	17,03(8)	14,20(8) (15,3[22])
$Zn+\mathbf{L} \rightleftharpoons Zn\mathbf{L}(OH) +H^+$	7,5(3)	11,10(9)	6,3(1) (7,44[24])
	log K		
$Zn+\mathbf{L}H \rightleftharpoons Zn\mathbf{L}H$	16,13		
$Zn\mathbf{L}H \rightleftharpoons Zn\mathbf{L}+H^+$	-8,65		

Dans ce tableau, sont indiquées les valeurs des logarithmes des constantes globales de complexation (log $\beta_{m\ell h}$). Ces constantes sont associées à l'équilibre (*3*)

$$m\,M + \ell\,L + h\,H^+ \rightleftharpoons M_mL_\ell H_h \qquad \beta_{m\ell h} = \frac{[M_mL_\ell H_h]}{[M]^m[L]^\ell[H^+]^h} \qquad (3)$$

avec -1 < h < 1, où la valeur négative correspond à l'ion hydroxyde

Les constantes globales β_{mlh} ont été affinées à l'aide du logiciel PROTAF. Une bonne adéquation entre les courbes expérimentales et les courbes calculées a été obtenue en faisant intervenir pour $\mathbf{L^1}$H les formes complexées $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, $[Zn\mathbf{L^1}]^{+}$ et $[Zn\mathbf{L^1}H_{-1}]$.
Pour les systèmes $[Zn(cyclen)]^{2+}$ et $[Zn\mathbf{L^4}]^{2+}$, les modèles de complexation en solution font intervenir les espèces $[Zn\mathbf{L}]^{2+}$ et $[Zn\mathbf{L}H_{-1}]^{+}$. Pour le complexe $[Zn(cyclen)]^{2+}$, les valeurs des constantes globales de complexation déterminées dans nos conditions experimentales sont proches de celles déterminées par polarographie par Kimura *et coll.*[22] Si l'on veut comparer la stabilité thermodynamique des différentes complexes formés, la comparaison directe de leurs constantes globales de formation n'est pas judicieuse puisque dans l'écriture de ces constantes interviennent de façon implicite les constantes de protonation des différents ligands. Or, les ligands $\mathbf{L^1}$H, cyclen et $\mathbf{L^4}$ ne présentent pas le même schéma de protonation (le ligand $\mathbf{L^1}$H comme sa notation l'indique pouvant être deprotoné contrairement aux autres ligands).

Une solution est de calculer pour le système {Zn(II)-$\mathbf{L^1}$H} la constante de formation du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ à partir de la forme $\mathbf{L^1}$H du ligand, qui au point de vue degré de protonation du macrocycle, peut être comparée au cyclen ou au cyclen-méthylpyridine.
Dans ce cas l'équilibre à considérer est le suivant :

$$Zn + \mathbf{L^1}H \rightleftharpoons Zn\mathbf{L^1}H \qquad \text{avec} \qquad K_{m\ell h} = K_{111}$$

La constante K_{111} associée est donc :

$$K_{111} = \frac{[ZnL^1H]}{[L^1H][Zn]}$$

Elle peut être exprimée en fonction de la constante globale β_{111}

$$Zn + \mathbf{L^1} + H^+ \rightleftharpoons Zn\mathbf{L^1}H \quad \text{où} \qquad \beta_{111} = \frac{[ZnL^1H]}{[Zn][L^1][H]}$$

et en fonction de la constante de protonation

$$\mathbf{L^{1-}} + H^+ \rightleftharpoons \mathbf{L^1}H \quad \text{où} \qquad K_{011} = \frac{[L^1H]}{[L^1][H]}$$

selon

$$K_{111} = \frac{[ZnL^1H]}{[Zn][L^1H]} = \frac{[ZnL^1H]}{[Zn][L^1][H]} * \frac{[L^1][H]}{[L^1H]} = \beta_{111} * (K_{011})^{-1}$$

d'où $\log K_{111} = \log \beta_{111} - \log K_{011} = 27{,}18 - 11{,}05 = 16{,}13$

Cette valeur peut alors être comparée aux constantes globales calculées pour les systèmes $[Zn(cyclen)]^{2+}$ (log β_{110} = 14,20) et $[Zn\mathbf{L^4}]^{2+}$ (log β_{110} = 17,03). La comparaison montre que la substitution renforce la stabilité du complexe. Une autre façon de rendre compte de l'affinité des ligands $\mathbf{L^1}$H et $\mathbf{L^4}$ vis-à-vis du zinc est de déterminer pour chacun, la fraction de métal qui reste non complexée en présence de ligand, et ce sur toute la gamme de pH. Le logarithme de la fraction de zinc libre en solution ($\log([Zn]_{libre}/[Zn]_{total})$) en fonction du pH est tracé sur la (Figure II-9).

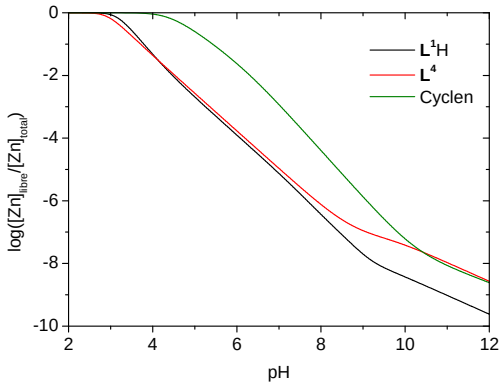
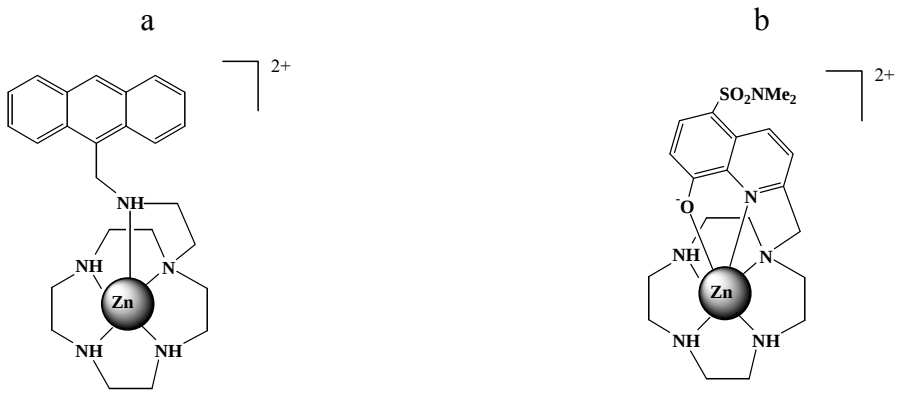


Figure II-9 *: Pouvoir complexant de* $\mathbf{L^1}$*H, de* $\mathbf{L^4}$ *et du cyclen vis-à-vis du Zn(II),*
[ligand]= [Zn] = 2.10^{-3} *mol.*L^{-1}

Pour des pH inférieurs à 4, le pouvoir complexant de $\mathbf{L^1}$H est légèrement inférieur à celui de $\mathbf{L^4}$. Cette tendance est inversée au-delà de pH = 4. Par ailleurs, l'affinité de $\mathbf{L^1}$H pour le zinc est supérieur à celle du cyclen, quelles que soient les valeurs du pH. Généralement, la N-alkylation des tétraazamacrocycles diminue la stabilité des complexes et ceci à cause de la diminution du pouvoir donneur de l'amine tertiaire par rapport aux amines secondaires.[20,25,26-27] Ici, l'augmentation de la stabilité du complexe peut être due à la coordination de l'atome d'azote imine du benzimidazole au zinc.

A ce niveau de l'étude, il est aussi utile de comparer l'affinité de $\mathbf{L^1}$H pour Zn(II) par rapport à celle de ligands macrocycliques développés comme capteurs de Zn(II) (Schéma II-8).



log*K* = 17,6 log*K* = 22,4

Schéma II-8 *: Structures des complexes a) [Zn(cyclen-éthyl(anthrylméthylamine))]$^{2+}$ et b) [Zn(cyclen-2-(8-hydroxy-5-N,N-diméthylaminosulfonylquinoline))]$^{2+}$*

De point de vue stabilité, la stabilité de [Zn**L**^{1}H]$^{2+}$ est proche de celle de [Zn(cyclen-éthyl(anthrylméthylamine))]$^{+}$.[27] Il est en revanche moins stable que [Zn(cyclen-2-(8-hydroxy-5-N,N-dimethylaminosulfonylquinoline))]$^{2+}$,[28] la stabilité de ce dernier étant directement corrélée au caractère bidenté du substituant.

L'étude potentiométrique montre par ailleurs que le complexe [Zn**L**^{1}H]$^{2+}$ peut être déprotoné en [Zn**L**^{1}]$^{+}$. L'équilibre de déprotonation, s'écrit alors selon :

$$\mathrm{Zn}\mathbf{L}^{1}\mathrm{H} \rightleftharpoons \mathrm{Zn}\mathbf{L}^{1}+\mathrm{H}$$

La constante associée

$$K = \frac{[ZnL^{1}][H]}{[ZnL^{1}H]}$$

peut être calculée à partir des équilibres et des constantes associées suivants

$$\mathrm{Zn}+\mathrm{L}^{1}+\mathrm{H}^{+} \rightleftharpoons \mathrm{ZnL}^{1}\mathrm{H} \qquad \beta_{111} = \frac{[ZnL^{1}H]}{[Zn][L^{1}][H]}$$

selon $$K = \frac{[ZnL^{1}]}{[Zn][L^{1}]} * \frac{[Zn][L^{1}][H]}{[ZnL^{1}H]} = \beta_{011} * (\beta_{111})^{-1}$$

soit $$\log K = \log \beta_{110} - \log \beta_{111} = 18{,}53 - 27{,}18 = -8{,}65$$

Cette constante peut être attribuée soit à la deprotonation de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole, soit à la déprotonation d'une molécule d'eau. Cette seconde

hypothèse est basée sur l'identification dans le système $[Zn(cyclen)]^{2+}$ d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du métal, celle-ci se déprotonant sous l'action d'une base.[29]

Dans le cas du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, la déprotonation d'une molécule d'eau coordinée au zinc(II) doit être écartée puisque les études précédentes semblent indiquer que le mode de coordination du métal est le même en solution et à l'état solide (Figure II-7). Si l'on attribue alors la déprotonation du complexe à celle de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole, on constate que cette déprotonation intervient pour un pH inférieur à celui observé dans le ligand (log K ($\mathbf{L^1}H$) = -11,05). Ceci signifie que dans le complexe, l'acidité de l'hydrogène de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole est renforcée. Ceci a déjà été observé dans le cas du complexe ternaire $[Zn(cyclen)]^{2+}$ - imidazole où la complexation de l'imidazole par le $[Zn(cyclen)]^{2+}$ assiste la déprotonation de l'imidazole (Schéma II-9).[30]

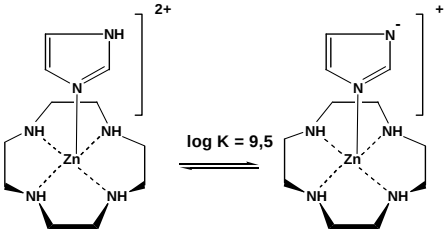


Schéma II-9 *: Effet de l'acidité de Lewis du Zn(II) sur la déprotonation de l'imidazole*[30]

Ces deux complexes illustrent l'incidence du caractère acide de Lewis du Zn^{2+} sur la déprotonation de substrats ou de groupements fonctionnels coordinés.[31] Ce comportement est à rapprocher du rôle de Zn^{2+} dans le fonctionnement de l'anhydrase carbonique.[32]

Enfin le diagramme de répartition des différentes espèces du système {Zn(II)-$\mathbf{L^1}H$} en fonction du pH peut être tracé par le logiciel HYSS.[13] (Figure II-10).

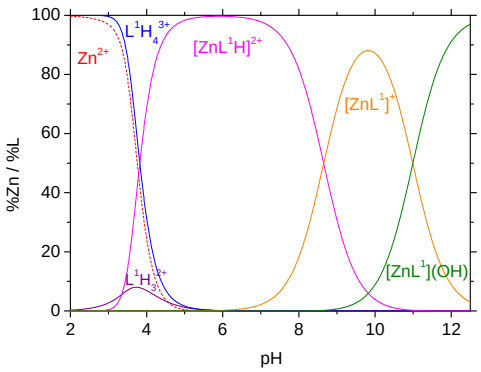


Figure II-10 *: Courbes de distribution des espèces Zn(II) / $\mathbf{L^1}H$ en fonction du pH,*
([Zn(II)] = [$\mathbf{L^1}H$] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}).

Ce diagramme montre que $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ commence à se former à partir de pH = 2,8 et que cette espèce est majoritaire entre pH = 4 et pH = 8,6. Au-delà de pH = 8,6, le complexe déprotoné $[Zn\mathbf{L^1}]^{+}$ devient majoritaire. Afin de s'assurer de cette séquence, des études du système {Zn-$\mathbf{L^1}$H} ont été entreprises par spectroscopies UV et RMN ^{1}H.

3. Etude des propriétés acido-basiques des complexes de Zn(II) de L^1H par spectroscopies UV et RMN ^{1}H

3.1 Etude des propriétés acido-basiques par spectroscopie UV

Dans le but de suivre la complexation de Zn^{2+} par $\mathbf{L^1}$H et de confirmer l'hypothèse de déprotonation formulée précédemment, le comportement du système {Zn(II)-$\mathbf{L^1}$H} en fonction du pH a été suivi par spectroscopie UV au niveau de la sonde benzimidazole (Figure II-11).

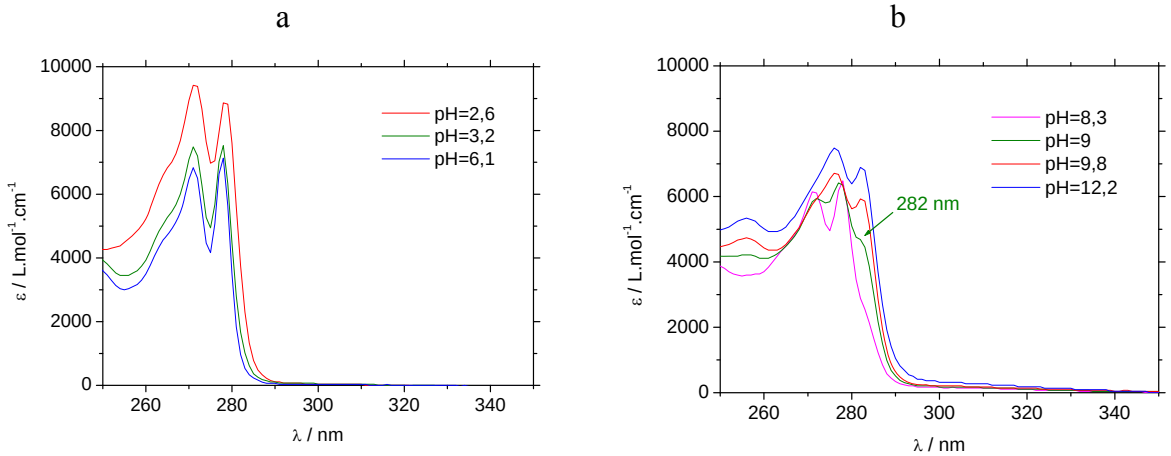


Figure II-11 *: Evolution du signal UV de $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ par addition a) d'HCl 0,1 mol.L^{-1}, b) de NaOH 0,1 mol.L^{-1} ; I = 1 (NaCl) ; T = 25°C ; ℓ = 1 cm*

Le diagramme de spéciation obtenu au cours des études potentiométriques précédentes (voir Figure II-10), montre qu'en dessous de pH = 3, le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ n'est pas encore formé. En dessous de pH = 3, le spectre UV de la sonde benzimidazole est effectivement identique à celui du ligand seul (Figure II-11a).

A des pH plus élevés (pH > 3), la formation du complexe est signalée par une diminution d'intensité des bandes à λ = 271 nm et à λ = 278 nm.

Enfin, au-delà de pH = 8, des modifications importantes du spectre interviennent et deux bandes supplémentaires à λ = 276 nm et à λ = 282 nm apparaissent (Figure II-11b).

Dans le cas du complexe, si l'on reporte sur le diagramme de spéciation l'évolution du coefficient d'absorption molaire de la bande à 282 nm en fonction du pH, on constate que son augmentation suit la formation de l'espèce $[Zn\mathbf{L^1}]^+$ (Figure II-12) : la bande à 282 nm signale donc la déprotonation de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole et la formation du benzimidazolate.[14]

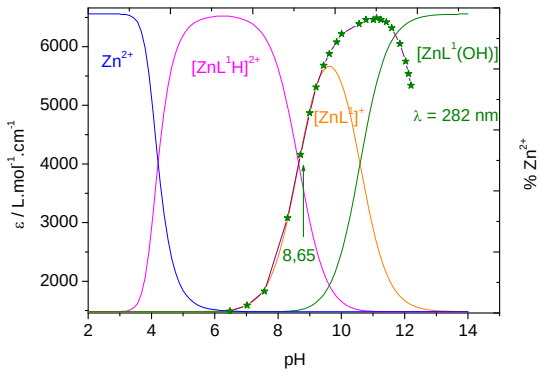


Figure II-12 *: Evolution de ε (λ = 282 nm) en fonction du pH*
($[Zn\mathbf{L^1}H] = 3.10^{-5}$ mol.L^{-1})

Ce résultat apporte donc une première confirmation de la déprotonation du benzimidazole dans le complexe, avec une constante voisine de log K = - 8,6.

3.2 Etude des propriétés acido-basiques par RMN ^{1}H

Le même type d'étude peut être effectué en suivant l'évolution des déplacements chimiques des protons du cycle benzimidazole, en présence de Zn(II) et en fonction du pH (Figure II-13).

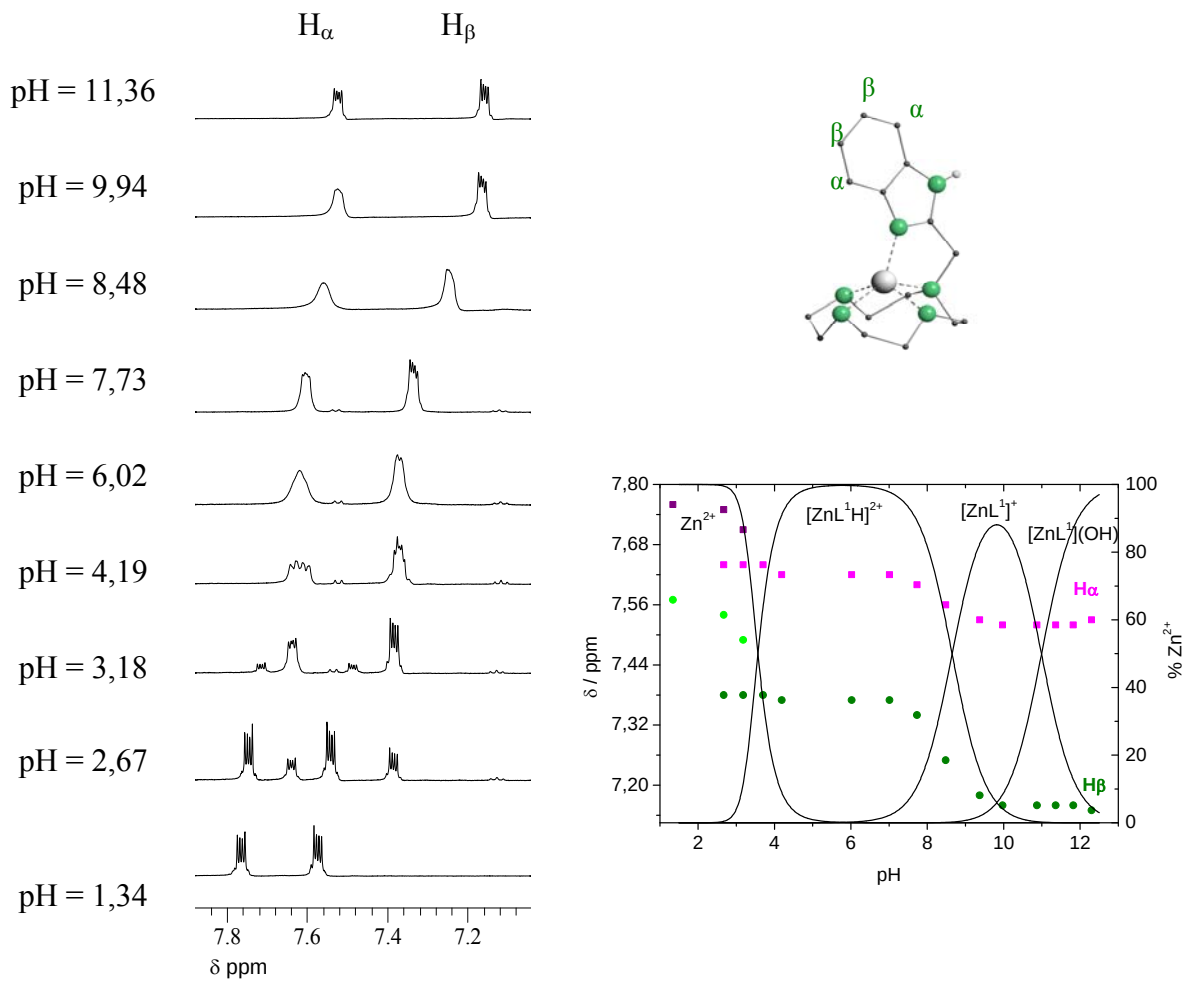


Figure II-13 *: Evolution des δ ($H_{aromatiques}$) du complexe $[ZnL^1H]^{2+}$ en fonction du pH*

D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 500 MHz

L'évolution globale du spectre montre qu'en dessous de pH 2,6, le complexe n'est pas formé et seuls les signaux du ligand sont observés (δ = 7,56 et 7,76 ppm).

La complexation commence à partir de pH 2,67 (apparition d'un second jeu de signaux à 7,40 et 7,64 ppm) et s'achève au-delà de pH 4,19.

Entre 4,19 < pH < 7,73, les déplacements chimiques des signaux du benzimidazole complexé ne varient pas, ce qui signifie que dans cette zone, l'augmentation de pH ne provoque pas de modification au niveau de la sonde benzimidazole.

En revanche, au-delà de pH 8,43, le déplacement des signaux à champ fort correspond à une augmentation de la densité électronique sur le système benzimidazole donc à sa déprotonation. Ce résultat apporte donc une deuxième confirmation de la déprotonation du benzimidazole dans le complexe, avec une constante voisine de log K = -8,6.

B.2 - Complexes de cuivre

1. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de Cu(II) avec le ligand L^1H

1.1 Dosage de solutions Cu(II)-L^1H

Les constantes globales de formation des complexes du cuivre (β_{CuL^1H}) ont été déterminées à une température de 25,0°C et une force ionique de 1 en KNO_3. Les études potentiométriques ont été réalisées en milieu HNO_3 par ajout de potasse (0,1 mol.L^{-1}), pour des solutions de ligand de concentration 2.10^{-3} mol.L^{-1} et/ou des mélanges $\mathbf{L^1}$H-Cu$(NO_3)_2$ avec des rapports R = [*Ligand*]/[*Métal*] égaux respectivement à 1,2, 1,5, 1,8 et 2,2.

La cinétique de formation des complexes de cuivre est lente en milieu acide. Pour remédier à cet inconvénient, les solutions contenant le ligand et le métal aux différents rapports étudiés sont préparées et stockées sous argon à 40°C. Au bout de huit semaines d'incubation (temps suffisant pour que la cinétique de formation soit achevée) les solutions sont sorties de l'étuve et remises à température ambiante. Une série de titrages de 4 mL de solution par KOH (0,1 mol.L^{-1}) est ensuite réalisée à 25°C.

Sur la Figure II-14 sont représentées quatre courbes de neutralisation de solutions {$\mathbf{L^1}$H-Cu(II)} dans différents rapports R = [*L*]/[*M*]. La cinquième courbe correspond à la neutralisation d'une solution de ligand $\mathbf{L^1}$H (1, 9×10^{-3} mol.L^{-1}, de volume initial 2 mL) tandis que la sixième courbe correspond à la neutralisation d'une solution d'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} de volume initial (4 mL).

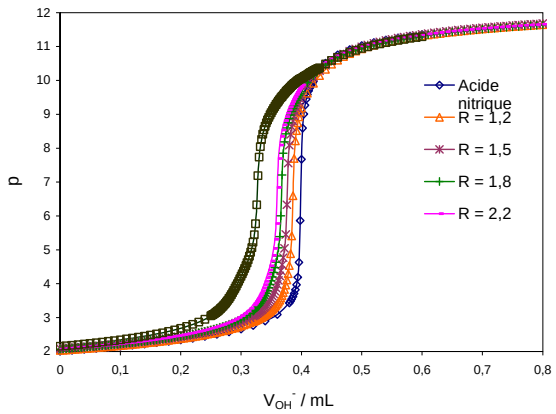


Figure II-14 *: Courbes de neutralisation de solutions de* $\mathbf{L^1}$*H - Cu(II) par KOH 0,1 mol.L*$^{-1}$ *;*
[$\mathbf{L^1}$*H] = 1,9.10*$^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$*, [*HNO_3*] = 10*$^{-2}$ *mol.L*$^{-1}$ *I = 1(*KNO_3*) à 25°C*

Au début des titrages, les courbes de neutralisation des solutions **L**^{1}H-Cu(II) présentent une diminution de pH par rapport à celle du ligand seul. Cette diminution du pH est due à la libération de protons lors de la complexation.

D'après la Figure II-14, on remarque que les volumes équivalents varient selon la valeur du rapport R = [*L*]/[*M*] (le volume équivalent augmente lorsque R diminue). La différence entre le volume équivalent de la courbe de neutralisation du ligand seul et celui d'une solution de **L**^{1}H-Cu(II) correspond au volume de base nécessaire pour neutraliser le nombre supplémentaire de protons libérés par la complexation.

Pour tous les rapports étudiés, le tracé des courbes des dérivées des courbes de neutralisation précédentes met en évidence la présence d'un seul point d'équivalence à pH = 7 (Figure II-15).

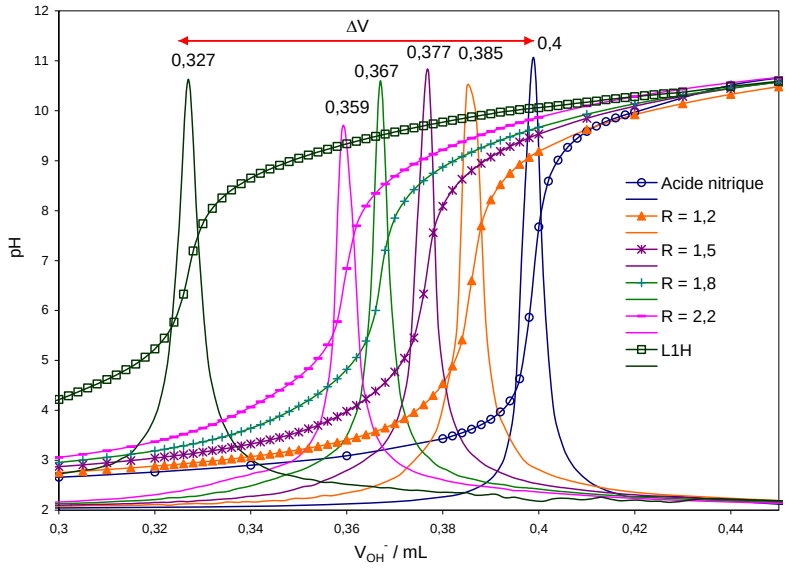


Figure II-15 *: Courbes de neutralisation des différents rapports L^1H/Cu^{2+} et leurs courbes dérivées*
*[KOH]= 0,1 mol.L^{-1} ; [**L**^{1}H] = 1,9.10^{-3} mol.L^{-1}, [HNO$_3$] = 10^{-2} mol.L^{-1} I = 1(KNO$_3$) à 25°C*

Dans la zone d'équivalence, d'après le diagramme de distribution des espèces protonées déterminé précédemment (Figure II-3), le ligand est sous forme [**L**^{1}H$_3$]$^{2+}$. Pour cette valeur de pH, l'équation du dosage et le tableau des espèces sont les suivants :

	Cu^{2+}	+	$[\mathbf{L}^1H_3]^{2+}$	→	$[Cu\mathbf{L}^1H]^{2+}$	+	$2\ H^+$
$n_{initial}$(mol)	1/R		1				
n_{final}(mol)			(1-1/R)		1/R		2/R

Dans le cas d'un rapport R = [L]/[M] = 1,5, si l'on considère que l'on a formation totale de l'espèce $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$, le bilan matière devient :

	Cu^{2+}	+	$[\mathbf{L^1}H_3]^{2+}$	→	$[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$	+	$2\ H^+$
$n_{initial}$(mol)	0,666		1				
n_{final}(mol)			0,333		0,666		1,33

La formation quantitative de l'espèce $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ va théoriquement libérer 1,33 mol de protons, ce qui dans nos conditions expérimentales, correspond à un volume équivalent théorique de 0,376 mL(†). Plus le volume équivalent expérimental sera proche de la valeur théorique, plus la constante globale de formation du complexe sera précise. Pour un rapport [*L*]/[*M*] = 1,5 le volume équivalent expérimental est 0,375 mL (Figure II-15): cette valeur, proche de la valeur théorique, permet de valider le modèle utilisé.

1.2 Stabilité thermodynamique des complexes

Les résultats de seize titrages potentiométriques calculés à l'aide du logiciel PROTAF ont permis de déterminer les constantes globales de formation des complexes de cuivre de $\mathbf{L^1}H$ ($\beta_{\mathbf{mlh}}$) correspondant à l'équilibre :

$$Cu + \ell L + h H^+ \rightleftharpoons CuL_\ell H_h$$

(†) Au cours du dosage d'une solution de ligand $\mathbf{L^1}H$ en présence de Cu(II), le nombre d'ions hydroxyde versé à l'équivalence (n_{OH^-}) correspond au nombre d'ions H^+ présents en excès dans la solution de ligand (*cf* mode de préparation des solutions : paragraphe 2.1, page 74), auquel il faut ajouter le nombre d'ions H^+ libérés par la complexation.

On aura donc : $n_{OH^-,éq.} = n_{H^+}$ ($\mathbf{L^1}H$) + n_{H^+} (libérés par la complexation) soit $V_{OH^-,éq.} = V_{H^+} + 1{,}33 * F$ où F est un facteur de proportionalité. Ce facteur est établi de la façon suivante : l'écart de volume entre le volume équivalent obtenu pour le dosage de l'acide nitrique (0,4 mL - *cf* Figure II-15) et celui correspondant au ligand $\mathbf{L^1}H$ en solution acide (0,327 mL- *cf* Figure II-15 correspond au volume de base nécessaire pour doser 2 protons (voir explication paragraphe 2.1 page 75). F vaut donc $\frac{0{,}4 - 0{,}327}{2} = 0{,}0365$ mL.

Ce volume équivalent correspondant au dosage de la solution $\mathbf{L^1}H$-Cu(II) pour un rapport R = 1,5. Il sera donc de $V_{OH^-} = 0{,}327 + 1{,}33 * 0{,}0365 = 0{,}376$ mL.

avec

$$\beta_{m\ell h} = \frac{[CuL_\ell H_h]}{[Cu]\,[L]^\ell\,[H]^h}$$

Une bonne superposition entre les courbes expérimentales et les courbes calculées a été obtenue en faisant intervenir la formation des espèces $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L^1}]^{+}$. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau II-5. A titre de comparaison, les constantes globales de formation des complexes de cuivre avec le ligand $\mathbf{L^4}$ (Schéma II-2) ont été déterminées dans les mêmes conditions.

Tableau II-5 *: Constantes globales de formation des complexes Cu**L**^{1}H et Cu-**L**^{2}, [L] = 2.10^{-3} mol.L^{-1} T = 25°C, I = 1 (KNO$_3$)*

Equilibre	$\mathbf{L^1}$H	$\mathbf{L^4}$	**cyclen**
	log β_{mlh}	log β_{mlh}	log β_{mlh}
Cu+**L**+H$^+$ ⇌ Cu**L**H	32,8 (5)		
Cu+**L** ⇌ Cu**L**	23,3 (4)	20,9(4)[a]	23,3[4]
	log K		
Cu+**L**H ⇌ Cu**L**H	21,75		
Cu**L**H ⇌ Cu**L**+H$^+$	-9,5		

a) Constante déterminée dans ce travail.

Les valeurs des constantes globales de formation obtenues montrent que les complexes de cuivre sont thermodynamiquement très stables. La constante successive de formation du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K_{111} = 21,75) est calculée, comme dans le cas du complexe de zinc, à partir de la constante globale de formation du complexe de cuivre (log β_{111}) et de la première constante de protonation du ligand (log K_{011} = 11,05). Cette valeur est inférieure à celle déterminée pour le complexe $[Cu(cyclen)]^{2+}$ (Tableau II-5). Cette diminution est due, comme on l'a indiqué précédemment, à la monoN-fonctionnalisation du macrocycle, qui affaiblit le caractère σ-donneur des amines tertiaires par rapport à celui des amines secondaires.[20,25,26,27]

Comme cela était déjà le cas pour le complexe du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$, le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ se déprotone quand le pH augmente. La constante de déprotonation log K_{110} = - 9,5 est plus forte que celle déterminée pour le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K_{110} = - 8,65). Ceci indique que dans le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$, le proton de la fonction N pyrrolique est moins

acide que dans le complexe $[ZnL^1H]^{2+}$. Cette différence peut directement être corrélée à l'acidité de Lewis du Cu(II), moins forte que celle du Zn(II).[33]

A partir des données potentiométriques, les courbes de distribution en fonction du pH des complexes de Cu(II) formés avec L^1H peuvent être tracées à l'aide du logiciel HYSS (Figure II-16).

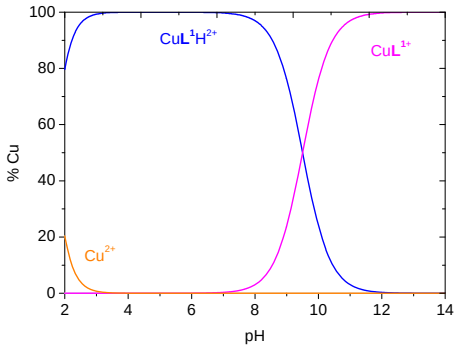


Figure II-16 *: Courbes de distribution des complexes Cu(II)/L^1H en fonction du pH,*
$[Cu(II)] = [L^1H] = 2.10^{-3}$ mol.L^{-1}

La répartition de ces espèces en fonction du pH montre d'une part, que le complexe $[CuL^1H]^{2+}$ est majoritaire à partir de pH = 2 et d'autre part, que la déprotonation de l'azote pyrrolique du groupement benzimidazole, conduit au complexe $[CuL^1]^+$ majoritaire à partir de pH = 10.

Afin de juger du pouvoir complexant du ligand L^1H pour le cuivre par rapport à celui du cyclen et du ligand L^4, il est nécessaire de comparer la quantité du cuivre restée libre en solution pour chaque ligand. Cette comparaison se fait en traçant $\log([Cu^{2+}_{libre}]/[Cu^{2+}_{total}]) = f(pH)$ à l'aide du logiciel HYSS (Figure II-17).

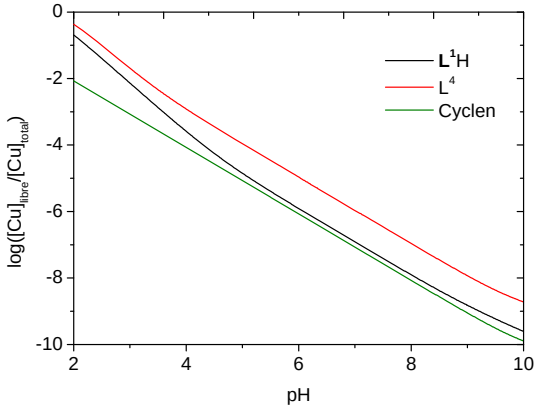


Figure II-17 *: Comparaison des pouvoirs complexants de L^1H, L^4 et du cyclen vis-à-vis de Cu(II),*
$[L] = [Cu^{2+}]_{tot} = 2.10^{-3}$ mol.L^{-1}

La variation de pouvoir complexant des ligands **L**^{1}H, **L**^{4} et du cyclen en fonction du pH est en accord avec les valeurs des constantes de stabilité de leurs complexes de cuivre. Elle montre que sur toute la gamme de pH, le pouvoir complexant de **L**^{1}H est intermédiaire entre celui du cyclen et celui du ligand **L**^{4}. Ceci suggère qu'en solution, la coordination d'un des atomes d'azote du benzimidazole au cuivre vient compenser l'affaiblissement de la force du champ du ligand dans le plan équatorial (dû à la fonctionnalisation d'un atome d'azote du macrocycle).

2. Synthèse et caractérisation du complexe [CuL^{1}H](BF$_4$)$_2$

2.1 Synthèse du complexe de Cu(II) avec le ligand **L**^{1}H

Pour préparer le complexe [Cu**L**^{1}H](BF$_4$)$_2$, un équivalent de tétrafluoroborate de cuivre(II) est dissout dans le méthanol puis est ajouté goutte à goutte à une solution méthanolique du ligand. Après quatre heures d'agitation à reflux, la solution méthanolique est concentrée par évaporation et l'ajout du diéthyléther provoque la précipitation du complexe (*cf.* page 138).

2.2 Caractérisation cristallographique du complexe [CuL^{1}H](BF$_4$)$_2$ par diffraction des RX, par spectroscopie visible et RPE

La structure RX du complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ est présentée dans la Figure II-18 (les atomes d'hydrogène ont été exclus excepté celui de l'azote pyrrolique de benzimidazole).

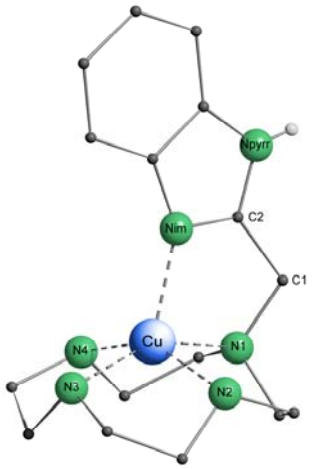


Figure II-18 *: Structure du complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$*

Les principaux paramètres géométriques du complexe sont donnés dans le Tableau II-6.

Tableau II-6 *: Longueurs (Å) et angles de liaison (°) principaux du complexe* $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$

$Cu-N_1$	2,080(2)	N_1-Cu-N_2	85,25(8)
$Cu-N_2$	2,028(2)	N_1-Cu-N_3	151,76(9)
$Cu-N_3$	2,008(2)	N_1-Cu-N_4	86,36(8)
$Cu-N_4$	2,025(2)	N_1-Cu-N_{im}	81,74(8)
$Cu-N_{im}$	2,096(2)	N_2-Cu-N_3	86,54(9)
$N_{im}-C_2$	1,317(2)	N_2-Cu-N_4	146,64(9)
$N_{pyrr}-C_2$	1,347(2)	N_2-Cu-N_{im}	110,74(9)
		N_3-Cu-N_4	85,78(9)
		N_3-Cu-N_{im}	126,36(8)
		N_4-Cu-N_{im}	99,87(9)

Le complexe cristallise dans un système monoclinique (groupe d'espace P_{21}/n) avec une molécule de diéthyléther de cristallisation (Annexe Tableau B). Comme pour le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$, la maille élémentaire du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ comprend quatre unités macrocycliques. Ce complexe possède une géométrie pyramidale à base carrée dans laquelle la sphère de coordination du cation métallique est constituée par les quatre atomes d'azote macrocycliques et l'atome d'azote imine du benzimidazole qui occupe la position axiale de la sphère. Les liaisons Cu-N(secondaire) (2,008-2,028Å) sont sensiblement plus courtes que la liaison Cu-N(tertiaire) (2,080 Å) comme observé précédemment dans le complexe de zinc.[18,19] L'azote imine du groupement benzimidazole coordine le cuivre selon une liaison $Cu-N_{im}$ (2,096 Å) légèrement plus longue que celle mesurée dans le cas du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ ($Zn-N_{im}$ = 1,982 Å). En ce qui concerne les angles, l'angle $N_{im}-Cu-N_1$ (81,74(8)) est largement plus petit que les angles formés avec les autres azotes du macrocycle $N_{im}-Cu-N$ (99,87(9)-126,36(9)). Par conséquent, la géométrie autour du métal est une pyramide à base carrée distordue. L'ion cuivre est situé au dessus du plan moyen des quatre atomes d'azote du macrocycle (d = 0,54 Å), cette valeur est proche de celle mesurée pour la position de l'atome de cuivre dans un cyclen non fonctionnalisé (d = 0,51 Å).[19,2c]

2.3 Caractérisation du complexes $[CuL^1H](BF_4)_2$ par spectroscopie visible et spectroscopie RPE

Afin de vérifier si la géométrie du cuivre dans le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ est maintenue en solution, il est utile de suivre l'évolution du spectre de $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ dans le visible, lorsqu'on passe de l'état solide à la solution aqueuse (Figure II-19)

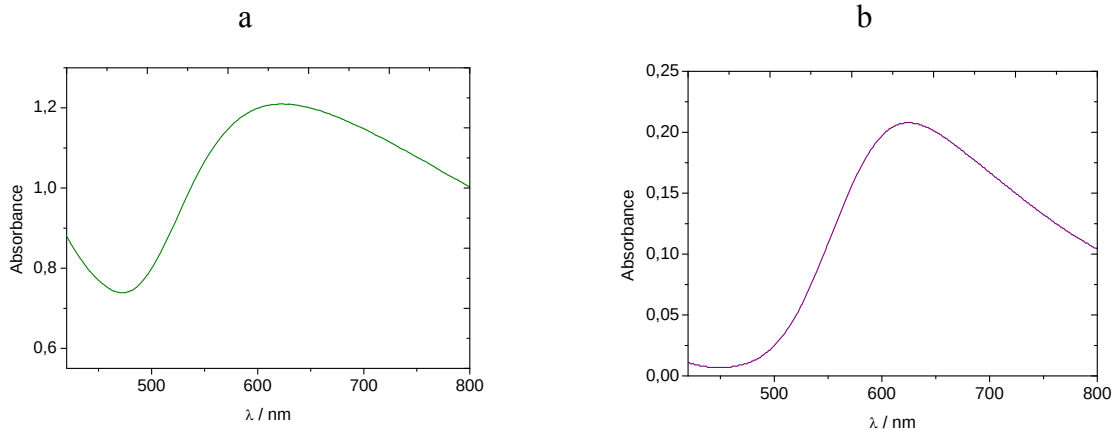


Figure II-19 : *Spectre visible du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ a) à l'état solide, b) dans l'eau ($c_{solution} = 10^{-3}$ mol.L^{-1}, ℓ = 1 cm, T = 25°C)*

Aucune modification nette du spectre n'est observée pour $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ entre le spectre enregistré à l'état solide et celui enregistré en solution (λ_{max} = 625 nm). Ceci signifie que la géométrie du complexe, dans laquelle le Cu(II) possède un environnement pyramidal à base carrée,[9a,19,34,35] est maintenue en solution.

Une preuve supplémentaire de la rétention de la sphère de coordination du cuivre dans le complexe peut être obtenue par spectroscopie de résonance paramagnétique électronique. Le spectre RPE du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ a été enregistré en solution dans le DMF à 150 K. Le spectre est représenté dans la Figure II-20 et les paramètres RPE du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ ainsi que ceux du complexe $[Cu(cyclen)]^{2+}$[36] sont regroupés dans le Tableau II-7.

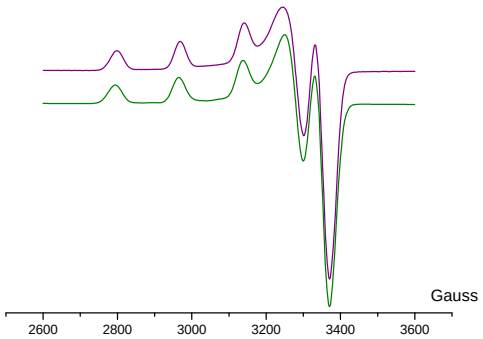


Figure II-20 *: Spectres RPE du complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ dans DMF à 150 K*
(violet : spectre expérimental, vert : spectre obtenu par la simulation)

Tableau II-7*: Paramètres RPE des complexes [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ et [Cu(cyclen)]$^{2+}$*

	$g_{//}$	$g_{\perp}$	$A_{//}$(10^{-4} cm^{-1})	$A_{\perp}$ (10^{-4} cm^{-1})	G[a]
[Cu**L**^{1}H]$^{2+}$	2,207[b]	2,049[b]	173,0[b]	13,1[b]	4,22[b]
[Cu(**cyclen**)]$^{2+}$ [36]	2,198[c]	2,057[c]	184,0[c]		

a- $G = \dfrac{g_{II} - 2}{g_{\perp} - 2}$, b- DMF (150K), c- H_2O (77K)

Le complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ présente une absorption autour de 3200G, caractéristique de la transition autorisée $\Delta m_s = 1$ pour un ion Cu(II) en symétrie axiale. La composante parallèle présente une structure hyperfine constituée de quatre raies équidistantes. Les raies sont dues au couplage hyperfin entre le spin électronique de l'électron célibataire du Cu(II) et le spin nucléaire du cuivre (I = 3/2).

La valeur de $g_{//}$ supérieure à celle de $g_{\perp}$, ainsi que celle du facteur G supérieure à 4 sont caractéristiques de complexes de cuivre d^9, pour lesquels l'électron célibataire occupe l'orbitale d_{x2-y2}.[37]

De plus, la valeur de $A_{//}$ de [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ est plus petite que celle déterminée dans le complexe [Cu(cyclen)]$^{2+}$. Ceci illustre une distorsion géométrique plus prononcée autour du métal dans le complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$, compatible avec une géométrie pyramide à base carrée.

2.4 Evolution de la sphère de coordination de Cu(II) dans le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$ en fonction du pH

Les études potentiométriques en solution du système {Cu(II)-$\mathbf{L^1}$H} ont montré que deux espèces sont majoritairement formées : $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ entre pH 4 et pH 8, puis $[Cu\mathbf{L^1}]^{+}$ au-delà de pH 10. La comparaison des données obtenues pour le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ à l'état solide et en solution a permis de préciser le mode de coordination du cuivre dans le complexe. Afin d'avoir une description complète des espèces obtenues en solution, et en particulier, une connaissance du mode de coordination du cuivre dans la deuxième espèce $[Cu\mathbf{L^1}]^{+}$, un suivi des spectres ultraviolet (au niveau de la sonde benzimidazole) et visible (au niveau de la bande d-d du cuivre) en fonction du pH a été entrepris Figure II-21.

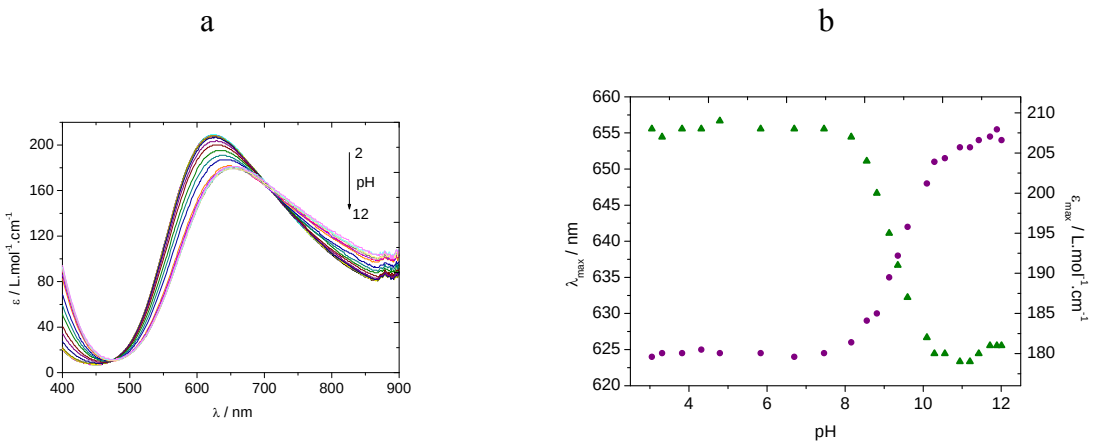


Figure II-21 *: Evolution en fonction du pH, a) des spectres visible (c = 10^{-3} mol.L^{-1}) b) de λ (●) et de ε_{650} (▲) pour $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$, I = 1 (NaCl), ℓ = 1 cm, T = 25°C*

La position du maximum d'absorption pour la bande d-d du cuivre (λ = 625 nm) en fonction du pH est comme attendu inchangée jusqu'à pH = 8,5 (Figure II-21a). En effet, dans ce domaine de pH l'espèce majoritaire est $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$, dans laquelle le cuivre est pentacoordiné.[34]

Au-delà de pH = 8,5 la bande d-d du cuivre subit un effet bathochrome (Δλ = 25 nm) et hyperchrome (Figure II-21b). Cette évolution doit être examinée en parallèle avec la variation de la partie UV du spectre qui concerne la sonde benzimidazole (Figure II-22).

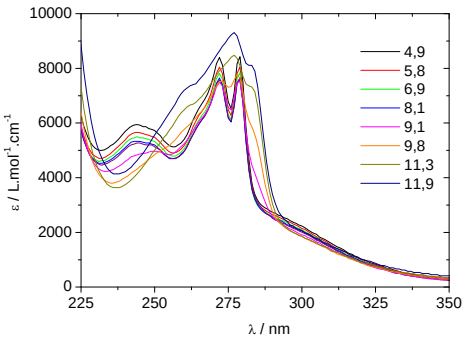


Figure II-22 *: Evolution en fonction du pH des spectres UV (c=3.10^{-5} mol.L^{-1}) de [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$, I = 1 (NaCl), ℓ = 1 cm, T = 25°C*

Dans ce domaine de pH, une augmentation de pH se traduit par l'apparition d'une bande à λ = 282 nm attribuée, dans le cas du complexe de zinc (*cf.* paragraphe 3.1, page 96-97), à la formation d'un benzimidazolate. On peut donc déduire que la variation observée sur la bande d-d du cuivre est due à une modification de la densité électronique autour du métal, consécutive à la déprotonation du benzimidazole.[38]

Cette proposition est vérifiée si on reporte l'évolution de l'intensité de la bande λ = 282 nm (Figure II-23) sur le diagramme définissant les domaines d'existence des espèces [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ et [Cu**L**^{1}]$^{+}$.

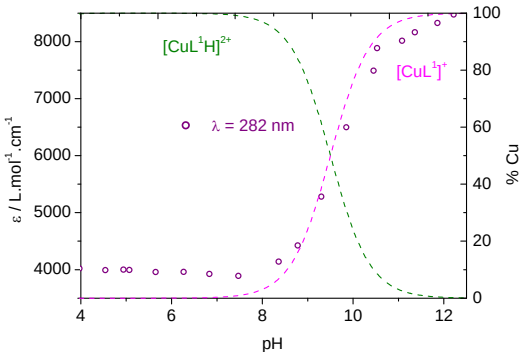


Figure II-23 *: Evolution de la bande λ= 282 nm en fonction du pH,*
c = 10^{-3} mol.L^{-1} I = 1 (NaCl), ℓ = 1 cm, T = 25°C

La variation de l'intensité de la bande λ = 282 nm accompagne la formation de l'espèce [Cu**L**^{1}]$^{+}$. L'ensemble de ces données permet alors de proposer que dans le complexe [Cu**L**^{1}]$^{+}$, le cuivre est toujours pentacoordiné par les quatre atomes d'azote du macrocycle et un des deux atomes d'azote du benzimidazole déprotoné, dans une géométrie probablement de type pyramide à base carrée.

B.3 - Complexes de cadmium

1. Synthèse et caractérisation des complexes $[CdL^1H]^{2+}$

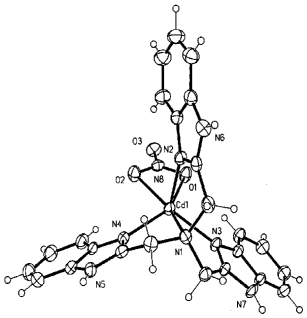
1.1 Synthèse des complexes de Cd(II) avec le ligand $\mathbf{L^1}H$

Les complexes $[Cd\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ et $[Cd\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$ ont été préparés selon un mode opératoire similaire à celui utilisé pour les complexes de zinc et cuivre (*cf.* page 138).

1.2. Caractérisation des complexes $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ par RMN ^{13}C

Les complexes de Cd(II) étant diamagnétiques, une structure en solution du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ peut être proposée, sur la base de l'analyse des spectres RMN ^{13}C et ^{1}H.

Le spectre RMN ^{13}C du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ présente douze résonances dont quatre (44,91, 45,40, 46,00 et 52,61 ppm) correspondent aux atomes de carbone du macrocycle et une à l'atome de carbone en α du groupement benzimidazole (53,55 ppm). Les sept autres résonances (114,03, 120,82, 124,56, 125,53, 136,18, 141,90 et 156,77 ppm) correspondent à la partie aromatique du ligand. Comme observé dans le cas du complexe de zinc, l'augmentation du nombre de résonances du groupement benzimidazole par rapport à celui du ligand (quatre résonances pour les carbones aromatiques) permet de conclure que le cadmium est coordiné par l'azote imine du benzimidazole. Le spectre RMN ^{1}H du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ apporte des informations supplémentaires sur la structure du complexe en solution. En effet dans la partie aromatique, le spectre de $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ présente trois résonances à (7,91 ppm (1H), 7,60 ppm (1H), 7,34 ppm (1H)) alors que pour le ligand $\mathbf{L^1}H$ et le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ les spectres ne présentaient que deux résonances. Dans le complexe de cadmium, les protons H_α du benzimidazole ne sont plus alors équivalents deux à deux. Afin de déterminer l'origine de cette dissymétrie, l'analyse de structures de complexes de cadmium relevés dans la bibliographie s'avère utile.[39] Dans la plupart de ces structures, le cadmium peut avoir une coordination supérieure à six, la sphère de coordination du cadmium étant complétée par des contre-ions (Schéma II-10).[40]



H_α (8,11 ; d), H_α (7,55 ; d) et H_β (7,33 ; t)

Schéma II-10 *: Structure du complexe [Cd (tris-méthylbenzimidazole amine)]$(NO_3)_2$*

Dans le complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$, si l'on envisage la coordination d'un contre-ion (nitrate par exemple), celui-ci peut être coordiné de façon bidentée au cadmium (Schéma II-11).

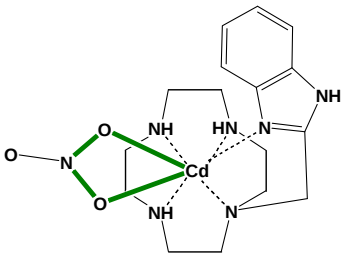


Schéma II-11 *: Proposition de structure pour $[Cd\mathbf{L^1}H(NO_3)]^+$*

Cette coordination d'anion a alors pour conséquence de différencier l'environnement des deux protons H_α du benzimidazole.

2. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de Cd(II) avec le ligand L^1H

2.1 Etude potentiométrique de complexe du cadmium

Puisque la cinétique de formation des complexes de cadmium(II) avec les ligands tétraazamacrocycliques est aussi lente que celle des complexes de zinc(II) à pH acide,[41] la constante de formation du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ a également été déterminée par la méthode des « batch » dans les conditions expérimentales mises au point lors de l'étude du complexe de zinc(II). Des exemples des courbes potentiométriques sont présentées dans la Figure II-24a.

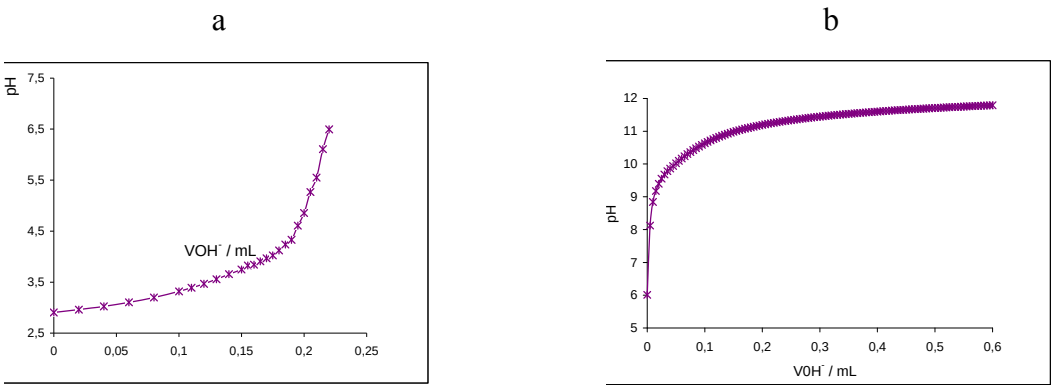


Figure II-24 : *Titrage potentiométrique a) de solutions {**L**^{1}H-Cd} par la méthode des « batch », b) de [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$ par titrage continu*

*[**L**^{1}H] = [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$ = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, [OH$^-$] = 0,1 mol.L^{-1}, T = 25°C, I = 1 (KNO$_3$)*

De même que pour le complexe [Zn**L**^{1}H]$^{2+}$, une constante de déprotonation pour le complexe [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$ a été déterminée par titrage potentiométrique direct d'une solution de [Cd**L**^{1}H(NO$_3$)$_2$]$^{2+}$ pour des pH supérieurs à 5.

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes de Cd(II) avec **L**^{1}H

Les résultats expérimentaux obtenus sont traités par le logiciel PROTAF. Les constantes de stabilité sont présentées et comparées à celles de système homologues dans le Tableau II-8.

Tableau II-8 : *Constantes globales de formation des complexes [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$, [Cd**L**^{6}]$^{2+}$ et [Cd(cyclen)]$^{2+}$, T = 25°C, I = 1 (KNO$_3$), [**L**^{1}H] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}*

Equilibre	**L**^{1}	**L**^{6}	**cyclen**
	log β_{mlh}	log β_{mlh}	log β_{mlh}
Cd+**L**+H$^+$ ⇌ Cd**L**H	27,01 (8)		
Cd +**L** ⇌ Cd**L**	17,06 (8)	17,7[27]	14,3[41]
	log K		
Cd+**L**H ⇌ Cd**L**H	15,96		
Cd**L**H ⇌ Cd**L**+H$^+$	-9,95		

La constante de formation du complexe [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$ est comprise entre celles de [Cd**L**^{6}]$^{2+}$ (log β_{110} = 17,7) et de [Cd(cyclen)]$^{2+}$ (log β_{110} = 14,3). Le complexe [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$ est donc plus stable que [Cd(cyclen)]$^{2+}$ en raison, sur le ligand **L**^{1}H, d'un cinquième site de coordination disponible pour le métal. La légère différence de stabilité avec le complexe

$[Cd\mathbf{L^6}]^{2+}$, en faveur de ce dernier, peut être attribuée à la différence de nature entre le cinquième atome d'azote coordinant dans $\mathbf{L^1}H$ (atome d'azote tertiaire) et $\mathbf{L^6}$ (atome d'azote secondaire).

A ce stade de l'étude, il est intéressant de comparer la stabilité respective des espèces $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K = 16,13), $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K = 21,75) et $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K = 15,96). Cet ordre de stabilité suit pour les deux premiers complexes l'ordre de stabilité prévu par la série d'Irving-Williams.[42] Les stabilités des complexes de Zn(II) et de Cd(II) sont de plus voisines de celles déjà déterminées pour des systèmes analogues.[27] Cette similarité doit être corrélée à la similitude entre les deux cations (structure électronique en d^{10}, la taille du Cd^{2+} supérieure à celle du Zn^{2+}, ne constituant pas un handicap à sa complexation dans le cas de ligands de type cyclen, puisque dans ce cas, le ligand permet une complexation à l'extérieur de la cavité).

Une constante de déprotonation a été déterminée à log K = - 9,95 pour le complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$. Cette valeur est sensiblement supérieure à celle du complexe de zinc (8,65). La différence entre les deux constantes de déprotonation est due au fait que le zinc, acide de Lewis plus fort que le cadmium, a la possibilité de rendre le proton pyrrolique du benzimidazole plus acide.

Enfin, ces données potentiométriques sont utilisées pour tracer le diagramme de répartition des différentes espèces du système {Cd(II)-$\mathbf{L^1}H$} en fonction du pH (Figure II-25).

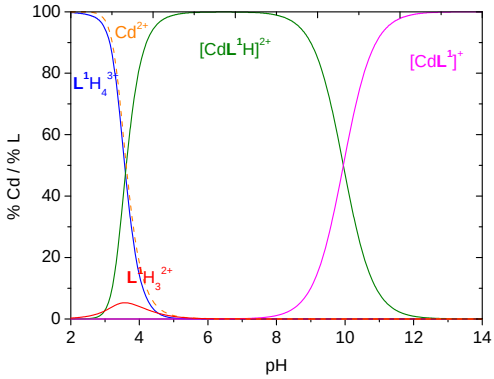


Figure II-25 *: Courbes de distribution des espèces complexes associées au système {Cd(II)-* $\mathbf{L^1}H$*} en fonction du pH ([Cd] = [*$\mathbf{L^1}H$*] = 2.10*$^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$*)*

Ce diagramme est similaire à celui obtenu dans le cas de complexe de zinc. Il montre que le complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ est majoritaire entre pH 4 et pH 8 puis se déprotone au-delà de

pH 9. Afin de préciser la structure de ce dernier complexe $[Cd\mathbf{L^1}]^+$, une étude spectroscopique en fonction du pH a été réalisée pour le système {Cd(II)-$\mathbf{L^1}$H}.

3. Evaluation de la sphère de coordination de Cd(II) dans le complexe $[CdL^1H]^{2+}$ en fonction du pH

Pour le complexe de Cd(II), une étude analogue à celle menée sur le complexe de Zn(II) avec le ligand $\mathbf{L^1}$H, a été effectuée par spectroscopie UV et RMN ^{1}H en fonction du pH.

En spectroscopie UV, les analyses effectuées précédemment ont montré que tant que le complexe n'est pas déprotoné, le spectre n'évolue pas. La perte d'un proton sur le complexe se traduit ensuite par l'apparition d'une bande à λ = 282 nm, signe de la déprotonation de la sonde benzimidazole. Pour le système {Cd(II)-$\mathbf{L^1}$H}, le suivi de l'intensité de la bande à λ = 282 nm en fonction du pH (Figure II-26), indique que celle-ci commence à apparaître à partir de pH = 9.

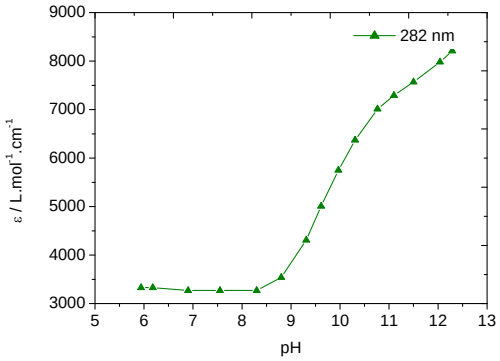
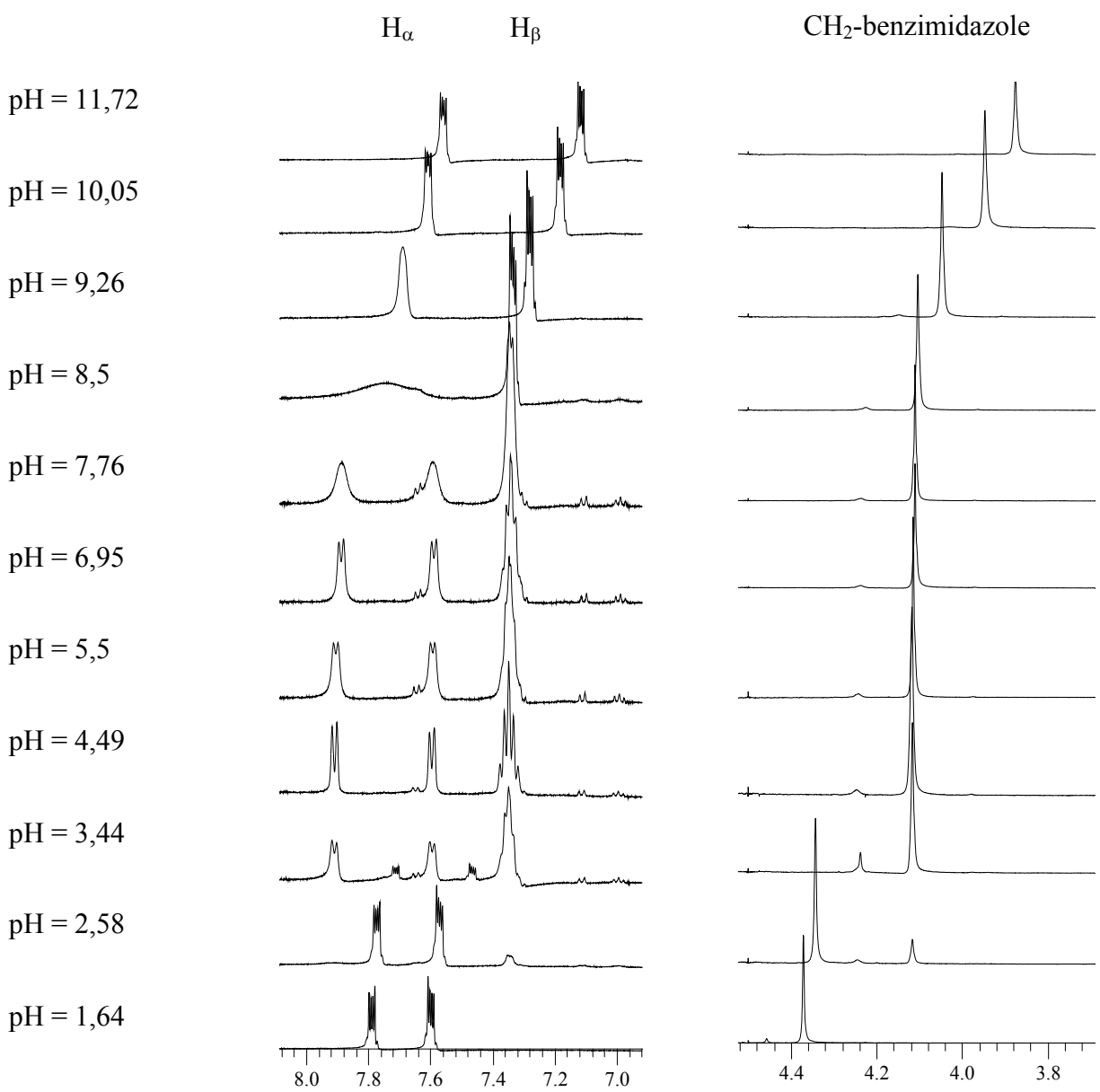
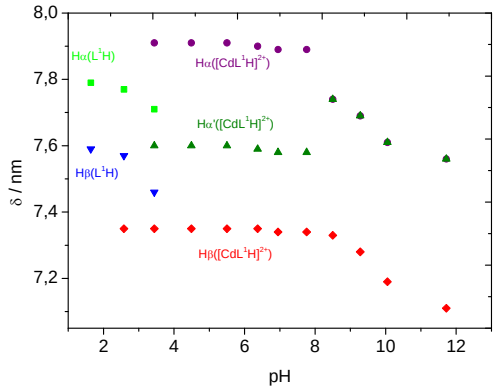


Figure II-26 *: Evolution de ε (λ = 282 nm), en fonction du pH*
(c = 3.10^{-5} mol.L^{-1}, I = 1(NaCl), T = 25°C , ℓ= 1 cm)

L'évolution de cette bande en fonction du pH se fait selon une courbe sigmoïdale dont le point d'inflexion est situé à pH = 9,95 (Figure II-26). Cette valeur est proche de la valeur déterminée précédemment par potentiométrie pour la constante de déprotonation du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K = 9,9).

En RMN ^{1}H, l'évolution du spectre du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ est comparable à celle du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (Figure II-27).





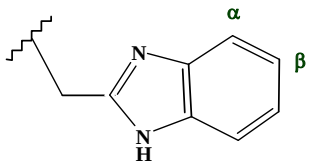


Figure II-27 *: Evolution des δ (H$_{aromatiques}$) et δ (N$_{cyclen-CH2}$) du complexe [Cd**L^1**H]$^{2+}$ en fonction du pH*

D$_2$O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 250 MHz

L'évolution du spectre du complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ est comparable à celle du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$. Pour la sonde benzimidazole, à des pH très acides (pH = 1,64), seuls les deux signaux des protons aromatiques (7,79 et 7,59 ppm) apparaissent. A fur et à mesure que le pH augmente, ces deux signaux diminuent tandis qu'un second jeu de signaux caractéristiques du complexe de cadmium(II) commence à apparaître (7,91 (H_α), 7,60 (H_α) et 7,35 (H_β) ppm). A partir de pH = 8,5 le complexe subit des modifications notables puisque les deux signaux des protons H_α coalescent pour donner un signal large centré à 7,74 ppm. Au-delà de pH = 9,26, le signal unique des protons H_α s'affine et subit, tout comme le signal associé aux protons H_β, un blindage (Δ (δ) : 0,05 ppm) quand le pH augmente. Ce déplacement de signaux à champ fort doit être corrélé à une augmentation de la densité électronique consécutive à la déprotonation du benzimidazole.

A titre de remarque, il faut indiquer que les signaux des protons portés par le groupement méthylène situé en α du cyclen et du benzimidazole subissent la même évolution en fonction du pH que ceux de la sonde.

L'analyse conjointe des données de spectroscopie UV et RMN ^1H indique donc que la sonde benzimidazole est coordinée à l'atome de cadmium dans le complexe $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$. L'évolution en fonction du pH des divers spectres indique, par ailleurs, que le mode de coordination de Cd(II) est inchangé dans le complexe $[Cd\mathbf{L^1}]^{+}$, les seules modifications étant à nouveau pour le complexe, dues à la déprotonation du benzimidazole.

C- DOSAGES DE Zn^{2+}, Cu^{2+} ET Cd^{2+} PAR LE LIGAND L^1H EN SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE ET SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE

Les études précédentes ont montré que le ligand $\mathbf{L^1}H$ est un bon complexant pour les ions Zn^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}. Comme cela a été précisé en introduction de ce chapitre, le ligand a été conçu pour détecter la complexation de ces cations à des faibles concentrations. Pour cela, dans la dernière partie de ce chapitre, le suivi de la réponse de $\mathbf{L^1}H$ en présence de ces cations sera tout d'abord effectué par spectroscopie UV-visible. Dans le but de descendre les limites de détection du ligand $\mathbf{L^1}H$, le suivi de sa réponse en présence des mêmes cations sera ensuite effectué par spectroscopie de fluorescence. Comme les études potentiométriques ont montré que le pH du milieu influe sur la nature des espèces formées, ce paramètre sera pris en compte pour analyser de façon comparative la réponse en fluorescence du ligand $\mathbf{L^1}H$ et des divers

complexes. Cette analyse sera ensuite utilisée pour déterminer les conditions opératoires optimales nécessaires à la mise au point d'un test de dosage par **L**^{1}H du cation cible, le zinc.

1. Dosages de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par L^{1}H en spectroscopie UV-visible

L'analyse des spectres UV des systèmes {Zn(II)-**L**^{1}H}, {Cu(II)-**L**^{1}H} et {Cd(II)-**L**^{1}H} effectuée dans les paragraphes précédents indique un changement net des spectres à partir de pH = 9, ce changement se manifestant par l'apparition d'une nouvelle bande d'intensité croissante à λ = 282 nm. Dans tous les systèmes, cette nouvelle bande attachée à la formation de benzimidazolate, est donc un bon indicateur pour mettre au point un dosage des cations choisis par spectroscopie UV. Pour cela la réponse, du ligand **L**^{1}H, en solution dans le tampon CAPS (pH = 10,4), en présence de quantités croissantes de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} a été analysée (Figure II-28).

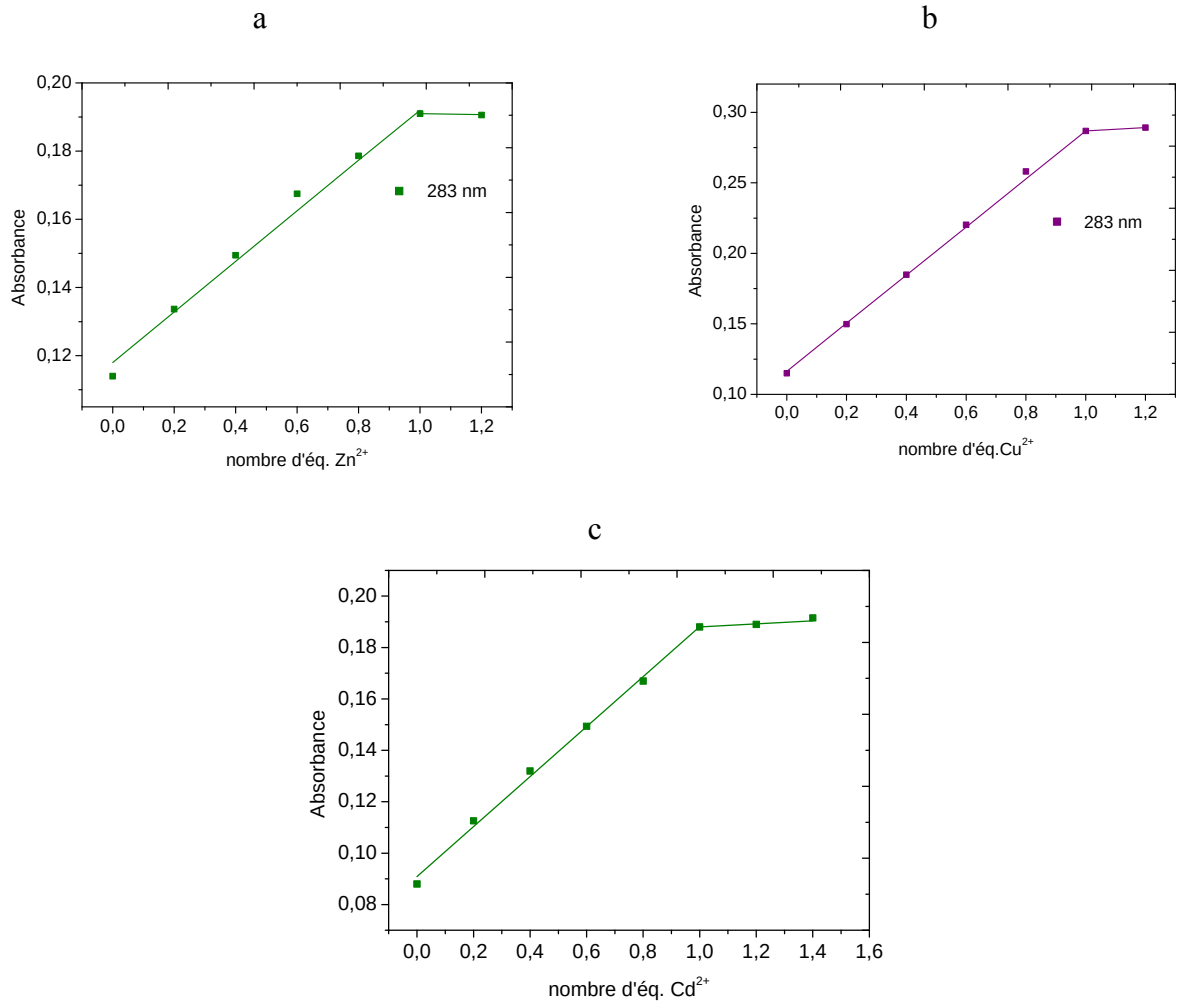


Figure II-28 *: Titrages de* ***L***^{1}*H (3.10*$^{-5}$ *mol.L*$^{-1}$*) à λ = 282 nm en présence de quantités croissantes de a) Zn^{2+},b) Cu^{2+}, c) Cd^{2+} (pH = 10,4 (CAPS), I = 1 (NaCl), T = 25°C), ℓ = 1 cm*

Les résultats obtenus montrent que la variation d'absorbance du signal du benzimidazole est linéaire, jusqu'à l'ajout d'un équivalent de chacun des cations. Au-delà d'un équivalent de cation ajouté, l'absorbance est stabilisée. Ce résultat est compatible dans chacun des cas avec la formation d'un complexe M : **L**^{1}H (M = Zn^{2+}, Cu^{2+} ou Cd^{2+}) de stœchiométrie 1 :1. Dans chacun des cas, l'ajout de 0,1 équivalent de cation provoque une variation d'absorbance significative de la bande à λ = 282 nm ce qui permet de déterminer dans chacun des cas, une limite de détection du cation à 3.10^{-6} mol.L^{-1}.

2. Réponse fluorimétrique de L^{1}H en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}

L'objectif étant de mettre au point à partir du ligand **L**^{1}H un test de dosage sélectif du Zn^{2+}, la première étape de la mise au point consiste à comparer la fluorescence du ligand seul en fonction du pH à la fluorescence des différents complexes de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}. La seconde étape consistera à identifier la zone de pH optimale dans laquelle une différence significative entre la réponse du ligand et celle des différents complexes pourra être établie.

2.1 Etude du comportement fluorescent de **L**^{1}H en fonction du pH

L'évolution de la fluorescence de **L**^{1}H entre pH 4 et 12 à une température de 25°C est reportée à la Figure II-29.

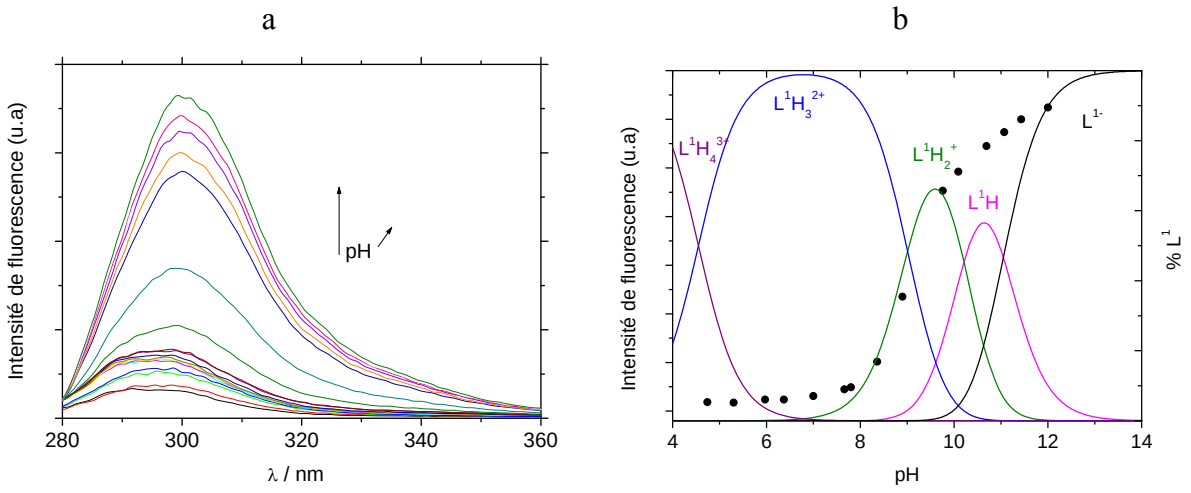


Figure II-29 *: a) Variation de I_F (**L**^{1}H) en fonction du pH, b) Evolution de I_F à λ_{em}= 301 nm.*
*[**L**^{1}H] = 5.10^{-7} mol.L^{-1}, I = 0,1 (NaCl), T = 25°C, λ_{exc}= 270 nm*

A pH acide, le ligand est faiblement fluorescent puis, la fluorescence augmente avec le pH (Figure II-29a). Cette exaltation de fluorescence est accompagnée d'un déplacement

bathochrome du maximum d'émission ($\Delta\lambda$ = 6 nm). Si l'on reporte l'évolution de l'intensité de fluorescence en fonction du pH sur le diagramme de répartition des différentes formes protonées du ligand **L**^{1}H, on constate que cette intensité croît selon une courbe sigmoïdale dont le point d'inflexion est situé aux environs de pH 9 (Figure II-29b). Un accroissement supplémentaire de l'intensité est observé au-delà de pH 11. Cette évolution s'accompagne une augmentation du rendement quantique de fluorescence de ϕ = 0,21 à pH 10,4 à ϕ = 0,30 à pH 12.

Ces données indiquent que pour **L**^{1}H, la protonation du ligand s'accompagne d'une extinction de fluorescence. Cette évolution peut être rapprochée de celle décrite pour le benzimidazole et ses dérivés.[43] En effet, lorsque le mode de désexcitation radiatif de ces composés a été analysé, il a été proposé qu'en milieu acide, leur désexcitation radiative est de type transfert de charge. Ce transfert de charge intervient entre le cycle benzénique du benzimidazole et le cycle imidazole protoné, la protonation du cycle imidazole étant la force motrice du processus. En milieu neutre ou basique, le mode de désexcitation radiatif de ces composés est de type $\pi^*\rightarrow\pi$. Du point de vue des rendements quantiques associés, le changement de mode de désexcitation se traduit par une augmentation du rendement lorsque l'acidité du milieu diminue.[43b] l'explication de cette évolution reposant sur le fait que même si la transition à transfert de charge est plus basse en énergie que la transition $\pi^*\rightarrow\pi$, elle a une probabilité plus faible de se produire (d'où un rendement quantique plus bas).[43a] Pour le benzimidazole et ses dérivés, la protonation de l'imidazole s'accompagne donc d'une extinction de fluorescence. Cette explication pourrait suffire pour expliquer le comportement du benzimidazole dans **L**^{1}H mais cela serait occulter la possibilité de transfert d'électron photoinduit entre les différentes formes protonées du macrocycle et le fluorophore benzimidazole. Dans la partie bibliographie de ce manuscrit, il a été rappelé que pour le type de ligand étudié ici, l'existence du phénomène PET peut être responsable de l'extinction de fluorescence. Rappelons que la possibilité de transfert d'électron photoinduit[44] peut être prédite, sur la base de la considération, des orbitales frontières du fluorophore F* et du récepteur R (Schéma II-12).

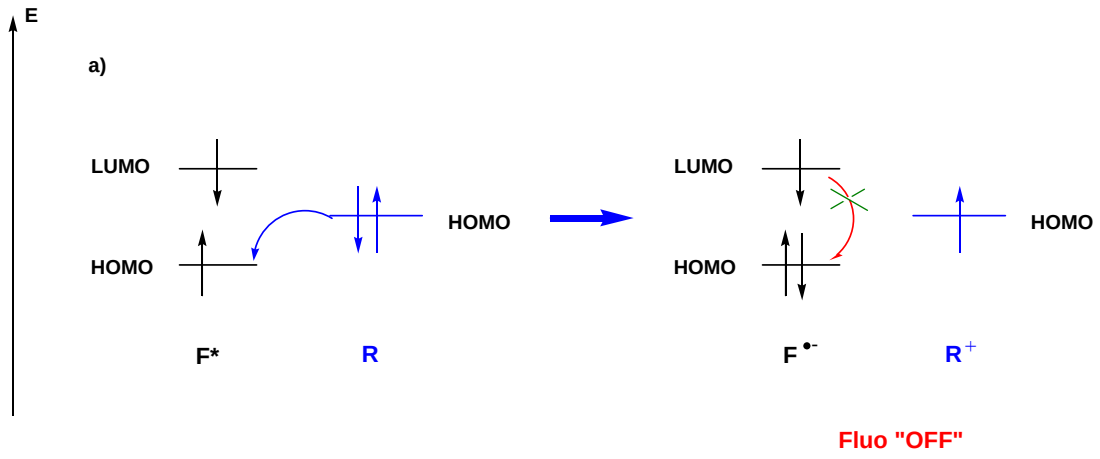


Schéma II-12 *: Bilan électronique du principe PET*

Une analyse de ce type peut être tentée pour le ligand **L**^{1}H et ses différentes formes protonées. Pour cela, le calcul des orbitales moléculaires des différentes espèces issues de **L**^{1}H (présentées dans la partie modélisation moléculaire de ce Chapitre p.83) a été effectué en méthode DFT/B3LYP/6-31G* (l'effet de solvant étant inclus). La visualisation des orbitales moléculaires, effectuée grâce au logiciel MOLDEN, permet d'identifier des orbitales moléculaires localisées sur la partie benzimidazole et les orbitales moléculaires localisées sur la couronne macrocyclique. Etant donné la structure du fluoroionophore, pour des raisons de proximité, le processus de transfert d'électron le plus efficace est celui qui va intervenir entre le doublet de la fonction amine tertiaire du macrocycle et le benzimidazole. Parmi l'ensemble des orbitales moléculaires des différentes espèces protonées, il s'agit donc de suivre l'évolution de l'énergie de l'orbitale moléculaire décrivant le doublet non liant de la fonction amine tertiaire par rapport à la dernière orbitale moléculaire occupée localisée sur le benzimidazole. Cette évolution est reportée dans le Schéma II-13.

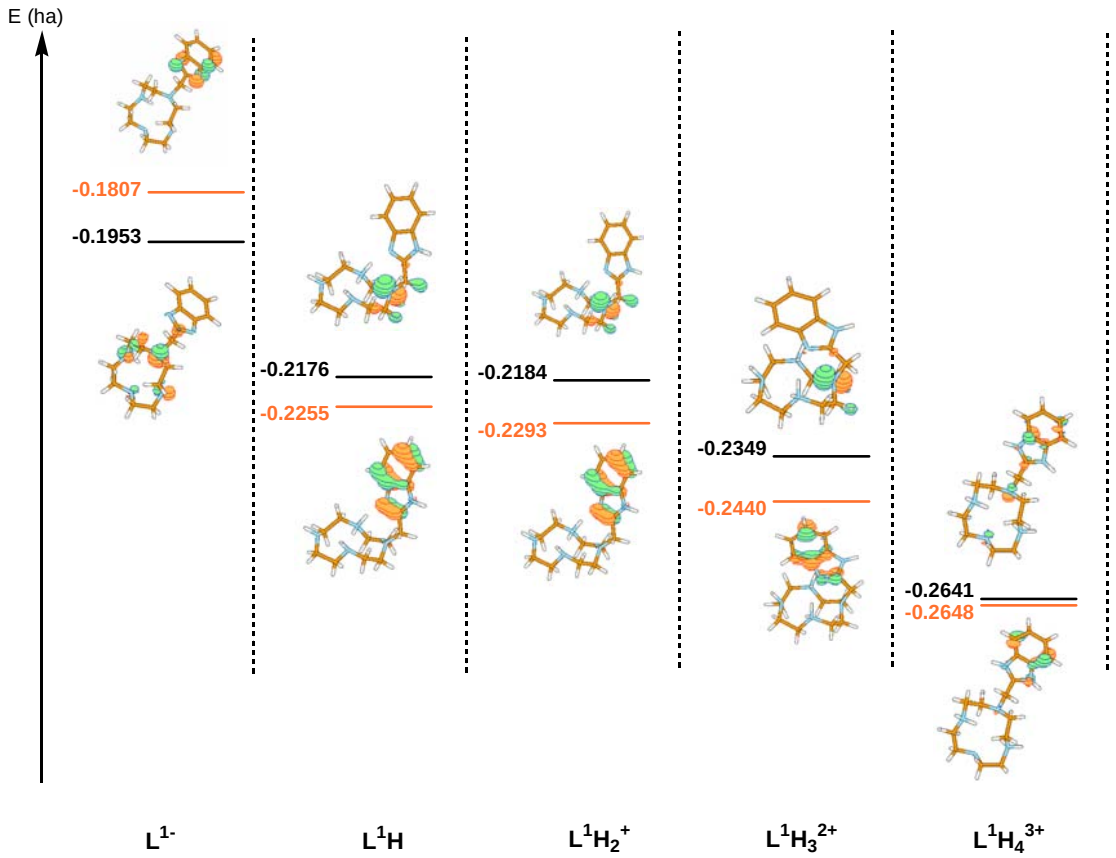


Schéma II-13 *: Evolution des niveaux moléculaires HOMO benzimidazole / doublet $N_{tertiaire}$ en fonction de la protonation de* ***L***^{1}*H*

D'après l'expression de l'énergie Gibbs du transfert d'électron photoinduit $\Delta G^{0}_{eT} = e\left[E^{0}(R^{\bullet+}/R) - E^{0}(F^{*}/F^{\bullet-})] - \Delta E_{00}\ (F)\right]$, il suffit que l'énergie de l'orbitale associée au fluorophore soit supérieure à l'énergie de l'orbitale associée au doublet non liant de la fonction amine tertiaire pour que le processus PET soit impossible et que la fluorescence du système s'exprime. Dans ces conditions, les résultats précédents montrent que pour l'espèce $\mathbf{L}^{1-}$ la fluorescence du système s'exprime tandis que pour l'espèce $\mathbf{L}^{1}$H, et de façon plus nette pour les espèces $\mathbf{L}^{1}H_2^{+}$ à $\mathbf{L}^{1}H_4^{3+}$, le processus PET peut intervenir.

2.2 Comportement fluorimétrique de $\mathbf{L}^{1}$H en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}

a- Etude préliminaire – Fluorescence de complexe $[Zn\mathbf{L}^{1}H]^{2+}$ en fonction du pH

L'objectif étant de mettre au point un test de dosage sélectif du zinc par fluorescence, une étude préliminaire a été effectuée pour examiner l'évolution de fluorescence du complexe

$[ZnL^1H]^{2+}$ en fonction du pH. Les spectres de fluorescence obtenus sont reportés dans la Figure II-30.

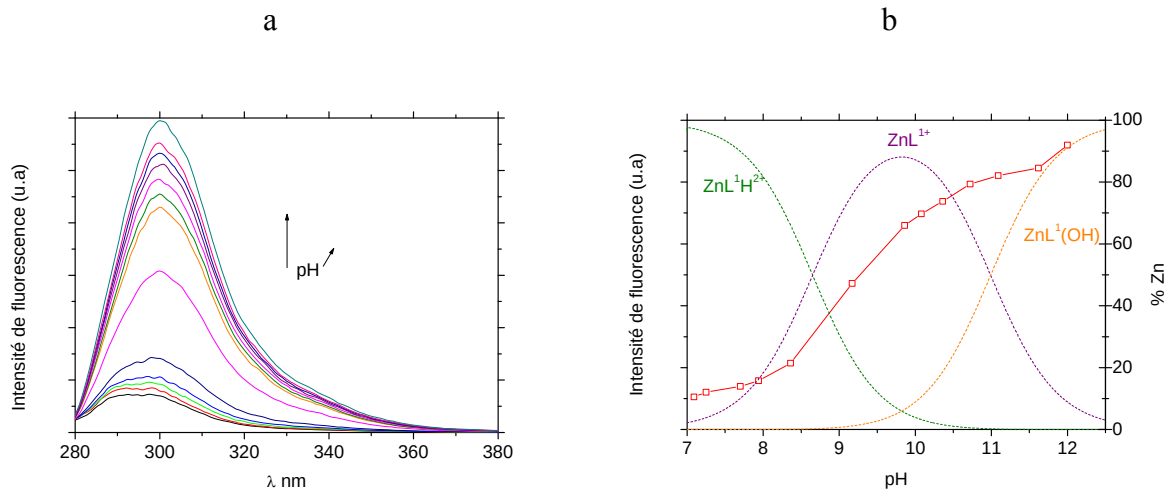


Figure II-30 *: a) Variation de I_F en fonction du pH, b) évolution de I_F à λ_{em}= 301 nm.*
$[ZnL^1H]$ = 5.10^{-7} mol.L^{-1}, I = 0,1 (NaCl), T = 25°C, λ_{exc} = 270 nm

L'intensité de fluorescence augmente avec le pH : elle est directement liée à la formation du complexe $[ZnL^1]^+$ dans lequel le benzimidazole est déprotoné. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus pour le système {Zn-cyclen-dansylamidoéthyl} dans lequel l'exaltation de fluorescence en présence de zinc intervient sur le substituant dansylamide déprotoné (Schéma II-14).[45]

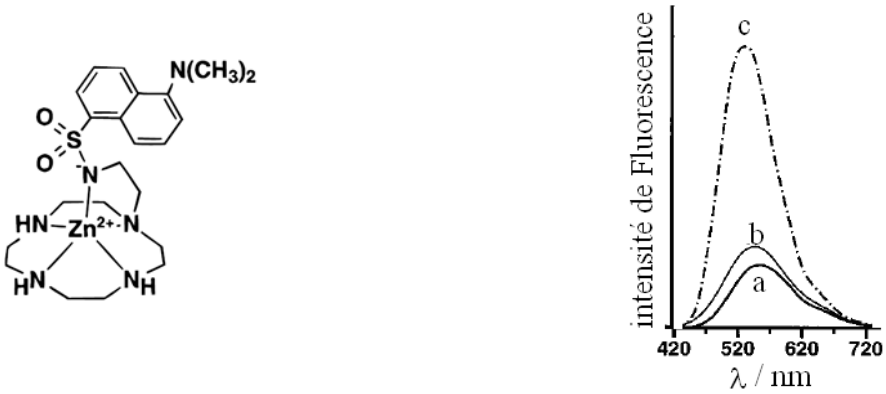


Schéma II-14 *: Evolution de la fluorescence du cyclen-dansylamidoéthyl en fonction du pH*
a) pH = 7,4 et b) pH = 12,5 et c) en fonction de la présence de Zn^{2+}

b- Variation de la fluorescence de $\mathbf{L^1}H$ *en présence de* Zn^{2+}

La comparaison de l'évolution de fluorescence du ligand seul, à celle du complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ en fonction du pH, permet de déterminer la zone de pH dans laquelle le test de dosage pourra être effectué. Cette comparaison montre que jusqu'à pH 8 les deux tracés se superposent, puis, au-delà de pH 8,4, une différence significative apparaît (Figure II-31).

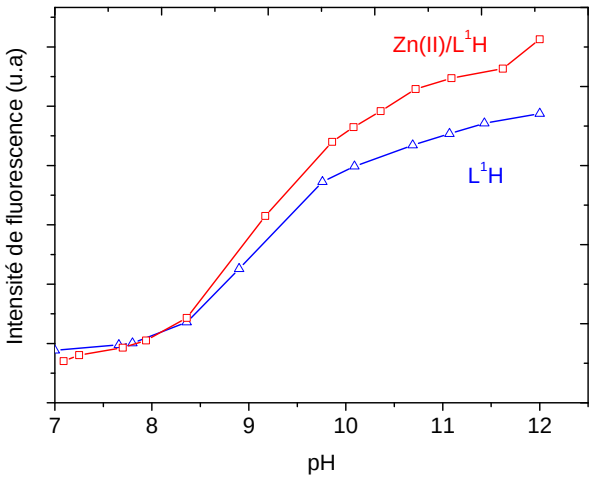


Figure II-31 **:** *Intensité de fluorescence comparées pour* $\mathbf{L^1}H$ *(△) et* $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ *(□) en fonction du pH*

λ_{exc} *= 270 nm,* λ_{em} *= 301 nm, c =* 5.10^{-7} *mol.L*$^{-1}$*, I = 0,1 (NaCl)*

Un premier test de réponse fluorimétrique de $\mathbf{L^1}H$ en présence de quantités croissantes de Zn^{2+} a été effectué en tampon HEPES (pH = 7,4) (Figure II-32).

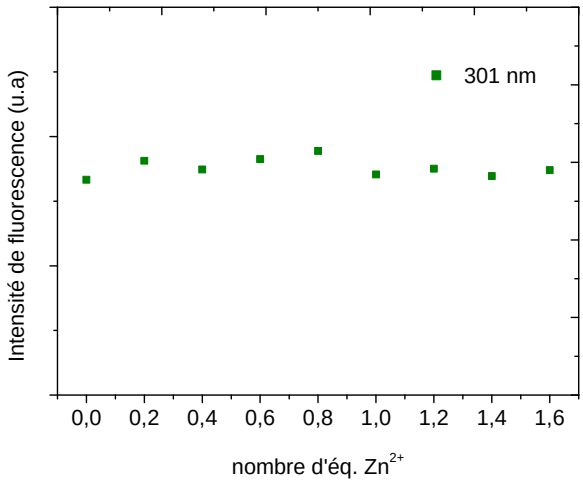


Figure II-32 *:* I_F *(* $\mathbf{L^1}H$ *) = f [*$n_{éq}(Zn^{2+})$*] à pH = 7,4*

λ_{exc} *= 270 nm,* λ_{em} *= 301 nm, [*$\mathbf{L^1}H$*]=* 5.10^{-7} *mol.L*$^{-1}$*, I = 0,1 (NaCl), T = 25°C*

Ce test est infructueux puisque l'ajout de Zn^{2+} ne provoque aucune variation de la réponse de **L**^{1}H.

Un second test a été effectué en tampon CAPS (pH = 10,4). Cette fois ci, comme le laissait prévoir l'étude préliminaire, l'intensité de fluorescence de **L**^{1}H croît en fonction de l'ajout d'ions Zn^{2+} (Figure II-33).

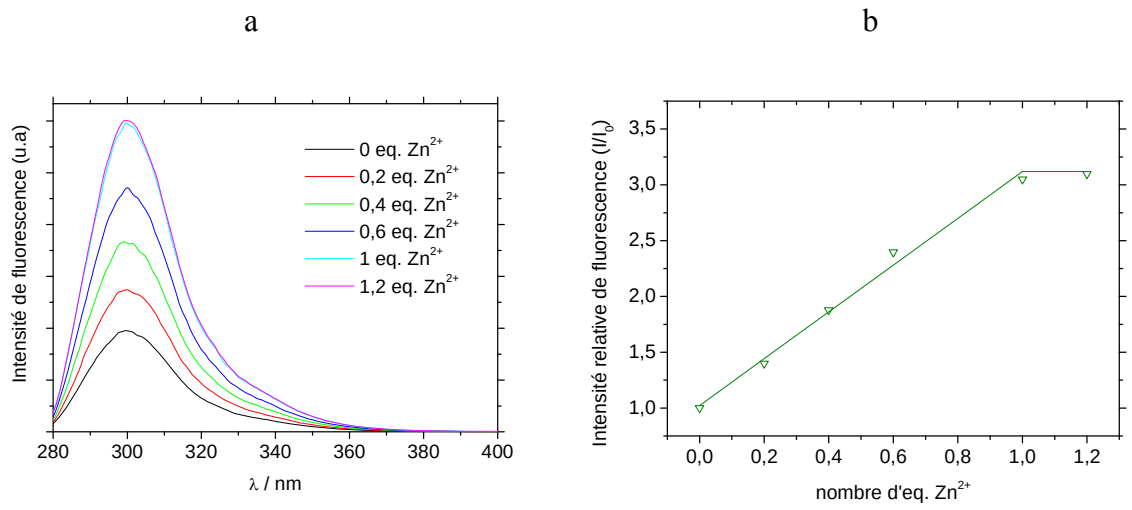


Figure II-33 *: a)* $I_F(\mathbf{L}^1H) = f\,[n_{éq}(Zn^{2+})]$, *b)* $I_R^a(\mathbf{L}^1H) = f\,[n_{éq}(Zn^{2+})]$ *à pH = 10,4*
λ_{exc} *= 270 nm,* λ_{em} *= 301 nm,* $[\mathbf{L}^1H] = 5.10^{-7}$ *mol.L*$^{-1}$*, I = 0,1(NaCl), T = 25°C*

[a)] $I_R = I/I_0$ *= Intensité de fluorescence du ligand en présence du métal/ Intensité de fluorescence du ligand seul*

L'émission de fluorescence du ligand **L**^{1}H augmente linéairement avec l'augmentation de la teneur en zinc et ce, jusqu'à un équivalent de zinc ajouté. Le rendement quantique évolue d'une valeur $\phi = 0,21$ à une valeur $\phi = 0,63$. Il y a donc bien proportionnalité entre la concentration en zinc et l'intensité de fluorescence. Pour un équivalent de zinc ajouté, l'intensité de fluorescence est maximale, ce qui correspond à la formation d'un complexe 1 :1. Au-delà d'un équivalent de zinc ajouté, l'intensité de fluorescence reste constante.
Ces résultats montrent donc que le ligand **L**^{1}H est un bon détecteur du zinc à pH 10,4. Les limites de détection et de quantification du Zn^{2+} dans ces conditions sont respectivement déterminées à 2.10^{-9} mol.L^{-1} et 6.10^{-9} mol.L^{-1}.

Il s'agit maintenant de démontrer que le ligand **L**^{1}H est sélectif et signale en priorité la présence de Zn^{2+}. Dans ce but la réponse fluorescente de **L**^{1}H en présence de cations interférents tels que Cu^{2+} et Cd^{2+} a été étudiée.

c- Variation de la fluorescence de ***L*^{1}*H en présence de* Cu^{2+}

Une démarche analogue à la démarche précédente a été mise en œuvre afin de comparer le comportement fluorescent de **L**^{1}H à celui du complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$.
Les spectres de fluorescence de **L**^{1}H et de [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ sont reportés à la Figure II-34 ainsi que l'évolution de fluorescence de ce système en fonction du pH.

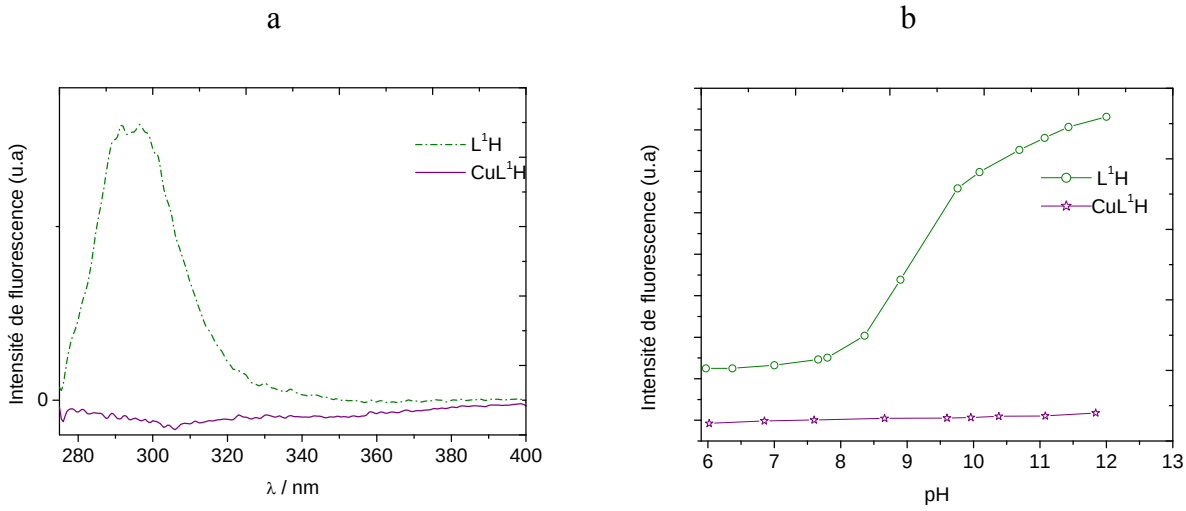


Figure II-34 *: a) Comparaison entre* I_F(**L**^{1}*H) et* I_F([Cu**L**^{1}*H*]$^{2+}$) *à pH ~ 6*
b) Comparaison entre I_F(**L**^{1}*H) et* I_F([Cu**L**^{1}*H*]$^{2+}$) *en fonction du pH*
λ_{exc} *= 270 nm,* λ_{em}*= 301 nm, [***L***^{1}*H] = [Cu* ***L***^{1}*H] =5.10*$^{-7}$ *mol.L*$^{-1}$*, I = 0,1 (NaCl), T = 25°C*

Quel que soit le pH, le complexe [Cu**L**^{1}H]$^{2+}$ n'est pas fluorescent. Ce résultat est cohérent avec les propriétés photophysiques de cations paramagnétiques réputés inhiber la fluorescence. La complexation du ligand abaisse toujours les niveaux moléculaires du macrocycle mais cette fois ce processus s'accompagne d'une oxydation de fluorophore c'est-à-dire d'un transfert d'électron photoinduit de la LUMO du fluorophore excité vers une orbitale d vacante du cuivre.[46] La désexcitation radiative du fluorophore est donc inhibée.
Il sera donc impossible de doser le Cu^{2+} par **L**^{1}H en fluorescence. Par contre, la présence de Cu^{2+} ne perturbera pas la détection du Zn^{2+} par **L**^{1}H.

d- Variation de la fluorescence de **L**^{1}H en présence de Cd^{2+}

L'évolution de la fluorescence du ligand **L**^{1}H en présence d'ajouts croissants de Cd^{2+}est indiquée dans la Figure II-35.

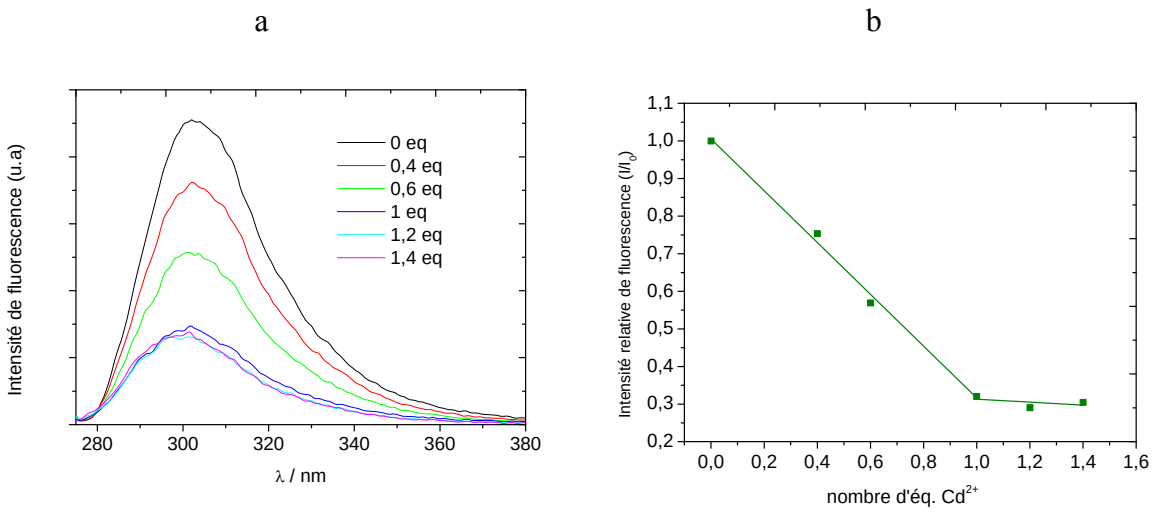


Figure II-35 *: a) $I_F(\mathbf{L^1}H) = f\,[n_{éq}(Cd^{2+})]$, b) $I_R^{a}(\mathbf{L^1}H) = f\,[n_{éq}(Cd^{2+})]$ à pH 10,4 (CAPS)*
$[\mathbf{L^1}H] = 5.10^{-7}$ mol.L^{-1}, T = 25°C, I =0,1(NaCl)

[a] $I_R = I/I_0$ = Intensité de fluorescence du ligand en présence du métal/ Intensité de fluorescence du ligand seul

L'ajout de cadmium éteint la fluorescence du ligand, l'extinction de fluorescence étant proportionnelle à la concentration en cadmium. Après l'ajout d'un équivalent du métal, tout le ligand est complexé par le cadmium, par conséquent l'intensité de fluorescence atteint sa valeur minimale. Une telle diminution a été déjà observée avec le ligand cyclen-anthracène.[47] Dans ces conditions, les limites de détection et de quantification de Cd(II) par $\mathbf{L^1}$H ont été déterminées à 2.10^{-8} mol.L^{-1} et 7.10^{-8} mol.L^{-1} respectivement.

Ces résultats démontrent une certaine sélectivité de $\mathbf{L^1}$H pour Zn^{2+}. Il est donc possible de concevoir un test de sélectivité plus complet avec un pool de cations susceptibles de concurrencer le Zn^{2+} en milieu biologique.

3. Test de sélectivité du ligand L^1H vis-à-vis des cations d'intérêt biologique

L'efficacité d'un ligand dans la détection d'un cation métallique dépend de sa sélectivité vis-à-vis de ce cation. Pour cette raison, un test de sélectivité a été réalisé en mesurant la fluorescence de $\mathbf{L^1}$H en présence de certains cations de métaux de transition, d'ions alcalins et alcalino-terreux à pH 10,4 (Figure II-36). L'émission de fluorescence du ligand en présence d'un équivalent de cations métalliques est enregistrée après excitation à 270 nm. L'intensité de fluorescence I_0 est celle du ligand seul libre à 301 nm.

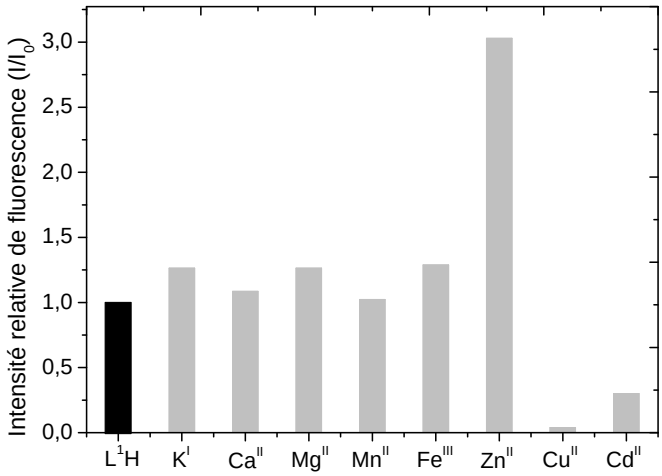


Figure II-36 *: Intensité relative de fluorescence de* ***L¹****H à 301 nm en présence de cations métalliques à pH 10,4 (CAPS 2.10⁻² mol.L⁻¹), I = 0,1(NaCl), T = 25°C*

Sur ce test, la réponse de **L¹**H vis-à-vis de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} est celle décrite précédemment. En présence d'alcalins et d'alcalino-terreux la réponse de **L¹**H varie très peu. Ce comportement, notamment vis-à-vis de K^{+} abondant en milieu biologique, est intéressant puisque la réponse de **L¹**H vis-à-vis de Zn^{2+} ne sera pas perturbée par la présence de cet alcalin.

De même, la variation de fluorescence par addition de cations comme Mn^{2+} et Fe^{3+} n'est pas significative. Ces résultats illustrent l'intérêt d'une cavité macrocyclique comme récepteur de cations tels que Zn^{2+} pour des tests de dosage, l'affinité de ces ligands pour les ions alcalins et alcalino-terreux étant extrêmement faible.

D – EN CONCLUSION

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés complexantes du cyclen-méthylbenzimidazole **L¹**H, l'objectif étant de mettre à profit ses capacités pour titrer les cations, en particulier Zn^{2+}, par fluorescence.

La caractérisation des complexes de Zn(II), Cu(II) et Cd(II) montre que l'azote imine du benzimidazole participe à la sphère de coordination du métal. Cette coordination supplémentaire a pour effet d'augmenter la stabilité des complexes de Zn(II) et Cd(II). La stabilité des complexes varie selon l'ordre $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+}$ en accord avec la série de Irving-Williams.[48]

Le ligand **L**^{1}H a démontré un comportement en fluorescence dépendant du pH, la protonation du ligand se traduisant par une extinction de fluorescence due à un processus PET.

L'utilisation du ligand **L**^{1}H comme sonde de cations n'est possible que lorsque le ligand est faiblement protoné et à pH 10,4, les conditions sont requises pour mettre au point un test de dosage de ces cations. La présence de Zn^{2+} induit une augmentation significative de fluorescence du système tandis que la présence des cations compétiteurs, tels que Cu^{2+} et Cd^{2+} induit une extinction de fluorescence du système.

Enfin, de part de la nature de sa cavité macrocyclique, **L**^{1}H détecte sélectivement Zn^{2+} par rapport aux ions alcalins et alcalino-terreux.

Références bibliographiques

[1] a) S. C. Burdette, S. J. Lippard, *Coord. Chem. Rev*. **2001**, *216-217*, 333-361. b) E. Kimura, T. Koike, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 179-184. c) P. Jiang, Z. Guo, *Coord. Chem. Rev*. **2004**, *248*, 205- 229.

[2] a) E. H. Cox, G.L. McLendon, *Curr. Opin. Chem. Biol*. **2000**, *4*, 162-165. b) J. E. Coleman, *Curr. Opin. Chem. Biol*. **1998**, *2*, 222-234. c) S. J. Lippard, J. M. Berg, *Principles of Bioionorganic Chemistry*, De Boeck University, Brussels, **1997**.

[3] M. Le Baccon, F. Chuburu, L. Toupet, H. Handel, M. Soibinet, I. Déchamps-Olivier, J. P. Barbier, M. Aplincourt, *New J. Chem.* **2001**, *25*, 1168-1174.

[4] A. Bianchi, M. Micheloni, P. Paoletti, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *110*, 17-113.

[5] J. Catalán, R. M. Claramunt, J. Elguero, J. Laynez, M. Menéndez, F. Anvia, J. H. Quian, M. Taagepera, R. W. Taft, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4105-4111.

[6] H. Walba, R. W. Isensee, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 2789-2791.

[7] T. J. Lane, K. P. Quinlan, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 2994-2997.

[8] a) R. Fournaise, C. Petitfaux, *Talanta* **1987**, *34*, 385-395. b) R. Fournaise, C. Petitfaux, *Analusis* **1990**, *18*, 242-249.

[9] a) S. El Ghachtouli, C. Cadiou, I. Déchamps-Olivier, F. Chuburu, M. Aplincourt, T. Roisnel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 3472-3481. b) M. Shionoya, T. Ikeda, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3848-3859.

[10] J. Catalán, R. M. Claramunt, J. Elguero, J. Laynez, M. Menéndez, F. Anvia, J. H. Quian, M. Taagepera, R. W. Taft, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4105-4111.

[11] H. Walba, R. W. Isensee, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 2789-2791.

[12] T. J. Lane, K. P. Quinlan, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 2994-2997.

[13] P. Gans, A. Sabbatini, A. Vacca, *Hyperquad Simulation and Speciation*. **1998-2000**, Protonics Sftware.

[14] M. Krishnamurthy, P. Phaniraj, S. K. Dogra, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1986**, 1917-1925.

[15] a) M. R. Figueroa, D. E. Gomez, C. P. Iglesias, A. De Blas, T. R. Blas, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 2198-2207. b) G. Berden, W. L. Meerts, E. Jalviste, *J. Chem. Phys.* **1995**, *103*, 9596-9606. c) J. R. Platt, *J. Chem. Phys.* **1951**, *19*, 101-118.

[16] *Gaussian 03* (Revision A.1), M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N

Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo; R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C Strain, O. Farkas, D. K. Malik, A. D. Rabuk, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian 03 (revision D.02), Gaussian, Inc. Wallingford PA, **2004**.

[15] a) A. Klamt, G. Schuurmann, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2* **1993**, 799-805. b) N. Rega, M. Cossi, V. Barone, *Chem. Phys.* **1996**, *105*, 11060-11067.

[18] A. E. Goeta, J. A. K. Howard, D. Maffeo, H. Puschmann, J. A. Gareth Williams, D. S. Yufit, *Dalton Trans.* **2000**, 1873-1880.

[19] V. J. Thöm, C. C. Fox, J. C. A. Boeyens, R. D. Hancock, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3198-3207.

[20] G. Golub, H. Cohen, P. Paoletti, A. Bencini, L. Messori, I. Bertini, D. Meyerstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8353-8361.

[21] X. P. Yang, B. S. Kang, W. K. Wong, C. Y. Su, H. Q. Liu, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 169-179.

[22] T. Koike, S. Kajitani, I. Nakamura, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1210-1219.

[23] J. Moreau, E. Guillon, J. C. Pierrard, J. Rimbault, M. Port, M. Aplincourt, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5218-5232.

[24] T. Koike, M. Takamura, E. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8443-8449.

[25] E. K. Barefield, H. C. Freeman, D. G. V. Derveer, *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 552-558.

[26] D. Meyerstein, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *185-186*, 141-147.

[27] S. Aoki, S. Kaido, H. Fujioka, E. Kimura, *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 1023-1030.

[28] S. Aoki, K. Sakurama, N. Matsuo, Y. Yamada, R. Takasawa, S. Tanuma, M. Shiro, K. Takeda, E. Kimura, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 9066-9080.

[29] a) E. Kimura, H. Hashimoto, T. Koike, *J. Am. Chem. Soc*. **1996**, *118*, 10963-10970 b) E. Kimura, E. Kikuta, *J. Biol. Inorg. Chem*. **2000**, *5*, 139-155.

[30] M. Kruppa, D. Frank, H. Leffer-Schuster, B. Köning, *Inorg. Chim. Acta*, **2006**, *359*, 1159-1168.

[31] M. F. Hoq, R. E. Shepherd, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 1851-1858.

[32] E. Kimura, *Pure and Appl. Chem*. **1993**, *3*, 355-359.

[33] M. F. Hoq, R. E. Shepherd, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 1851-1858.

[34] B. J. Hathaway, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1972**, 1196-1199.

[35] B. J. Hathaway, A. A. G. Tomlinson, *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 1-43.

[36] K. Miyoshi, H. Tanaka, E. Kimura, S. Tsuboyama, S. Murata, H. Shimizu, K. Ishizu, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *78*, 23–30.

[37] H. Kurosaki, C. Bucher, E. Espinosa, J. M. Barbe, G. Guillard, *Inorg. Chim. Acta* **2001**, *322*, 145-149.

[38] I. Savaro, T. Kiss, A. Gergely, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1978**, 964-968.

[39] a) S. Sen, M. K. Saha, P. Kundu, S. Mirta, C. Kruger, J. Bruckmann, *Inorg. Chim. Acta* **1999**, *288*, 118-121. b) J. M. Grevy , F. Tellez, S. Bernés , H. Nöth , R. Contreras, N. Barba-Behrens, *Inorg. Chim. Acta* **2002**, *339*, 532-542. c) G. W. Franklin, D. P. Riley, W. L. Neumann, *Coord. Chem. Rev*. **1998**, 174, 133-146. d) D. J. Darensbourg, S. A. Niezgoda, M. W. Holtcamp, J. D. Draper, J. H. Reibenspies, *Inorg. Chem.* **1997**, *36,* 2426-2432.

[40] E. Quiroz-Castro, S. Bernès, N. Barba-Behrens, R. Tapia-Benavides, R. Contreras, H. Nöth, *Polyhedron* **2000**, *19*, 1479-1484.

[41] M. Kodama, E.Kimura, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1977**, 2269-2276.

[42] H. Irving, R. J. P. Williams, *J. Chem. Soc*. **1953**, 3192-3120.

[43] a) P. C. Tway, L. J. Cline Love, *J. Phys. Chem*. **1982,** *86*, 5223-5226. b) M. Krishnamurthy, P. Phaniraj, S. K. Dogra, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **1986**, 1917-1925.

[44] a) A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. Mc. Coy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566. b) B.Valeur, I. Leray, *Coord. Chem. Rev.* **2000** *205*, 3-40. c) J. F. Callan, A. Parsanna de Silva, D. C. Magri, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8551-8588.

[45] T. Koike, T. Watanabe, S. Aoki, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12696-12703.

[46] Y. Shiraishi, Y. Kohno, T. Hirai, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005,** *44*, 847-851.

[47] a) Y. Shiraishi, Y. kohno, T. Hirai, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 19139-19147. b) M. E. Husyon, C. Engleman, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7054-7056. c) T. Gunnlaugsson, T. C. Lee, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4065-4068.

[48] H. Irving, R. J. P. Williams, *J. Chem. Soc*. **1953**, 3192-3120.

CHAPITRE II

Partie expérimentale

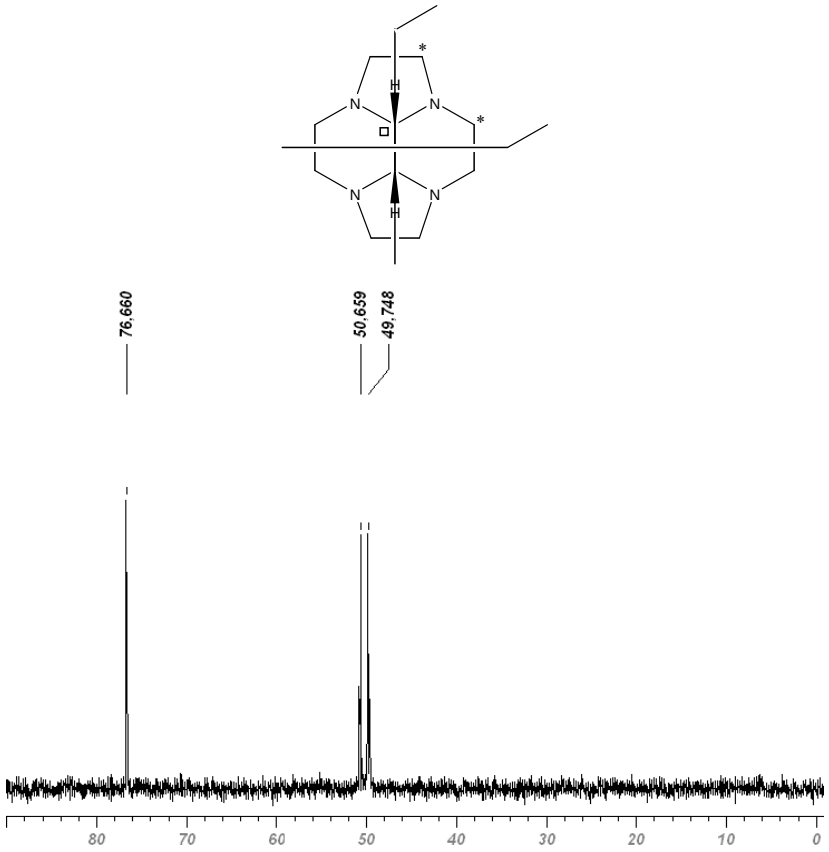
A - SYNTHESE DU LIGAND L^1H (CYCLEN-METHYLBENZIMIDAZOLE)

La synthèse du ligand $\mathbf{L^1}H$ est réalisée à partir du bisaminal du cyclen. La condensation du glyoxal sur la tétramine est obtenue par addition goutte-à-goutte d'une solution méthanolique équimolaire de glyoxal à une solution méthanolique du macrocycle à 0°C. Le mélange réactionnel est agité pendant une journée à température ambiante. Après évaporation, le produit est solubilisé dans l'éther afin d'éliminer les polymères insolubles formés au cours de la synthèse. Après filtration, l'éther est évaporé et le cyclen-glyoxal est récupéré sous forme d'un solide blanc.

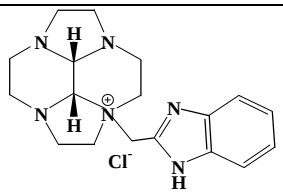
1. Synthèse du bisaminal de L^1H

5, 3 mmol de 2-(chlorométhyl)-benzimidazole en solution dans 7 mL de THF anhydre sont ajoutés goutte-à-goutte à 10 mL de THF sec contenant 5,1 mmol de bisaminal cyclen-glyoxal. Après trois jours à température ambiante, le bisaminal du cyclen-méthybenzimidazole précipite. Le produit est ensuite filtré, lavé au THF et séché sous le vide de la rampe (R = 98%).

Le spectre RMN ^{13}C du cyclen glyoxal enregistré dans D_2O présente trois signaux, respectivement à 49,7, 50,6 et 76,6 ppm. Les deux premiers sont caractéristiques d'atomes de carbone situés en α d'atomes d'azote (*) tandis que le troisième (□) est attribué à un atome de carbone du pont bisaminal central.

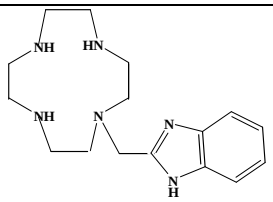


La formation du bisaminal fonctionnalisé a été vérifiée par RMN du ^{13}C, les déplacements chimiques $\delta(^{13}C)$ étant regroupés dans le tableau ci-dessous.

	δ(ppm) RMN ^{13}C (D_2O)
	CH_2N : 44,32-48,65-51,7-54,86-58,46-63,62-68,25-72,08 $BICH_2N$: 75,34 CH_{am} : 83,72-82,23 CH_{ar} : 115,6-124,7-137,66-141,37
BI : benzimidazole	

2. Déprotection du bisaminal

Le bisaminal fonctionnalisé est déprotégé par hydrazinolyse (10 mL d'hydrate d'hydrazine, reflux pendant neuf heures). Après refroidissement, le ballon est placé au réfrigérateur pour favoriser la précipitation du produit déprotégé. **L**^{1}H est ensuite isolé par filtration puis repris plusieurs fois à l'éthanol afin d'éliminer par co-évaporation toute trace d'hydrate d'hydrazine. Après séchage sous le vide de la rampe, la pureté des produits est contrôlée par RMN ^{13}C, analyse élémentaire et spectrométrie de masse. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.



L^{1} H

R = 53 %

δ(^{13}*C, D*$_2$*O / ppm)* *C*H$_2$N : 43,9-44,3-45,5-52,2

BI*C*H$_2$N : 52,7

*C*H$_{ar}$: 116,1-124,0-134,0-153,9

C$_{16}$*H*$_{26}$*N*$_6$*, 0,25CH*$_3$*OH, 0,5H*$_2$*O* : Calculé (%) : C, 61,10-H, 8,84-N, 26,31-C/N, 2,31

Trouvé (%) : C, 61,09-H, 9,14-N, 26,67-C/N, 2,29

ESI-MS (m/z) : [**L**^{1}H$_2$]$^{+}$: Calculé : 303,2

Trouvé : 303,2 (100%)

B - SYNTHESE DES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE (II) ET CADMIUM (II) AVEC L^{1}H

1. Synthèse des complexes de zinc (II) avec les ligands cyclen et cyclen-methylbenzimidazole L^{1}H

1.1 Synthèse de [Zn**L**^{1}H](NO$_3$)$_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,68 mmol de nitrate de zinc tétrahydraté sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,66 mmol de **L**^{1}H solubilisé dans 10 mL de méthanol. La solution jaune est chauffée à reflux pendant quatre heures, puis concentrée au minimum par

évaporation et précipitée par l'ajout de diéthyléther. Le solide jaunâtre correspondant au complexe $[Zn\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ est filtré et séché sous vide.

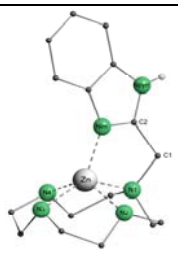
1.2 Synthèse de $[Zn\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,41 mmol de perchlorate de zinc hexahydraté sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,38 mmol de $\mathbf{L^1}H$ solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution jaune est chauffée à reflux pendant quatre heures, puis concentrée au minimum par évaporation. Le complexe est ensuite précipité sous forme d'un solide jaunâtre par ajout de diéthyléther. Des monocristaux de $[Zn\mathbf{L^1}](ClO_4)_2$ sont ensuite obtenus par diffusion d'éther dans une solution de complexe solubilisé dans l'acétonitrile.

1.3 Synthèse de $[Zn(cyclen)](NO_3)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 1 équivalent (0,61 mmol) de nitrate de zinc tétrahydraté sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,60 mmol de cyclen solubilisé dans 10 mL de méthanol. La solution obtenue est chauffée à reflux pendant quatre heures, puis concentrée au minimum par évaporation. Le complexe précipite par ajout de diéthyléther sous forme de solide blanc qui est ensuite filtré et séché sous vide.

La pureté des complexes de zinc(II) est contrôlée par RMN ^{13}C. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.

	$[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$
δ(^{13}C, D_2O / ppm)	CH_2N : 43,4-44,7-44,8-50,7 $BICH_2N$: 52,4 CH_{ar} : 112,5-117,9-123,1-124,1-133,9-137,7-155,5

2. Synthèse de $[CuL^1H](BF_4)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,34 mmol de tetrafluoroborate de cuivre hexahydraté sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,33 mmol de $\mathbf{L^1}$H solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution bleue est chauffée à reflux pendant quatre heures. Le solvant est évaporé sous vide et le solide récupéré est solubilisé dans l'éthanol et précipité par l'ajout de diethyléther. Le solide bleu est filtré et séché sous le vide de la rampe. Des monocristaux bleus de $[CuL^1H](BF_4)_2$ sont obtenus par diffusion d'éther dans une solution du complexe solubilisé dans le méthanol.

3. Synthèse des complexes de Cadmium (II) avec le ligand L^1H

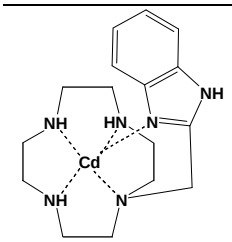
3.1 Synthèse de $[Cd\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,32 mmol de nitrate de cadmium tétrahydraté sont ajoutés goutte à goutte à 0,31 mmol de $\mathbf{L^1}$H solubilisé dans 10 mL de méthanol. La solution obtenue est agitée à température ambiante pendant vingt heures, puis concentrée au minimum par évaporation. Le complexe $[Cd\mathbf{L^1}](NO_3)_2$ est précipité par ajout de diethyléther. Le solide jaunâtre obtenu est filtré et séché sous vide.

3.2 Synthèse de $[Cd\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,15 mmol de perchlorate de Cadmium hexahydraté sont ajoutés goutte à goutte à 0,15 mmol du ligand $\mathbf{L^1}$H solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution obtenue est agitée à température ambiante pendant vingt heures. Le solvant est évaporé sous vide, le solide récupéré est solubilisé dans l'éthanol. L'ajout de diéthyléther permet d'obtenir le complexe sous forme d'un solide blanc-jaunâtre qui est ensuite filtré et séché sous vide.

La pureté des complexes de cadmium(II) est contrôlée par RMN ^{13}C. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.

	$[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$
δ(^{13}C, D_2O / ppm)	CH_2N : 44,91-45,40-46,00-52,61 $BICH_2N$: 53,55 CH_{ar} : 114,03-120,82-124,56-125,53-136,18-141,90-156,77

4. Contrôle des complexes de zinc(II), cuivre (II) et cadmium (II) avec les ligands L^1H et cyclen

Les complexes ont été contrôlés par analyse élémentaire et spectrométrie de masse. Les analyses élémentaires des différents complexes sont données dans le tableau ci-dessous.

Formule		% C	% H	% N	Couleur
$[Zn\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$, $0{,}25CH_3OH$	Expérimental	38,92	5,26	22,49	jaunâtre
$C_{16}H_{26}N_6ZnN_2O_6$, $0{,}25CH_3OH$	Théorique	39,05	5,44	22,42	
$[Zn\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$, $0{,}5H_20$	Expérimental	33,62	4,76	14,42	jaunâtre
$C_{16}H_{26}N_6ZnCl_2O_8$, $0{,}5H_2O$	Théorique	33,38	4,73	14,60	
$[Cu\mathbf{L^1}H](BF_4)_2$, $0{,}25C_2H_5OH$	Expérimental	35,96	5,03	15,25	bleu
$C_{16}H_{26}N_6CuB_2F_8$, $0{,}25C_2H_5OH$	Théorique	36,26	4,99	15,53	
$[Cd\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$, $2\ H_2O$	Expérimental	33,29	5,51	19,53	jaunâtre
$C_{16}H_{26}N_6CdN2O6$, $2H_2O$	Théorique	33,43	5,26	19,5	
$[Cd\mathbf{L^1}H](ClO_4)_2$, $0{,}25C_2H_5OH$	Expérimental	32,74	4,50	13,13	jaunâtre
$C_{16}H_{26}N_6CdCl_2O_8$, $0{,}25C_2H_5OH$	Théorique	32,40	4,74	12,96	
$[Zncyclen](NO_3)_2$	Expérimental	26,71	5,66	23,39	blanc
$C_8H_{20}N_4ZnN_2O_6$	Théorique	26,57	5,57	23,24	

Les analyses des complexes par spectrométrie de masse (ESI-MS) sont reportées dans le tableau suivant.

Formule	Expérimental		Théorique
	m/z	%	m/z
$[Zn\mathbf{L^1}H(ClO_4)]^+$	465,1	100	465,1
$[Zn\mathbf{L^1}]^+$	365,1	50	365,1
$[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$	184,1	50	184,1
$[Cu\mathbf{L^1}H(BF_4)]^+$	452,2	100	452,2
$[Cu\mathbf{L^1}]^+$	364,1	70	364,1
$[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$	183,5	65	183,5
$[Cd\mathbf{L^1}H(NO_3)]^+$	478,1	100	478,1
$[Cd\mathbf{L^1}]^+$	415,1	50	415,1
$[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$	209,1	8	209,1
$[Cd\mathbf{L^1}H(ClO_4)]^+$	515,1	100	515,1
$[Cd\mathbf{L^1}]^+$	415,1	10	415,1
$[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$	209,1	9	209,1
$[Zncyclen](NO_3)$	298,0	100	298,1
$[ZncyclenH_{-1}]^+$	235,1	5	235,1

C- ETUDES POTENTIOMETRIQUES

1. Préparation et dosage de la solution aqueuse de $\mathbf{L^1}$H

La solution mère du ligand est préparée à une concentration voisine de 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} avec une force ionique de 1 (KNO_3). Le titre exact de la solution de ligand est déterminé par titrage. Des volumes de 2, 3 et 4 mL de la solution mère sont dosés à 25°C par de l'hydroxyde potassium 0,1 mol.L^{-1}. Un minimum de six titrages est effectué.

2. Préparation et dosage des solutions de complexes de zinc(II) et de cadmium(II)

2.1 Méthode des «batch»

Une solution de $\mathbf{L^1}$H est préparée à une concentration voisine de 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}. Le titre exact de la solution ainsi constituée est déterminé par titrage. A 60 mL de cette solution, des volumes d'une solution de nitrate de zinc(II) ou de

cadmium(II) à 5.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} sont ajoutés de façon à obtenir des rapports [L]/[M] respectivement égaux à 1,3 ; 1,5 et 1,8. Le volume total de cette solution mère est ajusté à 300 mL par ajout d'une solution de KNO_3 1 mol.L^{-1}.

La technique des « batch » consiste ensuite à répartir cette solution dans des pots étanches (ou « batch »). Le pH dans chaque pot est ajusté par ajout de KOH (0,1 mol.L^{-1}) le pH d'un pot étant supérieur au pH du pot précédent. A partir de la solution mère deux séries (A et B) de 30 pots sont ainsi constituées. Les deux séries sont identiques en constitution de solution et en pH. Ces deux séries sont stockées sous argon à 40°C.

Pour la première série, l'évolution du pH au cours du temps est suivie de façon à déterminer le temps nécessaire à l'établissement de l'équilibre thermodynamique de complexation (le pH ne variant plus une fois l'équilibre atteint). Dans le cas de la complexation de $\mathbf{L^1}$H par Zn^{2+} et Cd^{2+}, trois semaines sont nécessaires à l'établissement de l'équilibre thermodynamique.

Le pH de chaque pot de la deuxième série est ensuite mesuré au bout de la période d'incubation identifiée pour le première série comme nécessaire à l'établissement de l'équilibre thermodynamique (trois semaines).

2.2 Préparation et dosage des solutions de complexes

Une solution mère de [Zn$\mathbf{L^1}$H]$(NO_3)_2$ ou [Cd$\mathbf{L^1}$H]$(NO_3)_2$, dont les puretés sont vérifiées par spectrométrie de masse et par analyse élémentaire, est préparée à 2.10^{-3} mol.L^{-1} à une force ionique de 1 (KNO_3). Des solutions de 2, 3 ou 4 mL sont ensuite titrées à 25°C par une solution de KOH à 0,1 mol.L^{-1}.

3. Préparation et dosage des solutions de ligand en présence de nitrate de cuivre(II)

Pour chaque rapport [Ligand]/[Métal], 20 mL de solution sont préparés en mélangeant 10 mL de solution mère de $\mathbf{L^1}$H (2.10^{-3} mol,L^{-1}) avec des volumes variables d'une solution de nitrate de cuivre à 10^{-2} mol.L^{-1} et à 10^{-2} mol.L^{-1} en acide nitrique (I= 1, KNO_3). Les rapports préparés sont de 1,2 ; 1,5 ; 1,8 et 2,2. Les mélanges correspondants sont stockés sous argon dans des flacons de 20 mL à 40°C. Après un temps d'incubation de huit semaines les solutions sont sortis de l'étuve et refroidis jusqu'à température ambiante (25°C) pendant 2 jours. Enfin, 4 ml de ces solutions sont prélevés et dosés par par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1 mol.L^{-1}.

D- SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

L'évolution des signaux UV et visible du ligand $\mathbf{L^1}$H ou des différents complexes a été suivie à partir de solutions de ligand ou de complexe de concentration 3.10^{-5} mol.L^{-1} (suivi en UV) ou 10^{-3} mol.L^{-1} (suivi en visible) (force ionique I = 1 (NaCl)). Les valeurs de pH sont ajustées par des ajouts de NaOH et HCl. Il en est de même pour l'étude Visible du complexe avec une concentration en complexe égale à 10^{-3} mol.L^{-1}.

Le dosage en spectroscopie UV des ions Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par 5 mL de $\mathbf{L^1}$H est effectué à partir de solutions de $M(ClO_4)_2$ à 1,2 10^{-3} mol.L^{-1}, la concentration en $\mathbf{L^1}$H étant de 3.10^{-5} mol.L^{-1}. Dans le cas du cuivre des dosages ont aussi été effectués dans la région du Visible, par ajout d'une solution de $Cu(ClO_4)_2$ de concentration 5.10^{-2} mol.L^{-1} à une solution de $\mathbf{L^1}$H (5mL, 10^{-3} mol.L^{-1}). Le pH de ces solutions est fixé à 10,4 par le tampon CAPS. Toutes les solutions sont préparées à une force ionique de 1 (NaCl).
Les spectres UV (200-400 nm) et Visible (400-700) nm ont été enregistrés à 25°C avec un spectrophotomètre « SHIMADZU UV-2410-PC».

E- SPECTROSCOPIE RMN DU PROTON

L'évolution du spectre RMN ^{1}H en fonction du pH du ligand $\mathbf{L^1}$H ou des complexes $[Zn\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ et $[Cd\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ est effectuée à partir de solutions de ligand ou de complexe à 10^{-2} mol.L^{-1} par ajout de NaOD 4 % ou de DCl à 3,5 %. Les valeurs de pH sont ensuite calculées par la relation pH = pD – 0,40 [1].

F- ETUDES FLUORIMETRIQUES

Les études fluorimétriques en fonction du pH sont réalisées sur des solutions de ligand $\mathbf{L^1}$H ou de complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ ou $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$. Les concentrations des solutions de 5.10^{-7} mol.L^{-1} sont obtenues par dilution d'une solution mère de ligand ou de complexe à (10^{-3} mol.L^{-1}). Les dilutions sont réalisées avec de l'eau dégazée stockée sous argon. Le pH de la solution de ligand (2 < pH<12) et celui des solutions de complexes (6 < pH< 12) est ajusté par des ajouts de NaOH et HCl à différentes concentrations.

Afin d'étudier la variation de l'intensité de fluorescence du ligand en fonction de la concentration en métal le protocole suivant a été adopté : des volumes successifs d'une

[1] A. K. Covington, M. Paabo, R. A. Robinson, R. G. Bates, *Anal. Chem.* **1968**, *40*, 700.

solution de $Zn(ClO_4)_2$, $Cu(ClO_4)_2$ ou $Cd(ClO_4)_2$ (1,2 10^{-3} mol.L^{-1}) sont ajoutés à des solutions de ligand (3.10^{-5} mol.L^{-1}) dont le pH est fixé à 10,4 par le tampon CAPS. Ces solutions sont ensuite diluées dans le CAPS pour atteindre une concentration de 5.10^{-7} mol.L^{-1}.
Ces essais ont été également réalisés en milieu neutre (tampon HEPES, pH = 7,4).
Toutes les solutions sont préparées dans une force ionique de 0,1 (NaCl). Les spectres d'émission du ligand et des complexes sont enregistrés entre 275 et 400 nm après excitation à λ = 270 nm (largeur des fentes d'entrée et de sortie : 5 nm – Filtre à 290 nm – vitesse de balayage : 50 nm min^{-1})

Les rendements quantiques sont déterminés par comparaison des spectres d'émission enregistrés pour les ligands et complexes précédents avec celui du sulfate de quinine en utilisant la relation suivante :

$$\phi_{échantillon} = \phi_{référence}\left(\frac{A_{échantillon}}{A_{référence}}\right)\left(\frac{\varepsilon_{référence}}{\varepsilon_{échantillon}}\right)\left(\frac{C_{référence}}{C_{échantillon}}\right)\left(\frac{n_{r(echantillon)}}{n_{r(référence)}}\right)^2$$

ϕ : rendement quantique du composé.
A : Air intégrée du spectre de fluorescence.
ε : coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde d'excitation.
n_r : indice de réfraction du solvant utilisé.

Le sulfate de quinine est utilisé en tant que standard grâce à son rendement quantique relativement élevé (ϕ = 0,55).[2]

Rendement quantique de $\mathbf{L^1}$H dans le tampon CAPS : $\phi(\mathbf{L^1}H)$ = 0,21
Rendement quantique du complexe de zinc dans le CAPS : $\phi(\mathbf{L^1}H/Zn^{2+})$ = 0,63.
Rendement quantique du complexe de cuivre dans le CAPS : $\phi(\mathbf{L^1}H/Cu^{2+})$ = 0.
Rendement quantique du complexe de cadmium dans le CAPS : $\phi(\mathbf{L^1}H/Cd^{2+})$ = 0,08.

[2] P. C. Tway, L. J. Cline Love, *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 5223–5226.

CHAPITRE III

Synthèse, étude physicochimique du ligand cyclen-diméthylbenzimidazole (L^2H_2) et de ses complexes de zinc(II), cuivre (II) et cadmium (II)

Le chapitre précédent a permis de montrer que le fluoroionophore **L**^{1}H permet de détecter sélectivement le zinc par fluorescence. Dans le but d'améliorer la limite de détection du système, une modification structurale de la sonde impliquant le greffage d'un second fluorophore benzimidazole a été entreprise. Ce chapitre présente l'évaluation du cyclen-diméthylbenzimidazole **L**$^2H_2$ ainsi obtenu, en tant que sonde pour les cations Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}.

A- SYNTHESE ET CARACTERISATION DU LIGAND L^2H_2 ET DE SES COMPLEXES DE Zn(II), Cu(II) ET Cd(II)

1. Synthèse et caractérisation du ligand cyclen-diméthylbenzimidazole L^2H_2

Le cyclen-diméthylbenzimidazole **L**$^2H_2$ est obtenu par dialkylation du cyclen sur les atomes d'azote 1 et 7 (Schéma III-1) (*cf.* page 169). Pour cela, la réaction d'alkylation est menée dans l'acétonitrile, en présence du nombre d'équivalents adéquat d'agent alkylant. A nouveau, le choix du solvant est crucial, l'acétonitrile permettant ici d'éviter la précipitation du produit de mono N-alkylation (comme c'était le cas au cours de la synthèse précédente) au profit de la précipitation du disel souhaité. Après précipitation les di-sels sont isolés par filtration puis déprotégés par hydrazinolyze.

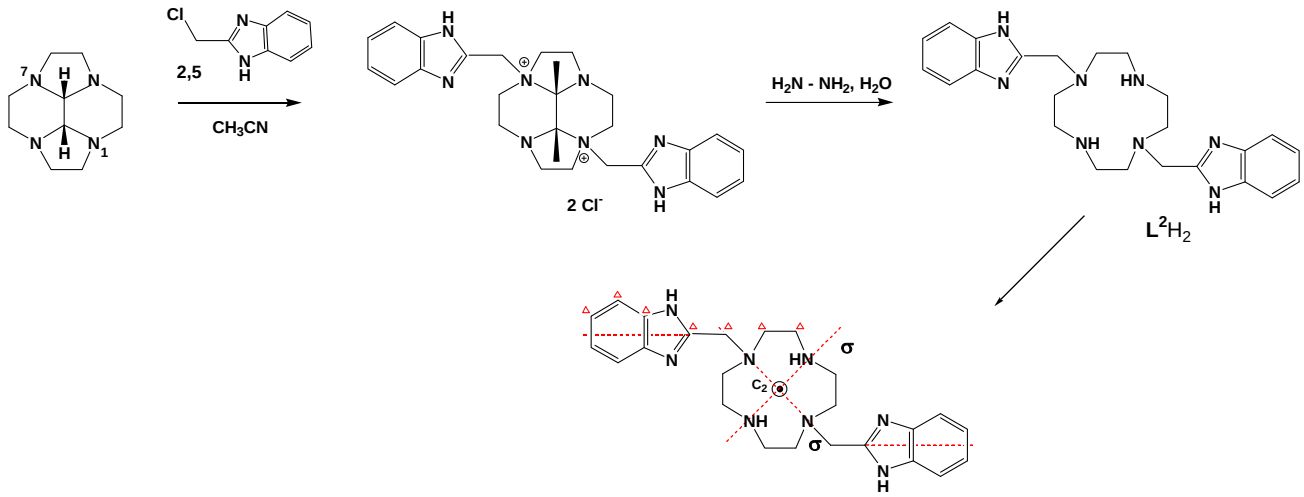


Schéma III-1 *: Synthèse de* ***L***$^2H_2$

Le ligand **L**$^2H_2$ est une molécule symétrique dans laquelle deux plans σ, un axe C_2 ainsi qu'un élément de symétrie local au niveau du substituant benzimidazole peuvent être

relevés (Schéma III-1). Le spectre RMN ^{13}C de $\mathbf{L^2}H_2$ est donc, de fait, simple et sept signaux seulement sont observés pour la partie macrocyclique et les deux groupements méthyl-benzimidazole (pictogrammes △). Les résonances observées sont attribuées de la façon suivante : les signaux à 45,4 et 53,1 ppm correspondent aux atomes de carbone macrocycliques, le signal à 53,7 ppm est attribué à l'atome de carbone du groupement méthylène en α de l'atome d'azote macrocyclique tertiaire. Enfin, quatre résonances à 115,2, 122,5, 138,8 et 153,1 ppm correspondent aux atomes de carbone aromatiques des deux fluorophores.

La présence de deux substituants méthyl-benzimidazole rend le ligand $\mathbf{L^2}H_2$ hydrophobe. L'évaluation de ce ligand comme sonde de cations se fera donc en milieu organique.

2. Synthèse et caractérisation des complexes de L^2H_2

2.1 Synthèse des complexes de zinc (II), cuivre(II) et cadmium(II) de $\mathbf{L^2}H_2$

Les complexes $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ sont synthétisés par ajout d'un faible excès de sel métallique sur une solution méthanolique de $\mathbf{L^2}H_2$. L'ajout de diéthyléther au mélange réactionnel provoque la précipitation des complexes. Ceux-ci sont ensuite isolés par filtration (*cf.* page 170). Les complexes $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ sont de couleur blanc jaunâtre tandis que le complexe $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ est de couleur verte.

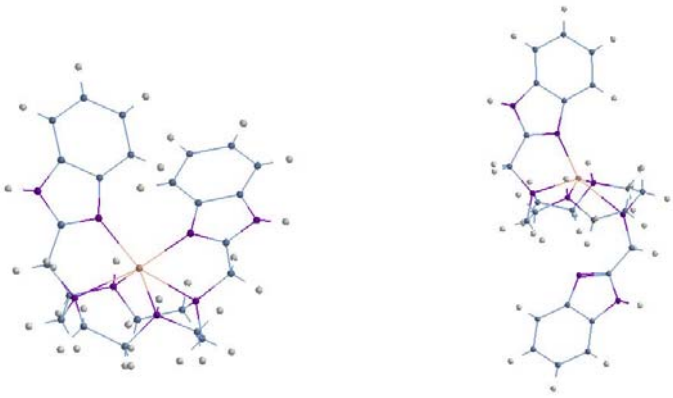
2.2 Caractérisation des complexes de $\mathbf{L^2}H_2$

2.2.1 Caractérisation et modélisation du complexe de zinc(II)

Le complexe $[Zn\mathbf{L^2}H_2](ClO_4)_2$ n'a pu être cristallisé. Comme ce complexe est diamagnétique, sa structure a été étudiée par spectroscopie RMN du ^{13}C. Le spectre RMN ^{13}C de ce complexe enregistré à 298 K dans CD_3COCD_3 présente douze résonances dont cinq correspondent aux atomes de carbone en α des atomes d'azote macrocycliques (45,1, 45,9, 49,1, 51,2 et 54,3 ppm) et sept correspondent aux résonances des atomes de carbone aromatiques des substituants benzimidazole (112,8, 118,9, 123,4, 124,4, 135,0, 139,6 et 155,4 ppm). Un spectre DEPT enregistré dans les mêmes conditions permet de préciser l'attribution des résonances pour les atomes carbones aromatiques : les quatre signaux à champ faible

correspondent aux atomes de carbone tertiaires et les trois résonances les plus déblindées correspondent aux atomes de carbone quaternaires.

Il a été montré précédemment que lorsque le ligand est métallé, l'augmentation en RMN ^{13}C du nombre des signaux des atomes de carbone aromatiques est due à la disparition de l'équilibre tautomère entre l'atome d'azote pyrrolique et l'atome d'azote amine du benzimidazole.[1] L'augmentation du nombre de signaux dans la zone des atomes de carbone aromatiques est donc le signe de la coordination du groupement benzimidazole au zinc. Sur la base de ce résultat, comme un seul groupe de sept signaux est observé pour les atomes de carbone aromatiques de $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, on en déduit que les deux substituants benzimidazole participent à la coordination du zinc. Afin de conforter cette proposition, une optimisation géométrique des conformations possibles de $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, respectant les éléments de symétrie précédemment décrits ainsi que la coordination des deux substituants, a été entreprise en méthode DFT (HF-DFT(B3LYP)/ LANL2DZ). Deux conformations ont été envisagées selon que les deux substituants sont coordinés du même côté du zinc (conformation *syn*) ou de part et d'autre du zinc (conformation *anti*). Les géométries optimisées sont reportées dans la Figure III-1.



	syn	*anti*
Energie relative (Kcal. mol^{-1})	0	28, 44

Figure III-1 *: Conformations syn et anti calculées pour* $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$
HF-DFT(B3LYP)/ LANL2DZ

Les calculs montrent que l'isomère *syn* est plus stable que l'isomère *anti* d'environ 28 Kcal. mol^{-1}. De plus, au cours de l'optimisation géométrique de l'isomère *anti*, on assiste à une décoordination d'un des deux groupements benzimidazole du zinc. Ce résultat est en

contradiction avec le résultat observé en RMN ^{13}C pour $[ZnL^2H_2]^{2+}$. Pour ces deux raisons (énergétique et géométrique), la présence de l'isomère *anti* en solution est exclue.

Dans la structure *syn* calculée, les deux groupements benzimidazole participent à la coordination du métal qui adopte alors une géométrie octaédrique *cis*-distordue. La formation d'un complexe de conformation *syn* est favorisée par la configuration intrinsèque du cyclen, probablement de type I, selon la nomenclature de Bosnich[2]) qui permet au cation complexé d'être situé au dessus du plan moyen constitué par les quatre atomes d'azote du macrocycle (Schéma III-2).[3,4,5,6]

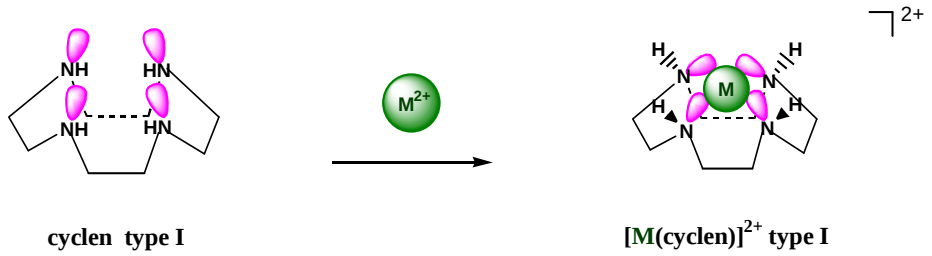


Schéma III-2 *: Mode de coordination du cyclen de type I*

Par ailleurs, le spectre RMN ^{13}C du complexe $[ZnL^2H_2]^{2+}$ évolue en fonction de la température. Les cinq signaux du complexe observés dans CD_3COCD_3 à 298 K (Figure III-2a) évoluent à 323 K (Figure III-2b) pour donner deux signaux à 45,8 et 51,6 ppm ainsi qu'un signal large centré à 52 ppm.

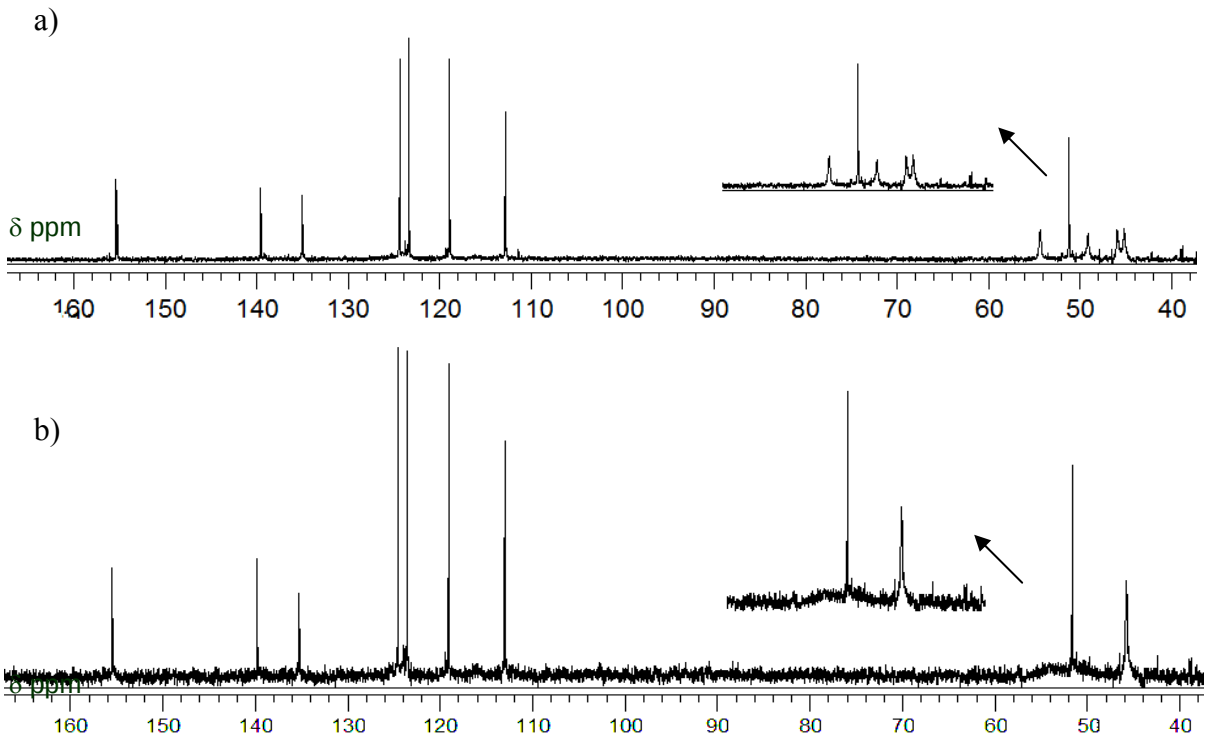


Figure III-2 : *Evolution du spectre RMN ^{13}C de $[Zn\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$ dans CD_3COCD_3 en fonction de la température, 500 MHz : a) 298 K, b) 323K*

L'évolution du spectre RMN ^{13}C de $[Zn\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$ avec la température suggère qu'une énantiomérisation dynamique a lieu en solution (Schéma III-3). Cette énantiomérisation peut être due soit à une coordination réversible du métal par les groupements benzimidazole soit à un mécanisme de pseudo-rotation non dissociatif des deux bras du ligand.[7]

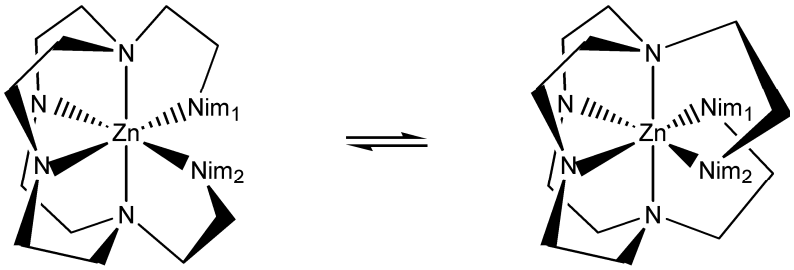


Schéma III-3*: Mécanisme d'énantiomérisation proposé pour $[Zn\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$*

2.2.2 Caractérisation de complexe de cuivre (II)

Le complexe $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ en solution dans l'acétonitrile est de couleur verte (Schéma III-4). Dans les mêmes conditions, le complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ est de couleur bleue. Cette différence de coloration témoigne de deux modes de coordination différents pour le cuivre dans les deux complexes.

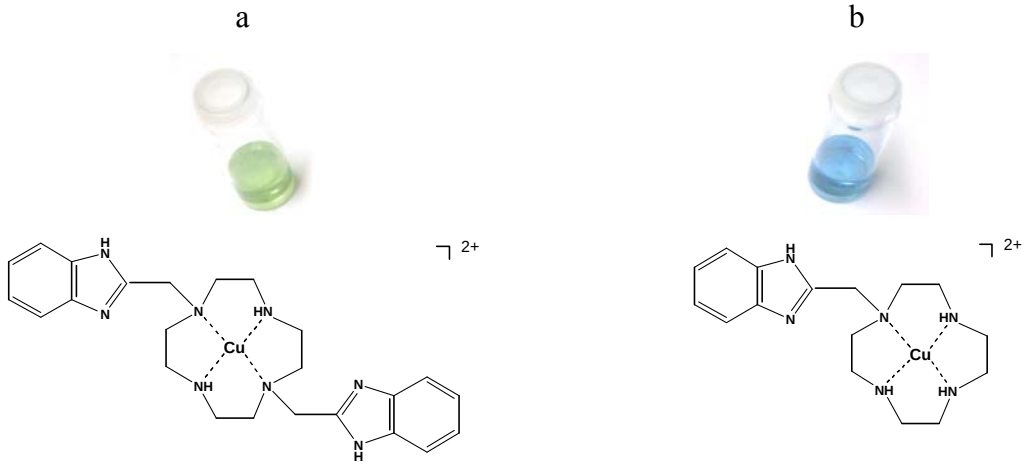


Schéma III-4 *: Complexes de cuivre : a) dialkylé* $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ *et b) monoalkylé* $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ *dans* CH_3CN

Afin de caractériser plus précisément la sphère de coordination du cuivre dans $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, une étude comparative des spectres visible et RPE de ce complexe avec des complexes références a été effectuée.

Dans l'acétonitrile, le spectre visible du complexe $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ présente une bande d'absorption large dont le maximum est centré à 710 nm (ε = 150 L. $mol^{-1}.cm^{-1}$) (Figure III-3). Cette valeur est éloignée du maximum d'absorption généralement observé pour les complexes de cuivre de géométrie pyramide à base carrée (λ_{max} = 625 nm, $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$) (Tableau III-1). Elle est par contre compatible avec le maximum d'absorption d'un complexe octaédrique *cis*-distordu (CuN_6)[8] puisque, pour ce type de complexe, la bande associée aux transitions d → d* est généralement comprise entre 700 et 900 nm.[9]

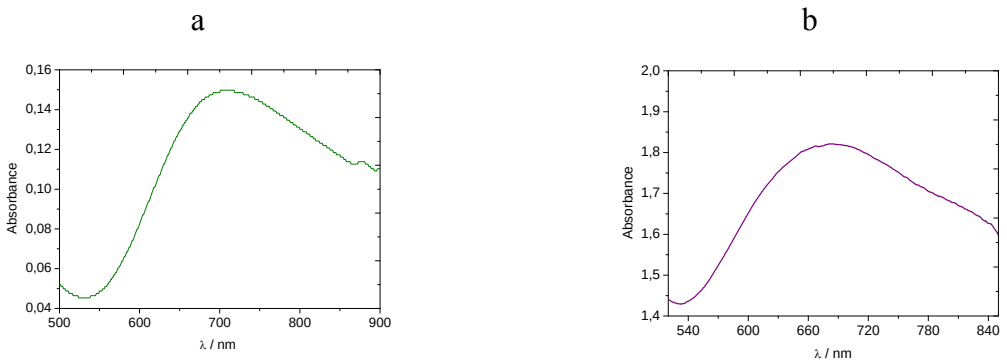


Figure III-3 : *Spectres visibles de $[Cu\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$: a) dans CH_3CN ($c = 10^{-3}$ mol.L^{-1}, $\ell = 1$ cm), b) à l'état solide,*

Cette proposition est étayée par l'analyse des données spectroscopiques et structurales de complexes octaédriques de cuivre, basés sur des ligands cyclen $\mathbf{L}^9H_4$ et $\mathbf{L}^{10}$ (Tableau III-1 et Schéma II-6). [6,10,11,12]]

Tableau III-1*: Maxima d'absorption de $[Cu\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$ et de complexes références à l'état solide et en solution*

λ_{max} / nm (ε / L.mol^{-1}.cm^{-1})	Etat solide	Solvant
$[Cu\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$	695	710 (150) [a]
$[Cu\mathbf{L}^1H]^{2+}$	625	628 (220) [a]
$[Cu\mathbf{L}^9 H_2]$ [6, 10, 11]	715	740[b]
$[Cu\mathbf{L}^{10}]^{2+}$ [12]	-	695

a- CH_3CN, b- H_2O, pH = 13

$\mathbf{L}^9H_4$ ou DOTA $\qquad$ $\mathbf{L}^{10}$

Schéma II-6 *: Structures des ligands références $\mathbf{L}^9H_4$ et $\mathbf{L}^{10}$*

Pour le complexe $[Cu(H_2\mathbf{L}^9)]$, sa structure cristallographique montre que le métal adopte une géométrie octaédrique *cis*-distordue de type CuN_4O_2. Le spectre visible à l'état solide présente pour la transition d → d* un maximum d'absorption à 715 nm ; la position du maximum d'absorption de cette bande est peu affecté par la mise en solution puisque le

spectre visible enregistré dans l'eau possède un maximum d'absorption à 740 nm.[6,10,11] Ce résultat montre que la sphère de coordination du métal est maintenue en solution. De même pour le complexe $[Cu\mathbf{L^{10}}]^{2+}$, dont la structure RX montre que le cuivre(II) a une géométrie octaédrique *cis*-distordue de type CuN_6, le spectre visible possède un maximum d'absorption à 695 nm.[12] Les valeurs des maxima d'absorption enregistrés pour les divers complexes de cuivre sont par ailleurs comparables aux λ_{max} de $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ (695 nm à l'état solide et 710 nm dans CH_3CN). Ces résultats confortent donc l'hypothèse que dans $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, les deux groupements benzimidazole sont coordinés au cation cuivre, la géométrie de coordination ce dernier étant, comme dans le cas du complexe $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, un octaèdre *cis*-distordu.

Une confirmation supplémentaire peut être apportée par l'analyse comparée des spectres RPE du complexe $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ étudié au chapitre précédent (Figure III-4). Les principaux paramètres électroniques des complexes ainsi que ceux de complexes références sont présentés dans le Tableau III-2. Pour $[CuH_2\mathbf{L^2}]^{2+}$ les valeurs de $g_{//}$, $g_{\perp}$ et de $A_{//}$ obtenues correspondent aux paramètres électroniques d'ion un cuivre d^9 de géométrie octaédrique distordue dans lequel l'électron célibataire occupe l'orbitale d_{z2}.[8]

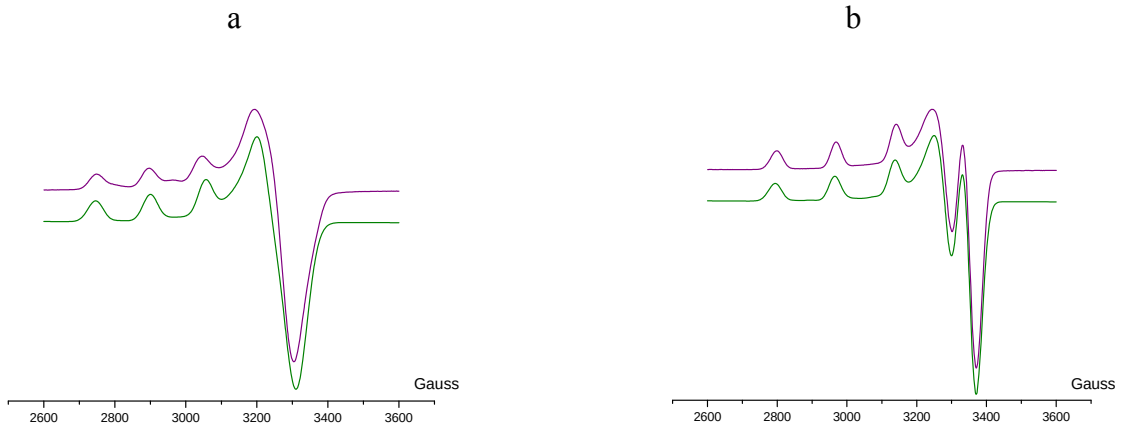


Figure III-4 : *Spectres RPE (DMF, 150K) des complexes : a) $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et b) $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$*

Tableau III-2 *: Paramètres RPE du complexe* $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ *ainsi que ceux de complexes références*

	$g_{//}$	$g_{\perp}$	G^a	$A_{//}(10^{-4}\ cm^{-1})$	$A_{\perp}\ (10^{-4}\ cm^{-1})$
$[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	$2{,}258^b$	$2{,}074^b$		$159{,}8^b$	$18{,}5^b$
$[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$	$2{,}207^b$	$2{,}049^b$	$4{,}22^b$	$173{,}0^b$	$13{,}1^b$
$[Cu\mathbf{L^4}]^{2+}$ [13]	$2{,}192^b$	$2{,}045^b$	$4{,}27^b$	$175{,}0^b$	$15{,}6^b$
[Cu (**cyclen**)]$^{2+}$ [14]	$2{,}198^c$	$2{,}057^c$		$184{,}0^c$	
$[Cu\mathbf{L^9}H_2]$ [10,11]	$2{,}300^c$	$2{,}070^c$		$150{,}0^c$	

a- $G = \dfrac{g_{II} - 2}{g_{\perp} - 2}$*, b- DMF (150K), c-* H_2O *(77K)*

Le spectre RPE du complexe $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et les paramètres RPE résultants ($g_{//}$ = 2,258, $g_{\perp}$ = 2,074 et $A_{//}$ = 1,598.10^{-4} cm^{-1}) sont très différents de ceux du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$: ceci conforte les propositions précédentes basées sur la comparaison des spectres visible, qui suggéraient déjà une géométrie de coordination différente pour le cuivre dans les complexes $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$. Par ailleurs, selon les données bibliographiques,[11] l'augmentation de la distorsion tétragonale dans les complexes de cuivre (II) se traduit par une diminution de la valeur du paramètre $g_{//}$ et une augmentation de celle du paramètre $A_{//}$. Autrement dit, le complexe dont la géométrie présente une distorsion tétragonale marquée aura la plus petite valeur de $g_{//}$ et la plus grande valeur de $A_{//}$. Dans le cas de complexes de cuivre(II) présentés dans le Tableau III-2, on constate que $g_{//}$ diminue et $A_{//}$ augmente selon : $[CuH_2\mathbf{L^9}]$, $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$, $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$, [Cu (**cyclen**)]$^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L^4}]^{2+}$. Ceci montre que la géométrie de coordination de cuivre dans $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ est proche de celle adoptée par $[CuH_2\mathbf{L^9}]$, c'est-à-dire une géométrie octaédrique présentant une forte distorsion tétragonale.

2.2.3 Caractérisation de complexe de cadmium (II)

Le complexe $[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ est diamagnétique : en l'absence de monocristaux, une proposition de structure en solution peut être faite sur la base de son spectre RMN ^{13}C. Comme cela a été rappelé dans le cas du complexe de zinc, l'analyse du nombre de signaux dans la zone des atomes de carbone aromatiques est un indicateur de la coordination éventuelle des groupements benzimidazole au cation métallique. Pour $[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ le spectre RMN ^{13}C présente sept résonances dans cette zone (112,60, 118,80, 122,60, 123,90, 134,27, 139,80, 154,98 ppm) (Schéma III-7).

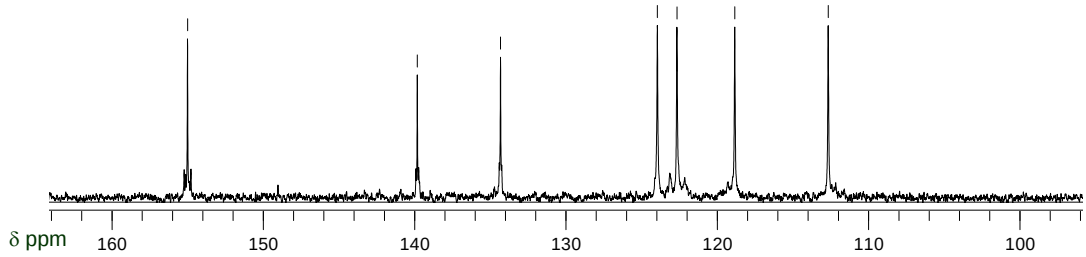


Schéma III-7 *: Spectre RMN ^{13}C du complexe $[Cd\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$ dans DMSO-d^6, 250 MHz*

Le nombre de signaux dans cette zone suggère que le complexe $[Cd\mathbf{L}^2H_2]^{2+}$ adopte en solution une géométrie octaédrique distordue dans laquelle les deux groupements benzimidazole participent à la coordination du métal. Le complexe de cadmium possède donc une structure similaire à celle du complexe homologue de zinc : le cadmium(II) étant plus volumineux que le zinc(II), sa coordination par les atomes d'azote macrocycliques intervient à l'extérieur du plan constitué par les quatre atomes d'azote macrocycliques. Pour cette raison, on s'attend à ce que l'isomère *syn* soit la seule forme existant en solution (dans l'isomère *anti* le deuxième groupement benzimidazole est loin du métal et par suite incapable de le coordiner).

B- ETUDE DU COMPORTEMENT SPECTROSCOPIQUE UV-VISIBLE ET FLUORIMETRIQUE DE L^2H_2 EN PRESENCE DES CATIONS Zn^{2+} Cu^{2+} ET Cd^{2+} DANS L'ACETONITRILE – COMPARAISON AVEC LE COMPORTEMENT DE L^1H

La présence de deux groupements benzimidazole hydrophobes dans le ligand $\mathbf{L}^2H_2$, rend ce dernier insoluble en milieu aqueux mais soluble dans les solvants organiques usuels. Pour cette raison, et dans le souci d'évaluer l'influence du second groupement benzimidazole sur les propriétés de sonde de cations du ligand, les études spectroscopiques UV-visible et fluorimétrique des ligands $\mathbf{L}^2H_2$ et $\mathbf{L}^1H$ ont été réalisées en solution dans l'acétonitrile en présence des cations d'intérêt.

1. Etude spectroscopique UV-Visible

1.1 Etude spectroscopique des ligands $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^2}H_2$ dans l'acétonitrile en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}

Les spectres d'absorption dans l'ultraviolet de deux solutions de $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ à 3.10^{-5} mol.L^{-1}, préparées dans l'acétonitrile, ont été enregistrés entre 220 et 350 nm. Sur la Figure III-5, à titre d'exemple, les spectres UV des complexes $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ ont également été reportés.

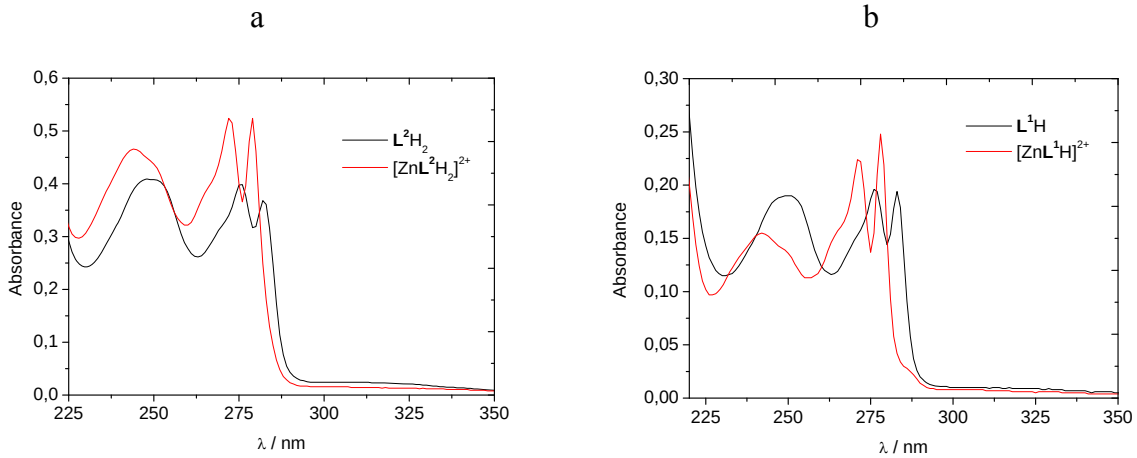


Figure III-5 *: Spectres d'absorption UV de a)* $\mathbf{L^2}H_2$*, b)* $\mathbf{L^1}H$ *et de leurs complexes de zinc dans* CH_3CN*, c = 3.10*$^{-5}$ *mol.L*$^{-1}$*, ℓ = 1 cm, T = 25°C*

Comme attendu, les spectres d'absorption UV des deux ligands sont similaires puisque dans ce domaine de longueur d'onde, on examine la sonde benzimidazole. Il faut toutefois remarquer que dans $\mathbf{L^2}H_2$, la présence du second fluorophore modifie les absorbances, celles-ci étant deux fois plus importantes dans $\mathbf{L^2}H_2$ que dans $\mathbf{L^1}H$.

Les maxima d'absorption de $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} sont reportés dans le Tableau III-3.

Tableau III-3 *: Comparaison des maxima d'absorption des ligands* $\mathbf{L^2}H_2$ *et* $\mathbf{L^1}H$ *et leurs complexes de Zn(II), Cu(II) et Cd(II) en solution dans* CH_3CN*, [ligand]= [complexe] =* 3.10^{-5} *mol.*L^{-1}

	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)	λ_3 (nm)
$\mathbf{L^2}H_2$	246	276	282
$[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	246	272	278
$[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	246	272	278
$[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	245	272	279
$\mathbf{L^1}H$	246	276	282
$[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$	242	271	278
$[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$	244	272	278
$[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$	242	272	278

En présence de Zn^{2+} et de Cu^{2+}, le spectre UV de $\mathbf{L^2}H_2$ subit un léger déplacement hypsochrome. Ce déplacement est comparable à celui observé lors de la complexation de $\mathbf{L^1}H$ par Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} dans l'eau.

1.2 Titrages spectroscopiques UV-visible des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ dans l'acétonitrile en présence des cations Zn^{2+} et Cu^{2+} et Cd^{2+}

Comme cela a été indiqué au début de l'étude, le ligand $\mathbf{L^2}H_2$ est hydrophobe. Le chapitre précédent a mis en évidence que le ligand $\mathbf{L^1}H$ avait la possibilité de doser, par spectroscopie UV-visible, des faibles concentrations de cations métalliques en milieu aqueux. Afin de comparer l'efficacité des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ dans la détection de cations, il est nécessaire d'examiner l'influence de ces cations sur l'intensité spectrale des deux ligands dans le même solvant. Pour cela, des titrages UV de $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ ($c = 3.10^{-5}$ mol.L^{-1}) en fonction d'ajouts croissants des trois cations, ainsi que des titrages dans le visible de $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ en fonction d'ajouts croissants de cuivre ont été effectués dans l'acétonitrile (Figure III-6).

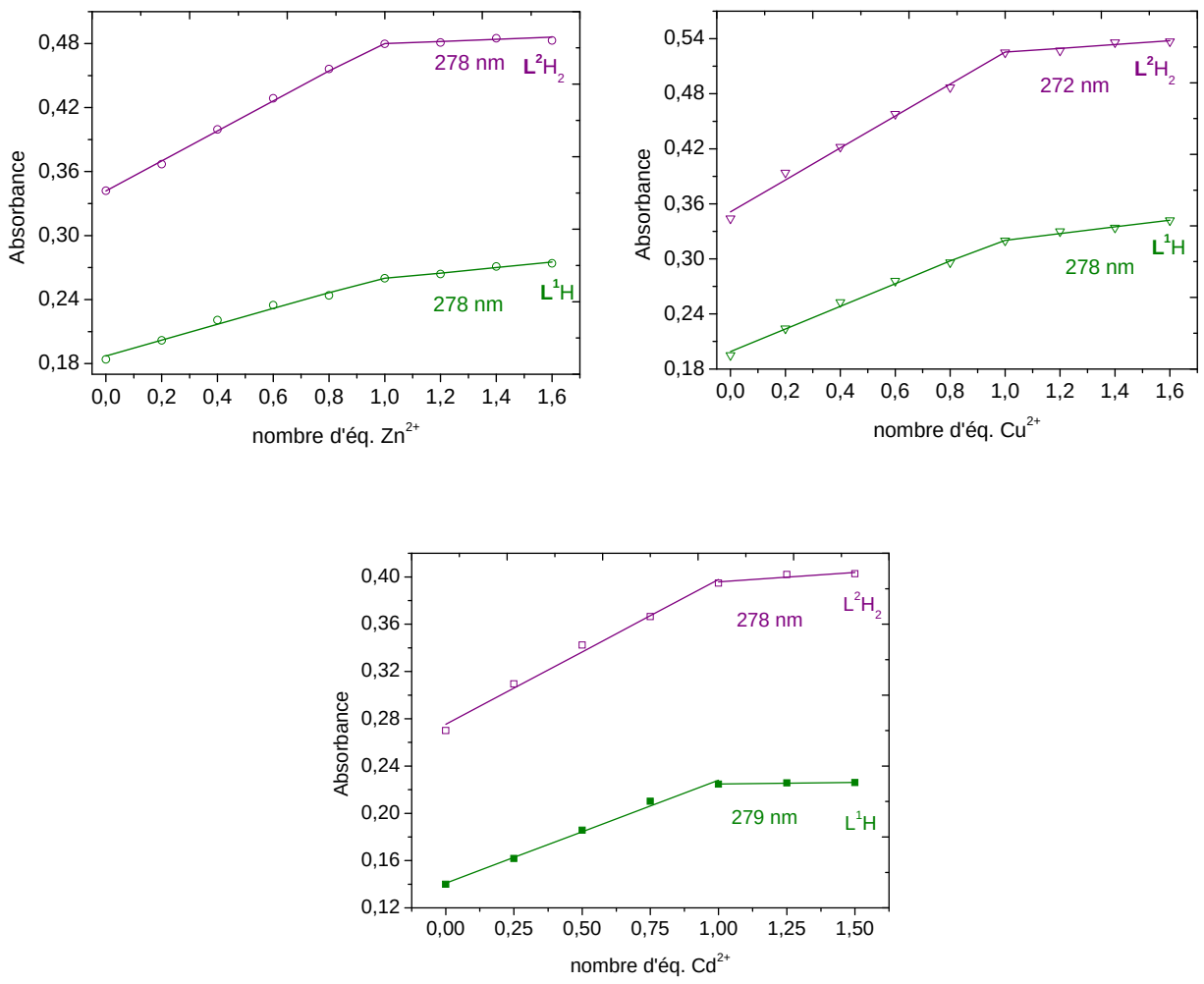


Figure III-6 : *Titrages spectroscopiques UV de* ***L²H₂*** *et* ***L¹H*** *en fonction de la concentration en Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} (CH_3CN, c = 3.10^{-5} mol.L^{-1}, T = 25°C, ℓ = 1 cm,)*

Dans le cas de $\mathbf{L^2}H_2$ comme dans le cas de $\mathbf{L^1}H$, l'ajout des cations entraîne une variation linéaire de l'absorbance et ce, jusqu'à un équivalent de cation ajouté par rapport au ligand, autrement dit jusqu'à la formation du complexe de stœchiométrie 1 :1.

La sensibilité du ligand $\mathbf{L^1}H$ vis-à-vis de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} dans l'acétonitrile est par ailleurs similaire à celle déterminée en milieu aqueux (limite de détection 3.10^{-6} mol.L^{-1} (0,1 éq.)).

Quelle que soit la longueur d'onde, l'absorbance de $\mathbf{L^2}H$ est le double de celle de $\mathbf{L^1}H$: le ligand dialkylé $\mathbf{L^2}H$ est donc considéré comme deux fois plus sensible vis-à-vis des cations d'intérêt biologique que son analogue monoalkylé. Pour cette raison, $\mathbf{L^2}H$ peut être utilisé pour détecter ces cations à des concentrations deux fois plus petites (soit $1,5.10^{-6}$ mol.L^{-1}).

Il faut ajouter que dans le cas d'ajouts croissants de Cu^{2+} sur $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$, une évolution linéaire dans le visible de l'absorbance de la bande associée aux transitions d → d* est aussi observée jusqu'à un équivalent de cation (limite de détection 10^{-4} mol.L^{-1} (0,1 éq. Cu^{2+}) (Figure III-7).

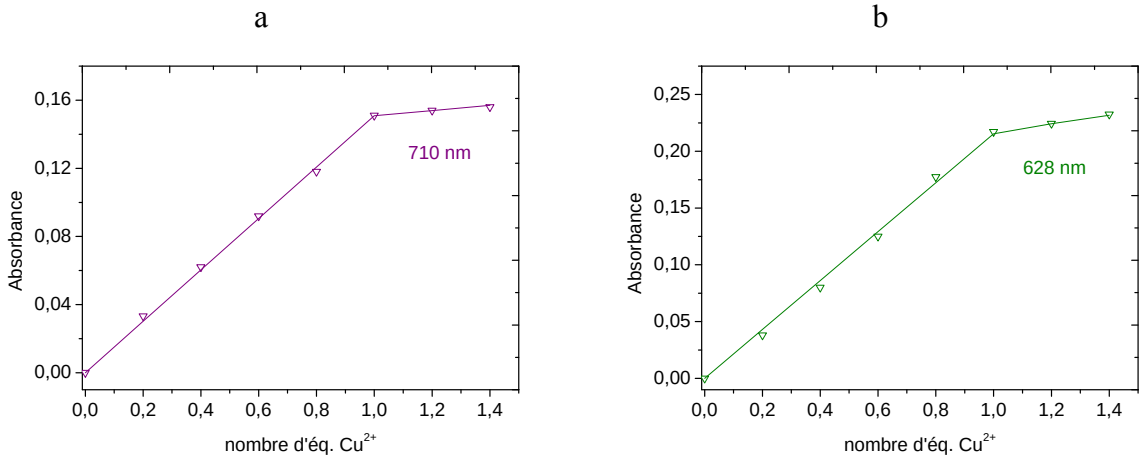


Figure III-7 : *Titrages spectroscopiques dans le visible de a)* $\mathbf{L^2}H$ *et b)* $\mathbf{L^1}H$ *en fonction d'ajouts de* Cu^{2+} *(*CH_3CN*, c =* 10^{-3} *mol.*L^{-1}*, T =25°C, ℓ = 1 cm)*

2. Etude fluorimétrique des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ et de leurs complexes de zinc, de cuivre et de cadmium dans l'acétonitrile

2.1 Etude fluorimétrique des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$

Avant de comparer la réponse en spectroscopie de fluorescence des deux ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ en présence des trois cations métalliques (Zn^{2+}, Cu^{2+}et Cd^{2+}), la fluorescence des ligands seuls a été étudiée en solution dans l'acétonitrile. Les spectres d'émission ont été enregistrés entre 275 et 400 nm après excitation à 270 nm (Figure III-8).

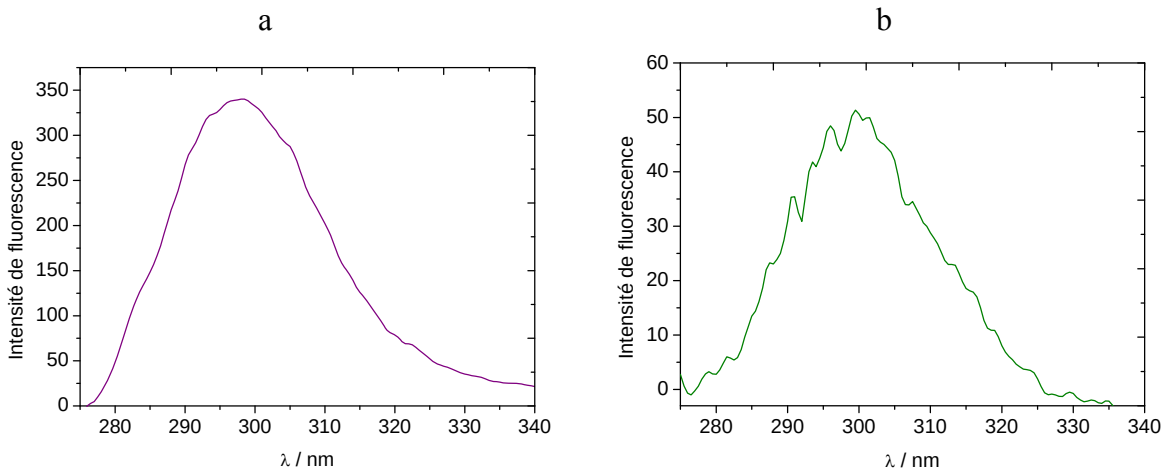


Figure III-8 *: Spectres d'émission des ligands : a)* ***L²H*** *et b)* ***L¹H*** *dans CH_3CN,*
($c = 5.10^{-7}$ mol.L^{-1}, T= 25°C, $\lambda_{excitation}$ = 270 nm)

D'après la figure précédente, le ligand **L¹**H ne fluoresce quasiment pas dans l'acétonitrile et son rendement quantique de fluorescence (ϕ = 0,02)[(1)] est moins important que celui du ligand **L²**H_2 (ϕ = 0,06). Cette différence indique que l'inhibition de fluorescence par transfert d'électron photoinduit[15] est plus efficace dans le ligand **L¹**H.

2.2 Etude fluorimétrique des ligands **L¹**H et **L²**H_2 en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}

La synthèse du ligand dialkylé **L²**H_2 avait pour but d'augmenter la sensibilité du ligand **L¹**H et d'améliorer sa limite de détection vis-à-vis des cations métalliques. Pour vérifier cette hypothèse, la réponse fluorimétrique de **L²**H_2 en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} a été enregistrée et comparée à celle de **L¹**H obtenue dans les mêmes conditions expérimentales.

a- En présence de Zn^{2+}

L'émission de solutions de **L¹**H et **L²**H_2 en présence d'un nombre croissant d'équivalents de Zn^{2+} est enregistrée entre 275 et 400 nm (λ_{exc} = 270 nm, Figure III-9).

(1) Les rendements quantiques de **L²**H_2 et **L¹**H dans CH_3CN sont calculés par rapport à celui du sulfate de quinine (*cf.* partie expérimentale III, page 172 et annexe I page).

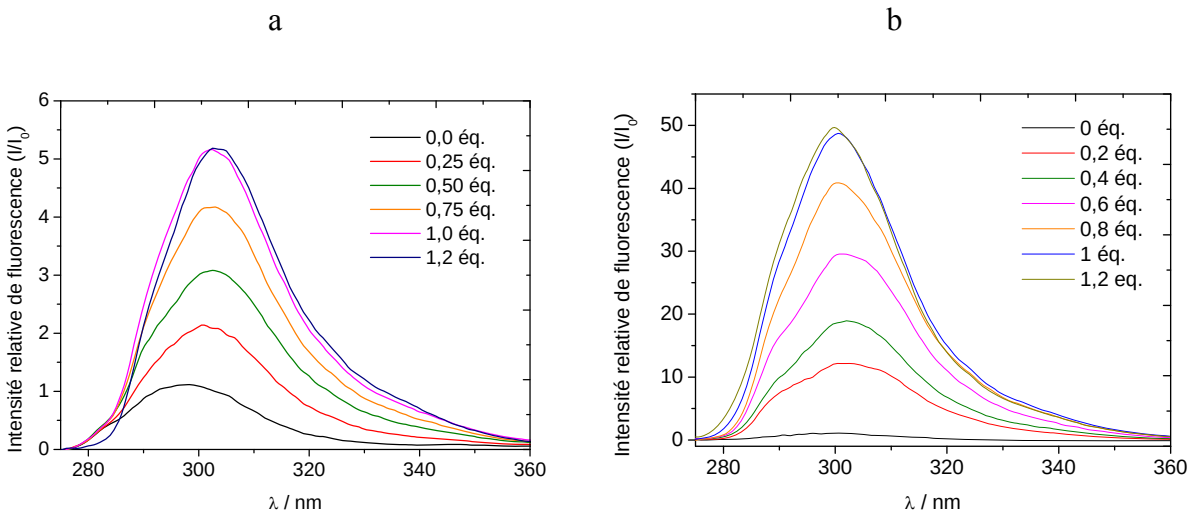


Figure III-9 *: Variation de l'intensité de fluorescence de a)* $\mathbf{L^2}H_2$ *et b)* $\mathbf{L^1}H$ *en fonction d'ajouts croissants de* Zn^{2+} *(c= 5.10*$^{-7}$ *mol.L*$^{-1}$*, T = 25°C,* $\lambda_{excitation}$ *= 270 nm)*

Après ajout d'un équivalent de Zn^{2+}, l'intensité de fluorescence augmente d'un facteur cinq dans le cas de $\mathbf{L^2}H_2$ et d'un facteur cinquante dans le cas de $\mathbf{L^1}H$.

L'évolution de l'intensité relative de la fluorescence des ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ en fonction de la quantité du zinc introduite en solution est linéaire entre 5.10^{-8} et 5.10^{-7} mol.L^{-1} (Figure III-10).

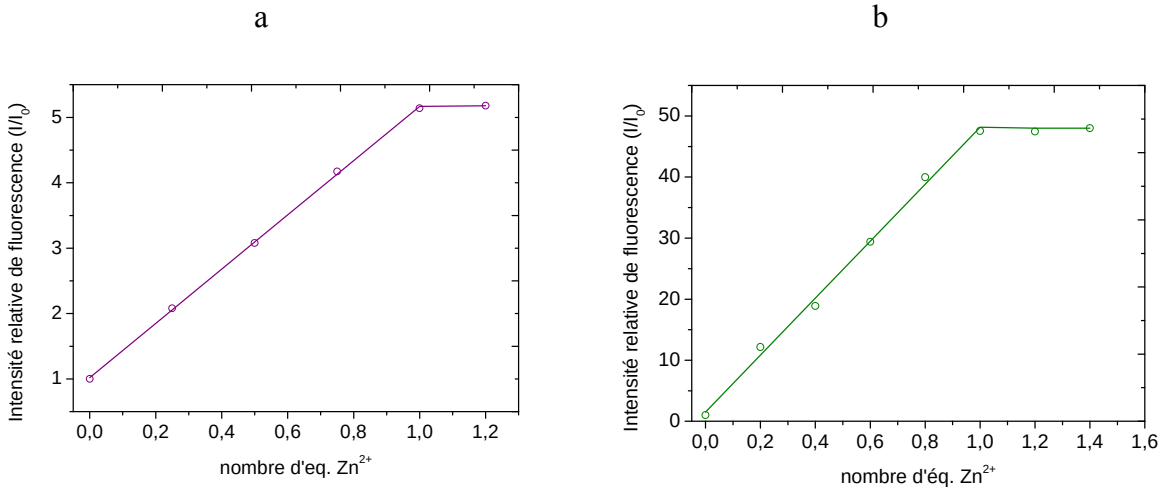


Figure III-10 *: Variation de l'intensité relative de fluorescence de a)* $\mathbf{L^2}H_2$ *et b)* $\mathbf{L^1}H$ *en fonction d'ajouts croissants de* Zn^{2+}*, (*$\lambda_{excitation}$ *= 270 nm,* $\lambda_{émission}$ *= 302 nm, T = 25°C)*

Après l'ajout d'un équivalent de Zn^{2+}, la formation du complexe $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ est quantitative. Le rendement quantique de fluorescence du complexe est de 0,21 tandis que celui du ligand est de 0,06. Après ajout d'un équivalent de Zn^{2+}, l'intensité de fluorescence

augmente d'un facteur cinq. Ce système est donc efficace pour la détection et la quantification de ce cation à des faibles concentrations. Les limites de détection (LD) et la limite de quantification (LQ) du Zn(II) ont été déterminées pour $\mathbf{L^2}H_2$ respectivement à $1{,}2.10^{-9}$ mol.L^{-1} et 4.10^{-9} mol.L^{-1}. Dans les mêmes conditions, les limites de détection et de quantification de $\mathbf{L^1}$H ont été déterminées à 10^{-9} mol.L^{-1} et 3.10^{-9} mol.L^{-1} respectivement. Par conséquent, la modification structurale apportée au ligand n'améliore pas comme attendu la limite de détection du système vis-à-vis du Zn^{2+}.

Il faut remarquer d'autre part, que le changement de solvant améliore légèrement les limites de détection et de quantification du Zn(II) avec $\mathbf{L^1}$H : ces limites, déterminées dans l'eau, respectivement à 2.10^{-9} mol.L^{-1} (LD) et 6.10^{-9} mol.L^{-1} (LQ) diminuent à 10^{-9} mol.L^{-1} (LD) et 3.10^{-9} mol.L^{-1} (LQ) dans l'acétonitrile. $\mathbf{L^1}$H est en conséquence deux fois plus sensible en milieu acétonitrile qu'en milieu aqueux.

Pour $\mathbf{L^1}$H, la différence de sensibilité observée dans les deux solvants est essentiellement due au fait que $\mathbf{L^1}$H ne fluoresce quasiment pas dans l'acétonitrile (ϕ = 0,02) alors que le complexe $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ possède des intensités de fluorescence comparables dans l'eau et dans l'acétonitrile ($\phi \sim 0{,}6$). En présence de Zn^{2+} l'exaltation de la fluorescence est donc plus spectaculaire dans l'acétonitrile que dans l'eau (Figure III-11).

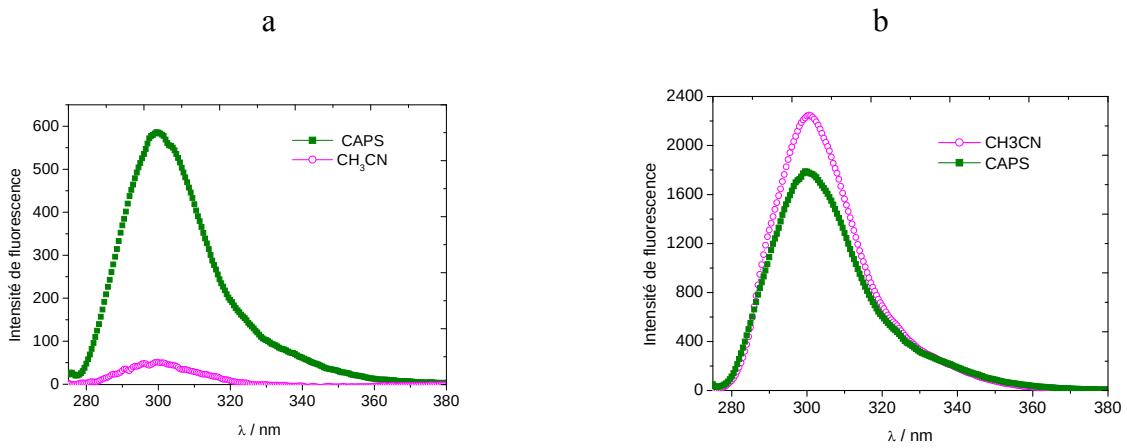


Figure III-11 : *Comparaison entre les intensités de fluorescence a) de* $\mathbf{L^1}H$ *et b) du complexe* $Zn\mathbf{L^1}H$ *dans l'acétonitrile et dans l'eau, c = 5.10^{-7} mol.L^{-1}, $\lambda_{excitation}$ = 270 nm, T = 25°C*

La grande différence de sensibilité de $\mathbf{L^1}$H en milieu aqueux et dans l'acétonitrile est attribuée au caractère hydrophobe et à la polarité de ce dernier.

b- En présence de Cu^{2+}

L'efficacité des sondes $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ pour la détection et le dosage par fluorimétrie du Cu^{2+} a ensuite été évaluée dans l'acétonitrile.

Les réponses fluorimétriques de deux solutions de $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ en présence d'un équivalent de Cu^{2+} ont été enregistrées entre 275 et 350 nm (Figure III-12).

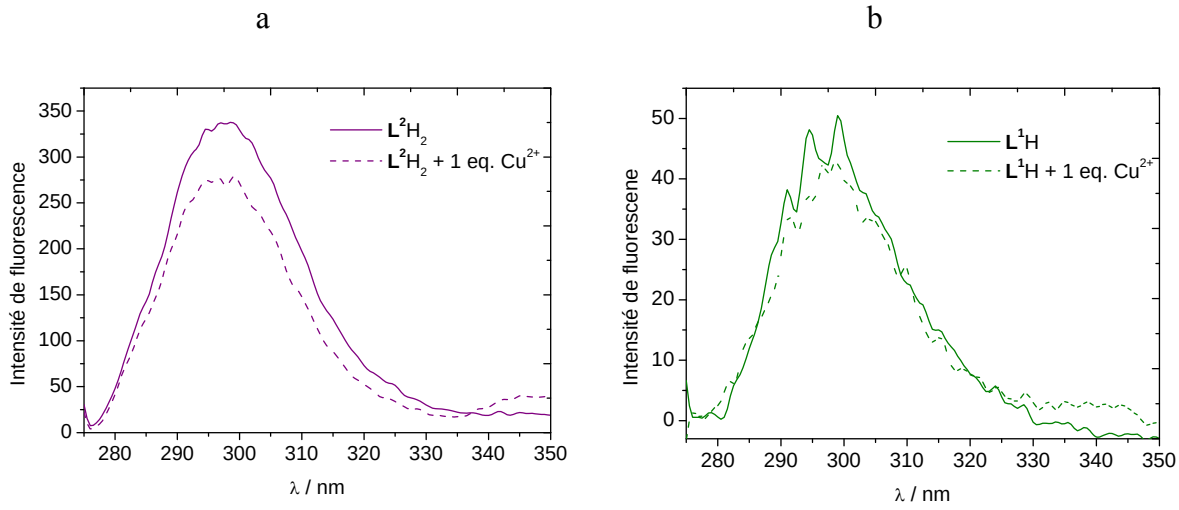


Figure III-12 : *Réponse fluorimétrique de a) $\mathbf{L^2}H_2$ et b) $\mathbf{L^1}H$ en présence d'un équivalent de Cu^{2+} dans CH_3CN (c = 5.10^{-7} mol.L^{-1}, T = 25°C, $\lambda_{excitation}$ = 270 nm)*

Dans l'acétonitrile et en présence d'un équivalent de Cu^{2+}, l'intensité de fluorescence $\mathbf{L^2}H_2$ diminue, le rendement quantique de fluorescence évolue de ϕ = 0,06 pour le ligand à ϕ = 0,02 pour le complexe $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ (Figure III-12a).

En revanche pour le ligand $\mathbf{L^1}H$, dans l'acétonitrile et en présence d'un équivalent Cu^{2+}, sa réponse fluorimétrique est similaire à celle obtenue précédemment dans l'eau. L'intensité de fluorescence du complexe $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$ est faible ainsi que son rendement quantique de fluorescence (ϕ_{CuL^1H} = 0,01) (Figure III-12b). En solution dans l'acétonitrile, $\mathbf{L^1}H$ n'est donc pas efficace pour détecter et quantifier le cation Cu^{2+}.

Pour les deux systèmes, la diminution de fluorescence en présence de cuivre(II) est due à un transfert d'électron photoinduit du fluorophore vers une orbitale d vacante du métal. Dans le ligand $\mathbf{L^1}H$, ce transfert se traduit par une extinction complète de la fluorescence. Dans le ligand $\mathbf{L^2}H_2$, le même phénomène se produit mais un second groupement benzimidazole est présent : dans ce cas, le phénomène PET désactive un seul des deux

groupements benzimidazole. Par conséquent, la fluorescence de $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Cu^{2+} n'est que partiellement éteinte.[16]

Afin de vérifier si $\mathbf{L^2}H_2$ peut être utilisé pour doser Cu^{2+} par fluorimétrie, la variation de l'intensité d'émission de $\mathbf{L^2}H_2$ en fonction de la concentration en Cu^{2+} a été suivie (Figure III-13).

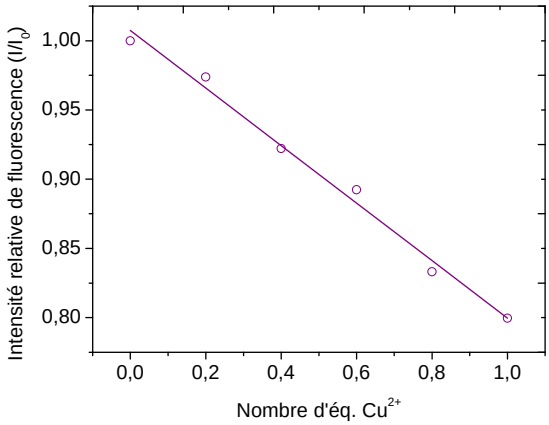


Figure III-13 : *Variation de l'intensité relative de fluorescence de* $\mathbf{L^2}H_2$ *en fonction de la concentration en* Cu^{2+}, $[\mathbf{L^2}H_2] = 5.10^{-7}$ *mol.L*$^{-1}$, $\lambda_{émission} = 300$ *nm, T = 25°C*

Bien que la différence entre l'intensité d'émission de $\mathbf{L^2}H_2$ et celle du complexe de cuivre(II) n'est pas très importante, la fluorescence du système diminue linéairement lors d'ajouts croissants de Cu^{2+}. Les limites de détection et de quantification déterminées pour $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Cu^{2+} sont alors respectivement de $3{,}7.10^{-8}$ mol.L^{-1} et $1{,}2.10^{-7}$ mol.L^{-1}.

c- En présence de Cd^{2+}

L'efficacité des sondes $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ pour la détection et le dosage par fluorimétrie du Cd^{2+} a enfin été évaluée dans l'acétonitrile. La variation de l'intensité d'émission de ces deux ligands en fonction d'ajouts croissants de Cd^{2+} a ainsi été suivie (Figure III-14).

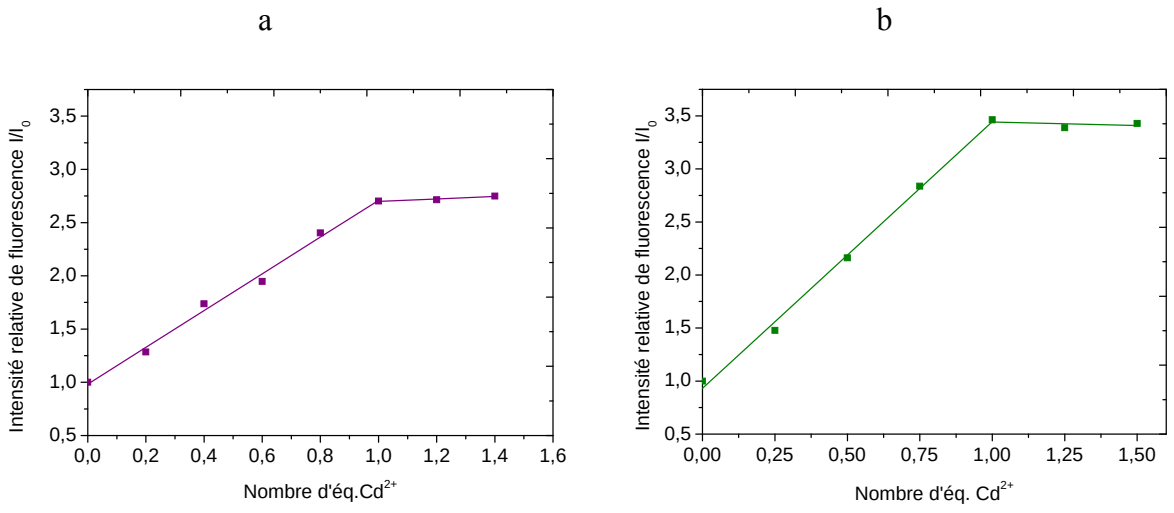


Figure III-14 : *Variation de l'intensité relative de fluorescence de a)* $\mathbf{L^2}H_2$ *et b)* $\mathbf{L^1}H$ *en fonction d'ajouts croissants de* Cd^{2+} *(*CH_3CN*, c =* 5.10^{-7} *mol.L*$^{-1}$*, T = 25°C,* λ_{exc} *= 270 nm ,* λ_{em} *= 302nm)*

L'augmentation de la concentration en Cd^{2+} en solution provoque une augmentation linéaire de la fluorescence de $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$. Les intensités de fluorescence des complexes correspondants, totalement formés après l'ajout d'un équivalent de Cd^{2+}, sont respectivement 2,5 et 3,3 fois plus importantes que celles des ligands libres. Les limites de détection et de quantification déterminées pour $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Cd^{2+} sont alors respectivement de 2.10^{-8} mol.L^{-1} et $6{,}8.10^{-8}$ mol.L^{-1}. Si on compare ces valeurs avec celles déterminées pour $\mathbf{L^1}H$ en présence de Cd^{2+} (LD = 5.10^{-8} mol.L^{-1} et LQ = $1{,}7.10^{-7}$ mol.L^{-1}), on constate que le greffage d'un second fluorophore benzimidazole a amélioré la sensibilité du ligand vis-à-vis de ce cation métallique.

2.3 Test de sélectivité dans l'acétonitrile pour les ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$

Afin de compléter les études précédentes, un test de sélectivité a été réalisé en mesurant la fluorescence dans l'acétonitrile de $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ en présence de certains ions alcalins et alcalino-terreux ainsi que d'autres cations de métaux de transition (Figure III-15).

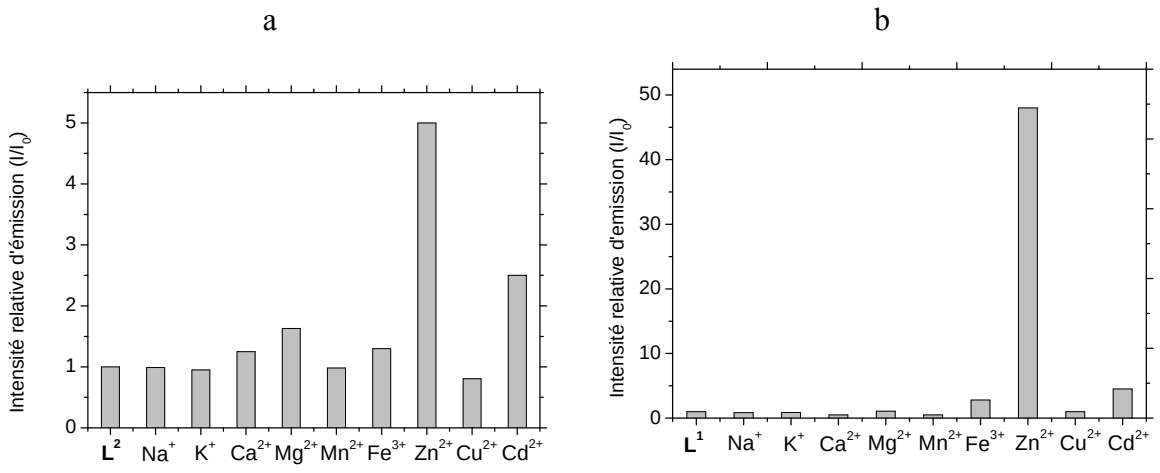


Figure III-15 *: Intensité relative de fluorescence (I/I_0) de a) $\mathbf{L^2}H_2$ et b) $\mathbf{L^1}H$ en présence d'un équivalent de chaque cation*

(CH_3CN, $[\mathbf{L^1}H] = [\mathbf{L^2}H_2] = 5.10^{-7}$ mol.L^{-1}, $\lambda_{exc} = 270$ nm, $\lambda_{ém} = 302$ nm, T = 25°C)

Ce test montre qu'en solution dans l'acétonitrile, les ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ sont sélectifs vis-à-vis du Zn^{2+}. La sélectivité de $\mathbf{L^1}H$ est toutefois meilleure que celle $\mathbf{L^2}H_2$, en particulier à cause de sa non réponse vis-à-vis du cadmium. L'intérêt de $\mathbf{L^2}H_2$ réside par contre dans le fait que, seul ce ligand permet de détecter et de doser le Cu^{2+}.

C- EN CONCLUSION

Dans le but d'améliorer la sonde $\mathbf{L^1}H$, le ligand $\mathbf{L^2}H_2$ portant un groupement benzimidazole supplémentaire a été synthétisé. Ses complexes de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} ont été isolés et, en l'absence de monocristaux, caractérisés par les techniques spectroscopiques usuelles. Les résultats obtenus montrent que les complexes $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ possèdent une géométrie octaédrique *cis*-distordue.

Dans l'acétonitrile, les ligands $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^1}H$ permettent de doser dans l'ultraviolet les cations Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} à de faibles concentrations.

Toujours dans l'acétonitrile mais par fluorimétrie, le ligand $\mathbf{L^2}H_2$ est polyvalent puisqu'il permet de détecter et doser les trois cations Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} à de faibles concentrations (limites de détection vis-à-vis de Zn^{2+} = 10^{-9} mol.L^{-1}, de Cu^{2+} = $3{,}7.10^{-8}$ mol.L^{-1}, et de Cd^{2+} = 2.10^{-8} mol.L^{-1}). Ceci implique de fait, que $\mathbf{L^2}H_2$ est moins sélectif que $\mathbf{L^1}H$ vis-à-vis du zinc. En particulier, l'augmentation de fluorescence observée pour $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Zn^{2+} et de Cd^{2+} est du même ordre de grandeur (facteur

cinq pour Zn^{2+} et 2,5 pour Cd^{2+}). Ceci peut être préjudiciable à la quantification de l'un ou l'autre des cations dont les caractéristiques sont par ailleurs voisines.

Références bibliographiques

[1] M. Regueiro-Figueroa, D. Esteban-Gomez, C. Plata-Iglesias, A. De Blas, T. Rodriguez-Blas, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 2198-2207.

[2] B. Bosnich, C. K. Poon, M. L. Tobe, *Inorg. Chem.* **1965**, 4, 1102-1108.

[3] M. Di Vaira, F. Mani, N. Nardi, P. Stoppioni, A. Vacca, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1996**, 2679-2684.

[4] H. Maumela, R. D. Hancock, L. Carlton, J. H. Reibenspies, K. P. Wainwright, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6698-6707.

[5] R. Delgado, V Félix, L. M. P. Lima, D. W. Price, *Dalton Trans.* **2007**, 2734-2745.

[6] a) A. Riesen, M. Zehnder, T. A. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1986**, 69, 2067-2073. b) A. Riesen, M. Zehnder, T. A. Kaden, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **1991**, *C47*, 531-533.

[7] W. Niu, E. H. Wong, G. R. Weisman, Y. Peng, C. J. Anderson, L. N. Zakharov, J. A. Golen, A. L. Rheingold, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2004**, 3310-3315.

[8] a) B. J. Hathaway, A. A. G. Tomlinson, *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 1–43. b) B. J. Hathaway, D. E. Billing, *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 143-207.

[9] B. J. Hathaway, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1972**, 1196-1199.

[10] R. Delgado, J. J. R. Fraústo Da Silva, M. C. T. A. Vaz, *Talanta* **1986**, *33*, 285-287.

[11] C. F. G. C. Geraldes, M. P. M. Marques, B. De Castro, E. Pereira, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 559-565.

[12] X. E. Bu, C. Wei, F. Ya Yin, L. Shou Liang, W. Chang Feng, R. H. Zhang, *Acta Chemica Scandinavica* **1998**, *52*, 813-815.

[13] S. El Ghachtouli, C. Cadiou, I. Déchamps-Olivier, F. Chuburu, M. Aplincourt, T. Roisnel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 3472-3481

[14] K. Miyoshi, H. Tanaka, E. Kimura, S. Tsuboyama, S. Murata, H. Shimizu, K. Ishizu, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *78*, 23–30.

[15] A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. Mc. Coy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566.

[16] Y. Shiraishi, Y. Kohno, T. Hirai, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2005,** *44*, 847-851.

CHAPITRE III

Partie expérimentale

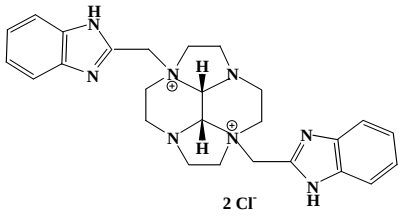
A - SYNTHESE DU LIGAND L^2H_2 (CYCLEN-DIMETHYLBENZIMIDAZOLE)

La synthèse du ligand cyclen-diméthylbenzimidazole L^2H_2 est réalisée à partir du bisaminal de cyclen.

1. Synthèse du bisaminal de L^2H_2

20,9 mmol de 2- (chlorométhyl)-benzimidazole en solution dans 20 mL d'acétonitrile sont ajoutés goutte-à-goutte à 7 mL d'acétonitrile contenant 6,7 mmol de cyclen-glyoxal. Après agitation pendant cinq jours à température ambiante, le bisaminal de $\mathbf{L^2}H_2$ précipite. Le produit est ensuite filtré, lavé à l'acétonitrile et séché sous le vide de la rampe (R = 90 %).

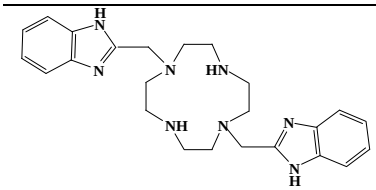
La formation du bisaminal fonctionnalisé est vérifiée par RMN du ^{13}C, les déplacements chimiques $\delta(^{13}C)$ de composéétant regroupés dans le tableau ci-dessous.

Bis-aminal	δ(ppm) RMN ^{13}C (D_2O,pH acide)
	CH_2N : 40,18-41,0-42,48-46,67 BICH_2N : 71,2 CH_{am} : 89,2 CH_{ar} : 112,82-125,52-129,54-145,54

BI : benzimidazole

2. Déprotection du bisaminal de L^2H_2

Le bisaminal fonctionnalisé est déprotégé par hydrazynolyse (20 mL d'hydrate d'hydrazine, reflux pendant huit heures). Après refroidissement, le ballon est placé au réfrigérateur pour favoriser la précipitation du produit déprotégé. Le ligand est ensuite isolé par filtration puis repris plusieurs fois dans l'éthanol afin d'éliminer toute trace de l'hydrate hydarzine. Après séchage sous le vide de la rampe, la pureté du ligand est contrôlée par RMN ^{13}C, analyse élémentaire et spectrométrie de masse. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.



L² H_2

R = 68 %

δ(¹³C, D₂O, pD = 3 / ppm) — *C*H_2N : 45,4-53,1

BI*C*H_2N : 53,7

CH_{ar} : 115,2-122,5-138,8-153,1

$C_{24}H_{32}N_8$, 0,25CH_3OH, 3H_2O : Calculé (%) : C, 58,69-H, 7,60-N, 23,43

Trouvé (%) : C, 59,24-H, 7,78-N, 23,03

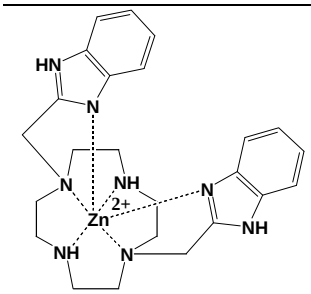
ESI-MS (m/z) : [**L²**H_3]$^+$: Calculé : 433,5

Trouvé : 433,3 (100%)

B - SYNTHESE DES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE (II), ET DE CADMIUM A PARTIR DE L²H₂

1.1 Synthèse des complexes [Zn**L²**H_2]$(ClO_4)_2$, [Cu**L²**H_2]$(BF_4)_2$ et [Cd**L²**H_2]$(ClO_4)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant un équivalent de perchlorate de zinc, de perchlorate de cadmium ou de tetrafluoroborate de cuivre hexahydraté sont ajoutés goutte-à goutte à 0,2 mmol de **L²**H_2 solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution obtenue est chauffée à reflux pendant quatre heures, puis concentrée au minimum par évaporation. Le complexe souhaité précipite par l'ajout de diethyléther. Le solide obtenu (blanc-jaunâtre pour les complexes de zinc(II) et de cadmium(II) et vert pour le complexe de cuivre(II)) est filtré et séché sous vide.

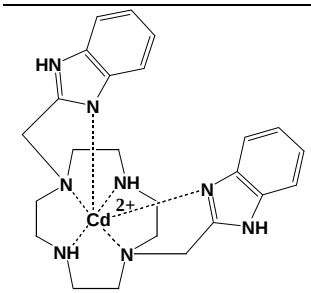


[Zn**L²** H_2]$^{2+}$

δ(¹³C, CD_3OCD_3 / ppm) — *C*H_2N : 45,1- 49,1

BI*C*H_2N : 51,2

CH_{ar} : 112,8-118,9-123,4-124,4-135,0-139,6-155,4

	$[Cd\ \mathbf{L^2}\ H_2]^{2+}$
δ(¹³C, DMSO-d⁶ / ppm)	CH_2N : 50,5- 43,4 BICH_2N : 51,0 CH_{ar} : 112,60-118,80-122,60-123,90-134,27-139,80-154,98

1.2 Contrôle des complexes de zinc(II), de cuivre (II), et de cadmium(II) avec le ligand $\mathbf{L^2}H_2$

Les complexes ont été contrôlés par analyse élémentaire et spectrométrie de masse. Les analyses élémentaires des différents complexes sont données dans le tableau ci-dessous.

Formule		% C	% H	% N	Couleur
$[Zn\mathbf{L^2}H_2](ClO_4)_2$, 0,5 H_2O	Expérimental	40,7	4,62	15,46	blanc-jaunâtre
$C_{24}H_{32}N_8ZnCl_2O_4$, 0,5H_2O	Théorique	40,84	4,71	15,87	
$[Cu\mathbf{L^2}H_2](BF_4)_2$, 0,25 H_2O	Expérimental	42,81	5,11	16,59	vert
$C_{24}H_{32}N_8CuB_2F_8$, 0,25 H_2O	Théorique	42,75	4,86	16,62	
$[Cd\mathbf{L^2}H_2](ClO_4)_2$, 0,75 H_2O	Expérimental	38,08	4,24	14,56	blanc-jaunâtre
$C_{24}H_{32}N_8CdCl_2O_8$, 0,75H_2O	Théorique	38,06	4,46	14,8	

Les analyses des complexes par spectrométrie de masse (ESI-MS) sont reportées dans le tableau suivant.

Formule	Expérimental		Théorique
	m/z	%	m/z
$[Zn\mathbf{L^2}H_2(ClO_4)]^+$	595,2	32	595,2
$[Zn\mathbf{L^2}H]^+$	495,1	9	495,1
$[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	248,1	100	248,1
$[Cu\mathbf{L^2}H_2BF_4]^+$	582,2	44	582,2
$[Cu\mathbf{L^2}H]^+$	494,2	29	494,2
$[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	247,6	100	247,6
$[Cd\mathbf{L^2}H_2(ClO_4)]^+$	645,1	36	645,1
$[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$	273,6	100	273,6

C- SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE DANS L'ACETONITRILE

L'étude UV-Visible des ligands $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^2}H_2$ dans l'acétonitrile en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} est obtenue de la façon suivante : des volumes croissants de solutions de $Zn(ClO_4)_2$, 6 H_2O, $Cu(BF_4)_2$, 6 H_2O ou $Cd(ClO_4)_2$, 6 H_2O (concentration 1,2 10^{-3} mol.L^{-1} pour l'UV et 5.10^{-2} mol.L^{-1} pour le Visible) sont ajoutés à des solutions de ligands (3.10^{-5} mol.L^{-1} pour l'UV et 10^{-3} mol.L^{-1} pour le Visible) dans l'acétonitrile. Au cours de l'étude, le rapport [métal]/[ligand] est ensuite varie entre 0 et 1,6.

Les spectres UV et Visible nm sont enregistré à 25°C avec un spectrophotomètre « SHIMADZU UV-2410-PC».

D- ETUDES FLUORIMETRIQUES DANS L'ACETONITRILE

L'étude en fluorescence dans l'acétonitrile des ligands $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^2}H_2$ en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} est obtenue en ajoutant des volumes croissants de $Zn(ClO_4)_2$, 6 H_2O, $Cu(BF_4)_2$, 6 H_2O ou $Cd(ClO_4)_2$, 6 H_2O (concentration 1,2 10^{-3} mol.L^{-1}) à des solutions de ligands à 3.10^{-5} mol.L^{-1} dans l'acétonitrile. Ces solutions sont en suite diluées dans l'acétonitrile dans le but d'avoir une concentration finale en ligand à 5.10^{-7} mol.L^{-1}.

Les rendements quantiques sont déterminés par comparaison des spectres d'émission enregistrés pour les complexes précédents avec celui du sulfate de quinine en utilisant la relation suivante [1]:

$$\phi_{échantillon} = \phi_{référence}\left(\frac{A_{échantillon}}{A_{référence}}\right)\left(\frac{\varepsilon_{référence}}{\varepsilon_{échantillon}}\right)\left(\frac{C_{référence}}{C_{échantillon}}\right)\left(\frac{n_{rMeCN}}{n_{reau}}\right)^2$$

Le rendement quantique du sulfate de quinine dans l'eau est $\phi_{référence} = 0{,}55$ [2]. *A* est l'aire integrée du spectre de fluorescence, ε est coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde d'excitation, $C = 5.10^{-7}$ mol.L^{-1}et n_r est l'indice de réfraction du solvant.[3]

Rendements quantiques des ligands dans CH_3CN : ϕ(**L^1**H) = 0,02, ϕ(**L^2**H_2) = 0,06.

Rendements quantiques des complexes de zinc dans CH_3CN : ϕ(**L^1**H/Zn^{2+}) = 0,58, ϕ(**L^2**H_2/Zn^{2+}) = 0,21.

Rendements quantiques des complexes de cuivre dans CH_3CN : ϕ(**L^1**H/Cu^{2+}) = 0,01, ϕ(**L^2**H_2/Cu^{2+}) = 0,03.

Rendements quantiques des complexes de cadmium dans CH_3CN : ϕ(**L^1**H/Cd^{2+}) = 0,02, ϕ(**L^2**H_2/Cd^{2+}) = 0,05.

Références bibliographiques

[1] J. N. Demas, G. A. Crosby, *J. Phys. Chem.* **1971**, *75*, 991-1024.

[2] P. C. Tway, L. J. Cline Love, *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 5223-5226.

[3] M. Montalti, A. Credi, L. Prodi, M. T. Gandolfi, Handbook of Photochemistry, Third Edition, **2006**, Taylor and Francis Group.

CHAPITRE IV

Synthèse et étude physicochimique du ligand cyclam-méthylbenzimidazole (L^3H) et de ses complexes de zinc (II), cuivre (II) et cadmium (II)

Les chapitres précédents ont montré l'intérêt du fluoroionophore **L**^{1}H pour doser sélectivement le zinc dans l'eau. Une amélioration dans la détection de ce cation peut passer par une modification de la cavité macrocyclique différente de celle envisagée dans le ligand **L**^{2}H$_2$, à savoir par le remplacement d'une cavité cyclen par une cavité cyclam. Ce chapitre s'intéresse donc à la synthèse, à la complexation du cyclam-méthylbenzimidazole **L**^{3}H, ainsi qu'à son évaluation en tant que sonde fluorescente pour les cations Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}.

A – SYNTHESE ET ETUDE DES PROPRIETES ACIDO-BASIQUES DU CYCLAM – METHYLBENZIMIDAZOLE L^{3}H

1. Synthèse du ligand cyclam-méthylbenzimidazole L^{3}H

La dimension de la cavité macrocyclique des ligands tétraazamacrocycliques est un paramètre qui joue de façon directe sur les propriétés acido-basiques des fonctions amine et sur la stabilité des complexes formés avec ce type de ligand. Pour cette raison et dans le but de connaître l'influence de l'augmentation de la taille de la cavité macrocyclique sur la stabilité des complexes, le ligand (cyclam-méthylbenzimidazole (**L**^{3}H)) analogue de **L**^{1}H, a été synthétisé. Comme c'est le cas pour **L**^{1}H, la synthèse nécessite la monoN-fonctionnalisation du cyclam. Le bis-aminal monoN-méthylbenzimidazole a été synthétisé à partir du cyclam-glyoxal en présence d'un équivalent de chlorométhyl-benzimidazole dans le THF anhydre (Schéma IV-1), selon la méthode mise au point par H. Handel *et coll.* (*cf.* page 221).[1] Dans le but d'améliorer le rendement de la formation du monosel, un équivalent d'iodure de sodium a été ajouté afin de substituer le groupement chloro par le groupement iodo, meilleur nucléofuge.

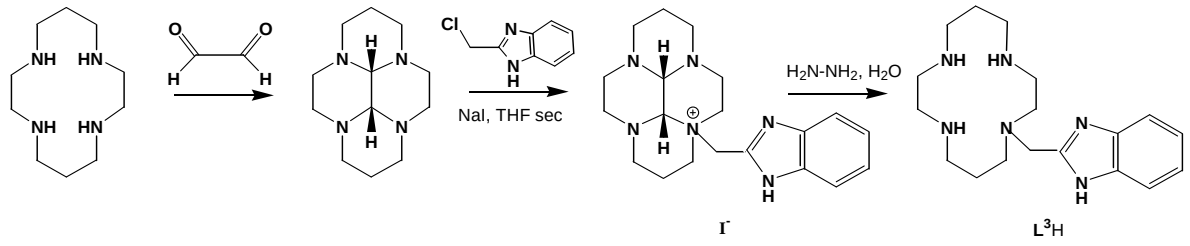


Schéma IV-1 : *Synthèse du ligand cyclam-méthylbenzimidazole* ***L***^{3}*H*

Après précipitation, le monosel est séparé par filtration puis déprotégé en chauffant à reflux dans l'hydrate d'hydrazine. Le ligand **L**^{3}H précipite alors à froid dans le milieu

réactionnel (R = 86 %). La formation du ligand **L**^{3}H a été vérifiée par RMN du ^{13}C et sa pureté a été contrôlée par analyse élémentaire et spectrométrie de masse.

2. Etude des propriétés acido-basiques de ligand L^{3}H

2.1 Courbes de neutralisation expérimentales

Les propriétés acido-basiques du ligand **L**^{3}H ont été étudiées à une température constante de 25,0°C et à une force ionique de 1 en KNO_3. Le ligand (c = 2.10^{-3} mol.L^{-1}) est solubilisé dans de l'acide nitrique (10^{-2} mol.L^{-1}) puis dosé par une solution d'hydroxyde de potassium (0,1 mol.L^{-1}) entre pH = 2 et pH = 12. La courbe de dosage du ligand **L**^{3}H (2.10^{-3} mol.L^{-1}, V = 4 mL) par KOH 0,1 mol.L^{-1} est donnée dans la Figure IV-1. La courbe verte correspond au dosage de 4 mL d'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}.

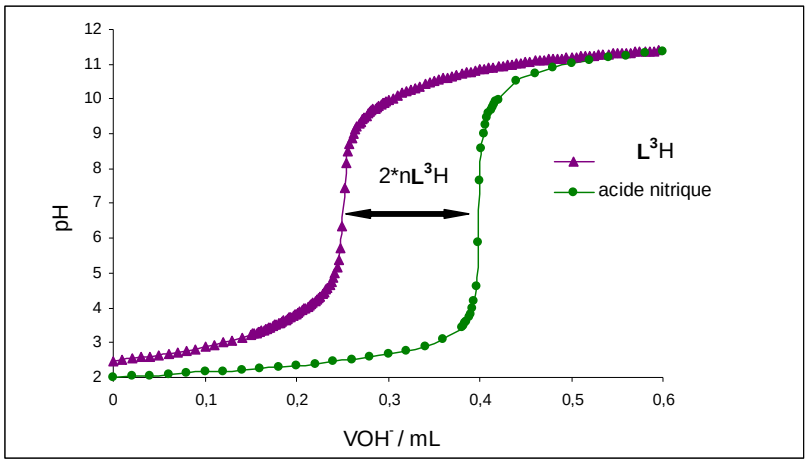


***Figure IV-1**: Courbes de neutralisation par KOH 0,1 mol.L^{-1} :*
*(▲) du ligand **L**^{3}H (V = 4 mL, c = 2.10^{-3} mol.L^{-1} en solution dans l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}) et*
(●) de 4 mL d'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}, I = 1 (KNO_3)

Comme évoqué précédemment pour **L**^{1}H, la différence des volumes équivalents entre la courbe de neutralisation de l'acide nitrique et celle du ligand **L**^{3}H correspond à la "consommation" de protons par le ligand (fixation des protons correspondant aux acidités faibles), c'est-à-dire à deux fois la quantité n_{L^3H} de ligand introduite.

Le volume équivalent du titrage de **L**^{3}H par de la potasse peut alors être calculé à partir de la relation suivante :

$$V_{L^3H} = \frac{n_{H^+} - 2n_{L^3H}}{c_{OH^-}}$$

avec, n_{H^+} le nombre de protons apporté par l'acide nitrique.

et c_{OH^-} la concentration de la base ajoutée.

Le ligand $\mathbf{L^3}$H possède potentiellement six sites acido-basiques. Par analogie avec le cyclam,[1] on s'attend à déterminer pour la cavité macrocyclique quatre acidités : deux acidités relativement fortes et deux acidités faibles. Les deux autres constantes correspondent à la protonation de la fonction imine et à la déprotonation de l'amine pyrrolique du benzimidazole respectivement.

Pour des valeurs de pH inférieures à 4, l'allure de la courbe de dosage de $\mathbf{L^3}$H correspond bien à la neutralisation des acidités fortes de $\mathbf{L^3}$H ainsi qu'à celle de l'acide nitrique en excès. Entre pH 4 et 5, la neutralisation d'une acidité supplémentaire se produit. Au-delà de l'équivalence (pH > 8), l'allure de la courbe de titrage est caractéristique de la neutralisation successive de plusieurs acidités faibles : des calculs ont par conséquent été effectués pour déterminer le nombre et les valeurs des constantes d'acidité de $\mathbf{L^3}$H.

2.2 Détermination des constantes de protonation de $\mathbf{L^3}$H

Afin de déterminer les constantes de protonation de $\mathbf{L^3}$H, une série de six titrages potentiométriques a été réalisée. Les logarithmes des constantes globales de protonation ont été calculées avec le programme PROTAF[2] à partir de sept titrages potentiométriques. Comme cela a été dit précédemment, le ligand $\mathbf{L^3}$H possède six sites acido-basiques et dans les conditions expérimentales utilisées, ces six constantes de protonation ont pu être déterminées avec une précision correcte. Une bonne adéquation entre les courbes expérimentales et les courbes calculées de PROTAF est observée en prenant en compte les espèces $\mathbf{L^{3-}}$, $\mathbf{L^3}$H, $\mathbf{L^3}H_2^+$, $\mathbf{L^3}H_3^{2+}$, $\mathbf{L^3}H_4^{3+}$, $\mathbf{L^3}H_5^{4+}$, et $\mathbf{L^3}H_6^{5+}$ (Figure IV-2, Tableau IV-1).

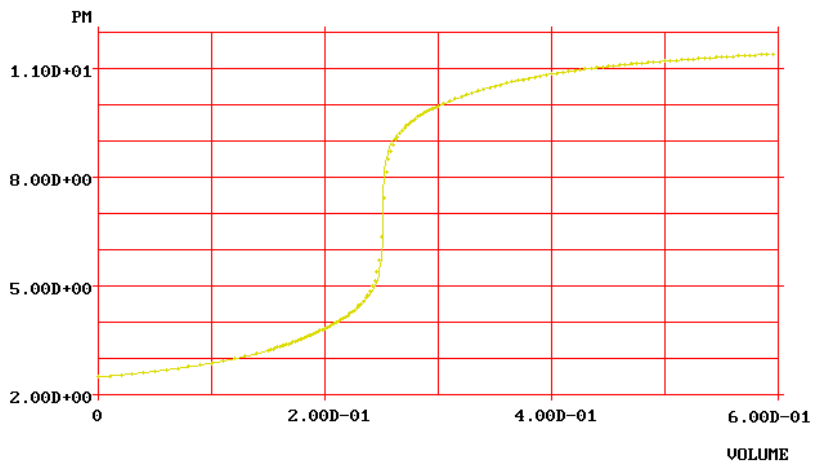


Figure IV-2 *: Courbes de neutralisation expérimentale (•) et calculée (-) par PROTAF pour* ***L*** ^{3}*H par KOH 0,1 mol.L*$^{-1}$*, 25°C, v = 4 mL, c = 2.10*$^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$ *(en solution dans l'acide nitrique 10*$^{-2}$ *mol.L*$^{-1}$*)*

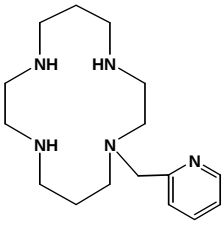
Tableau IV-1 *: Constantes de protonation log* K_{01h} *de* $\mathbf{L}^{3}$*H.*

Equilibre	log K_{01h} [(a)]	$L^{3}H$ [(b)]	Cyclam [(c)]	L^{11} [(d)]
$\mathbf{L}^{e} + H^{+} \rightleftharpoons \mathbf{L}H$	log K_{011}	12,0 (3)		
$\mathbf{L}H + H^{+} \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_2]^{+}$	log K_{012}	11,5 (2)	11,58	11,31
$[\mathbf{L}H_2]^{+} + H^{+} \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_3]^{2+}$	log K_{013}	9,73 (7)	10,62	10,47
$[\mathbf{L}H_3]^{2+} + H^{+} \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_4]^{3+}$	log K_{014}	3,93 (9)	1,61	2,88
$[\mathbf{L}H_4]^{3+} + H^{+} \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_5]^{4+}$	log K_{015}	2,62 (6)	2,42	2,32
$[\mathbf{L}H_5]^{4+} + H^{+} \rightleftharpoons [\mathbf{L}H_6]^{5+}$	log K_{016}	1,4 (2)		1,73

Les valeurs entre parenthèses correspondent à un intervalle de confiance calculé pour un seuil de confiance de 95%

a- K_{01h} *correspond à l'équilibre :* $LH_{h-1}^{(h-1)+} + H^{+} \rightleftharpoons LH_{h}^{h+}$

b- *Titrage potentiométrique à 25.0(1) °C, I = 1 (*KNO_3*) ; c- ref [1] ; d- ref [3a] ; e- pour* $\mathbf{L}^{3}$*H, l'espèce L correspond à la forme anionique* $\mathbf{L}^{3-}$ *du ligand.*



$\mathbf{L}^{11}$

Schéma IV-2 : *Structure de* $\mathbf{L}^{11}$

A l'aide du logiciel HYSS, les domaines d'existence des différentes espèces protonées de $\mathbf{L^3}$H peuvent être déterminés (Figure IV-3).

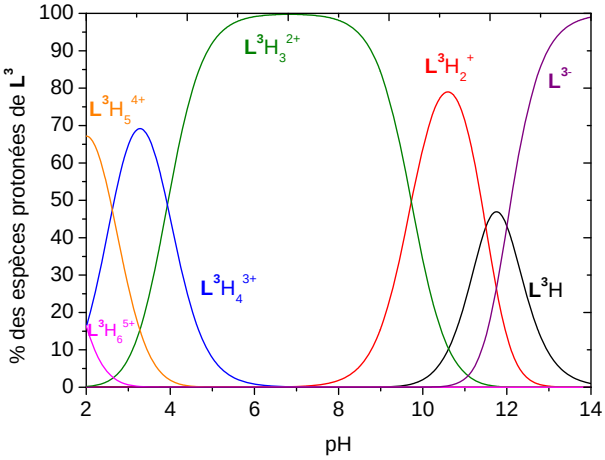


Figure IV-3 *: Courbes de répartition de* $\mathbf{L^3}$*H et de ses espèces protonées en fonction du pH* *(*$[\mathbf{L^3}H] = 2.10^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$*)*

D'après ces courbes de répartition, dans la gamme de pH comprise entre 4 et 9 l'espèce $\mathbf{L^3}H_3^{2+}$ prédomine. Au-delà de pH 9, les espèces $\mathbf{L^3}H_3^{2+}$ $\mathbf{L^3}H_2^{+}$, $\mathbf{L^3}$H et $\mathbf{L^{3-}}$ coexistent en solution.

Une première interprétation de la séquence de protonation de $\mathbf{L^3}$H peut être effectuée sur la base de la comparaison des constantes de protonation affinées pour $\mathbf{L^3}$H et de celles connues pour des ligands pertinents comme le cyclam ainsi que les ligands $\mathbf{L^1}$H et $\mathbf{L^{11}}$. Par rapport au cyclam, $\mathbf{L^3}$H présente deux constantes d'acidités supplémentaires. Par analogie avec les résultats obtenus pour $\mathbf{L^1}$H, ces deux constantes d'acidités peuvent être corrélées à la protonation et à la déprotonation de la sonde benzimidazole (Chapitre II). La constante la plus élevée (log K_{011} = 12,0) peut ainsi être associée à la déprotonation du groupement pyrrole de la sonde ; la constante log K_{014} = 3,93 peut être à associée à l'équilibre de protonation du groupement imine de cette même sonde. Les constantes log K_{012} = 11,5 et log K_{013} = 9,73 sont voisines de celles attribuées dans le cyclam à la protonation de deux fonctions amine du macrocycle : dans le cyclam-benzimidazole, ces constantes correspondraient aussi à la protonation de deux fonctions amine du macrocycle. Enfin, les deux dernières constantes (log K_{015} = 2,62 et log K_{016} = 1,4) pourraient être attribuées à la protonation des deux dernières fonctions amine du macrocycle, comme c'est le cas pour le cyclam (log K_{013} = 1,61 et log K_{014} = 2,42)[1] et pour le ligand $\mathbf{L^{11}}$ (log K_{014} = 2,32 et log K_{015} = 1,73).[3]

3. Suivi de la protonation du ligand L^3H par spectroscopie UV et par spectroscopie RMN ^1H

La potentiométrie permet de déterminer les constantes de protonation du ligand $\mathbf{L^3}H$ mais elle ne donne pas d'information sur les sites associés aux échanges de protons en solution. L'analyse précédente propose une hypothèse de séquence de protonation qu'il s'agit donc ici d'étayer, par un suivi de la réponse du ligand en fonction du pH par spectroscopie RMN ^1H et UV.

3.1 Suivi de la protonation du ligand $\mathbf{L^3}H$ par RMN ^1H

L'évolution en fonction du pH des déplacements chimiques des protons aromatiques et CH_2-benzimidazole de $\mathbf{L^3}H$ est reportée dans la Figure IV-4.

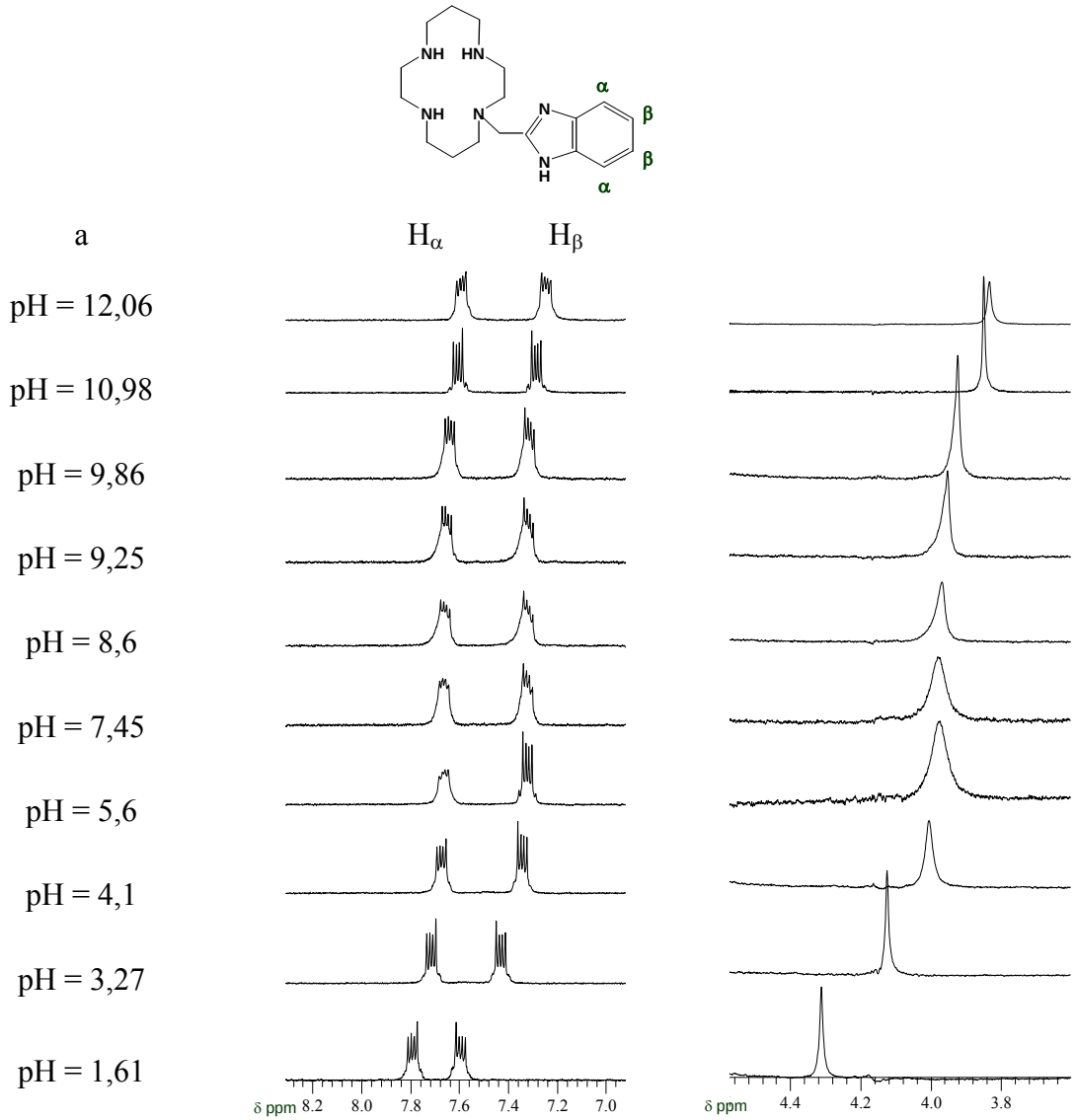


***Figure IV-4a**: Spectre RMN ^1H du ligand $\mathbf{L^3}H$ en fonction du pH,*

D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 250 MHz

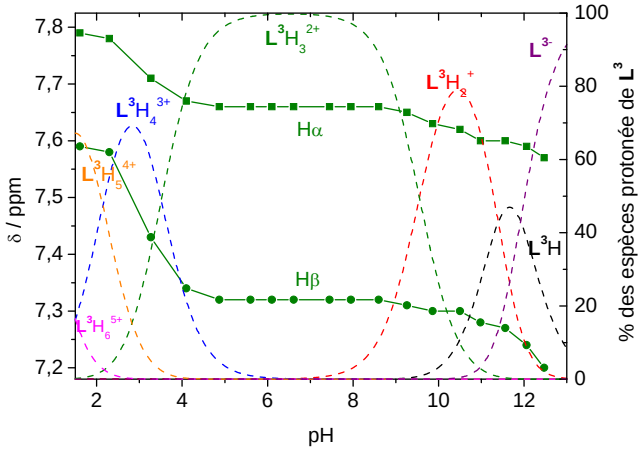


Figure IV-4b : *Evolution des δ ($^1H_{aromatiques}$) et du ligand* ***L^{3}H*** *en fonction du pH*

$c = 10^{-2}$ mol.L^{-1}

Pour des valeurs de pH inférieures à 4, les protons aromatiques subissent un déblindage. Ce phénomène, comparable à celui observé dans les mêmes conditions pour **L^1**H, est dû à la déprotonation de l'imine de benzimidazole. D'après les courbes de distribution des espèces protonées, dans cette zone de pH, **L^3**H_4^{3+} est l'espèce majoritaire. Ce résultat conforte donc l'attribution de la constante log K_{014} = 3,93, à la protonation de l'imine du benzimidazole (formation d'un groupement iminium).

En milieu basique, la variation des signaux des protons aromatiques est plus délicate à interpréter : en effet, les trois espèces **L^3**H_2^+, **L^3**H et **L^{3-}** coexistent en solution en milieu basique. Le blindage des signaux attendu pour une déprotonation de la sonde intervient au-delà de pH 9,5, avec une accentuation nette du blindage pour les protons H_β au-delà de pH 12. Etant donné qu'à partir de pH 9,5, les domaines d'existence des trois espèces **L^3**H_2^+, **L^3**H et **L^{3-}** se recouvrent, l'attribution des trois constantes (log K_{013} = 9,73, log K_{012} = 11,5 et log K_{011} = 12,0) à des évènements de déprotonation clairement identifiés ne peut pas être réalisée sur la base de la RMN ^{1}H seule.

3.2 Suivi de la protonation du ligand **L^3**H par spectroscopie UV

Les études spectroscopiques UV en fonction du pH sont réalisées entre 240 et 350 nm en faisant varier le pH d'une solution de ligand (3.10^{-5} mol.L^{-1}) par des ajouts de NaOH et de HCl. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure IV-5.

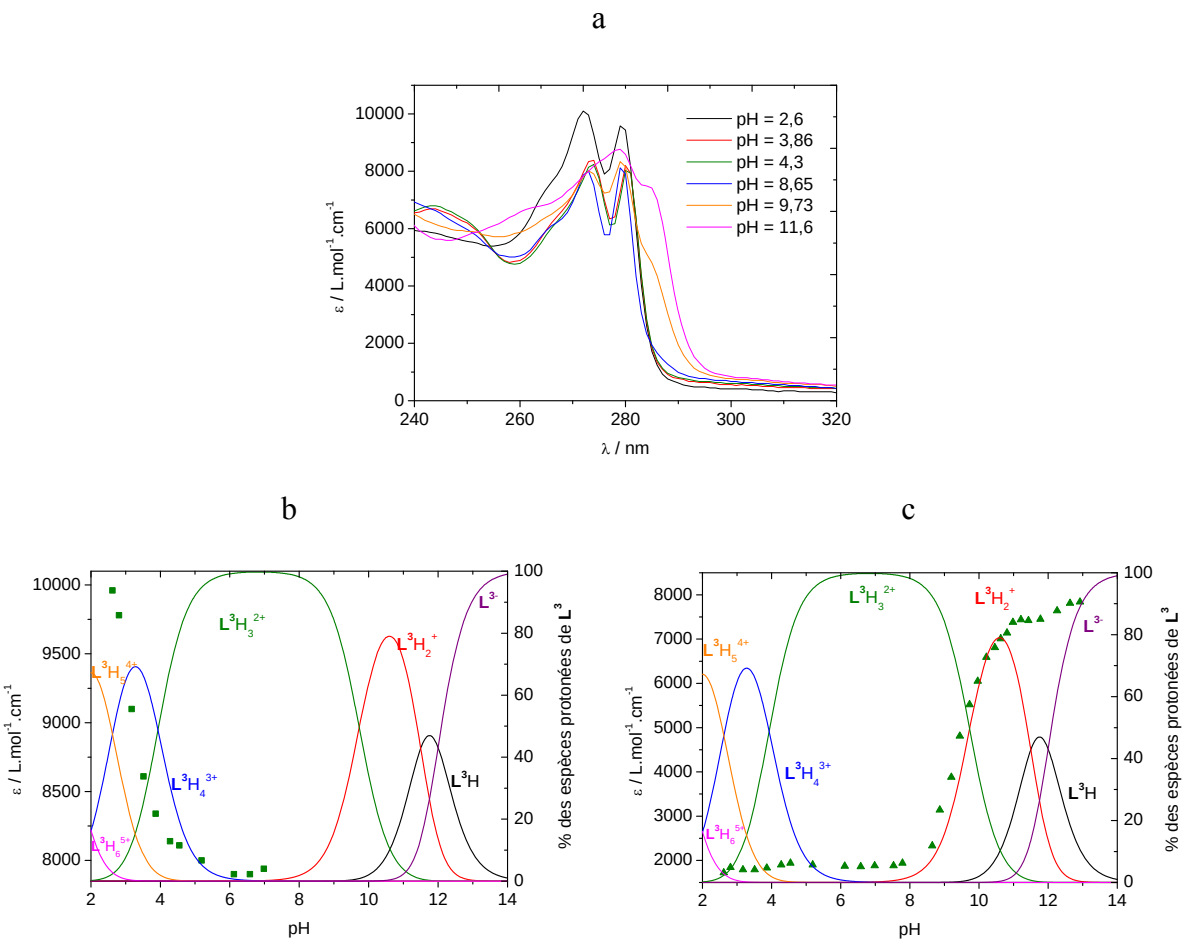


Figure IV-5 *: a) Titrage spectroscopique du ligand* ***L³H*** *en fonction du pH,*
b) ε_{273} *(mol⁻¹ L cm⁻¹) = f (pH) ■ et c)* ε_{285} *(mol⁻¹ L cm⁻¹) = f (pH) ▲*
*[**L³H**] = 3.10⁻⁵ mol.L⁻¹, I = 1(NaCl), T = 25°C, ℓ = 1 cm.*

A pH 7 (pH initial de la solution de **L³H** à 3.10^{-5} mol.L^{-1}) le chromophore benzimidazole présente deux bandes d'absorption à 273 et 280 nm (transitions π*←π).[4,5] La diminution du pH jusqu'à une valeur de 3,9 ne s'accompagne pas d'une modification du spectre. A des pH plus acides (pH < 3,9) un faible déplacement hypsochrome (λ = 2 nm), comparable à celui observé dans le cas du ligand **L¹H** et du benzimidazole libre en milieu acide, est observé.[4] Ce déplacement est accompagné par un effet hyperchrome de la bande à 273 nm (de 30% environ par rapport à la valeur initiale, (Figure IV-5b). Ce phénomène est dû à la protonation du groupement benzimidazole : il confirme à nouveau la proposition effectuée lors de l'étude potentiométrique, consistant à attribuer la constante log K = 3,93 à la protonation de ce groupement.

A des valeurs de pH plus élevées (pH > 8,6) une bande à 285 nm, caractéristique de la déprotonation du groupement pyrrole du benzimidazole commence à apparaître.[4,6] La variation du coefficient d'extinction molaire à cette longueur d'onde en fonction du pH, suit la

formation de l'espèce $\mathbf{L^3}H_2^+$ avec, en particulier, un point d'inflexion autour de pH 9,7 (Figure IV-5c). Par conséquent, ce résultat semble indiquer que la constante calculée par potentiométrie à log K = 9,73 doit être associée *à la déprotonation du groupement pyrrole du benzimidazole* et non pas, comme cela avait été proposé au cours de l'analyse comparative des constantes de protonation de $\mathbf{L^3}H$ et $\mathbf{L^1}H$, à la déprotonation de la cavité macrocyclique.

En résumé, une séquence de protonation déduite des analyses précédentes est présentée dans le Schéma IV-2.

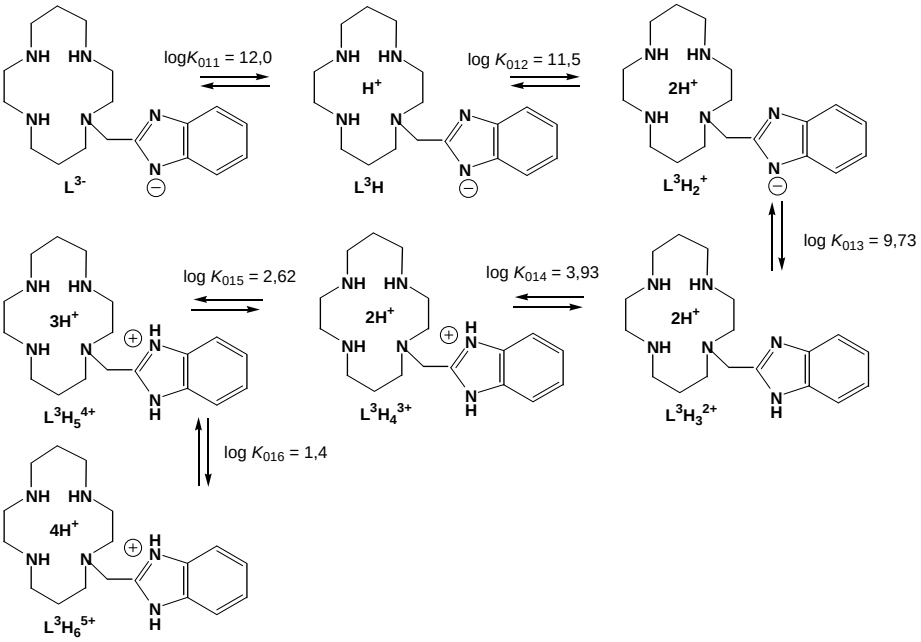


Schéma IV-2 *: Séquence de protonation du ligand* $\boldsymbol{L^3}H$

Toutefois cette séquence de protonation demande à être confirmée par modélisation moléculaire.

B – SYNTHESE, CARACTERISATION ET ETUDE DES PROPRIETES ELECTRONIQUES DES COMPLEXES DE ZINC(II), CUIVRE(II) ET CADMIUM(II) DU LIGAND L^3H

B.1- Complexes de zinc(II) et de cadmium(II)

1. Synthèse et caractérisation des complexes de zinc(II) et de cadmium(II) du ligand L^3H

1.1 Synthèse des complexes $[ZnL^3H](X)_2$ et $[CdL^3H](X)_2$ ($X = NO_3^-$, ClO_4^-)

Les complexes de zinc (II) et de cadmium (II) du ligand $\mathbf{L^3}H$ ont été préparés selon un mode opératoire commun (*cf.* pages 222-223). Un équivalent de sel de métallique est ajouté à une solution méthanolique du ligand. Après cinq heures d'agitation à reflux les solutions sont concentrées par évaporation et l'ajout de diéthyléther provoque la précipitation du complexe.

1.2 Caractérisation des complexes par RMN et diffraction des RX

$[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ présente sept signaux dans la zone des carbones aromatiques en RMN ^{13}C (154,24-137,57-133,36-123,69-122,92-116,58 et 112,05 ppm). Ce nombre de signaux est en augmentation par rapport à celui observé pour le ligand $\mathbf{L^3}H$ dans cette zone (113,62-120,12-137,72 et 152,78 ppm). Cette augmentation indique que l'atome d'azote imine du benzimidazole est impliqué dans la coordination du cation métallique.[7] Dans le complexe $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$, le zinc possède alors un nombre de coordination égal à 5 (ou 6 si la sphère de coordination est complétée par une molécule de solvant[8]). En raison de l'absence de structure cristallographique pour $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$, l'identification de la géométrie de coordination du métal est délicate. Une proposition de structure peut toutefois être tentée sur la base de l'analyse du spectre RMN ^1H du complexe, en particulier dans la zone des protons méthyléniques portés par le carbone situé simultanément en alpha du macrocycle et du substituant. Lors de l'étude structurale en solution du complexe $[Zn(benzyl\text{-}cyclam)]^{2+}$, Sadler[9a] a démontré que ce complexe peut exister sous forme de trois isomères distincts en solution (type I, type III et type V, selon la nomenclature de Bosnich[10]). Quelle que soit la stéréochimie du complexe, les protons méthyléniques, portés par le carbone en alpha du macrocycle et du substituant, se présentent sous la forme de doublet de doublet. Le substituant étant coordiné au centre métallique, ces protons ne sont plus équivalents d'où l'allure du signal. Dans l'étude, Sadler a démontré que l'écart entre les deux doublets varie selon la stéréochimie du complexe ($\Delta\delta$ = 0,25 ppm pour l'isomère type I, $\Delta\delta$ = 0,1 ppm pour l'isomère de type III, et $\Delta\delta$ = 0,35 ppm pour l'isomère de type V). Pour le complexe $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ ce critère peut être retenu pour sonder la stéréochimie du complexe (Figure IV-6).

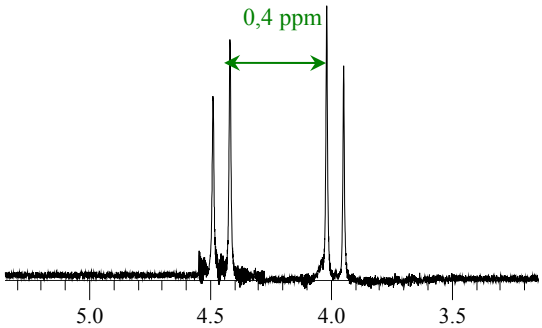


Figure IV-6 *: Signal RMN ^{1}H correspondant aux protons méthyléniques pour $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$, D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 250 MHz*

Pour $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$, le spectre RMN ^{1}H ne révèle la présence que d'un seul isomère en solution. L'écart entre les deux doublets associés aux protons méthyléniques est $\Delta\delta$ = 0,4 ppm. Par comparaison avec les valeurs proposées par Sadler, cette valeur est plutôt en faveur de la présence en solution d'un complexe de stéréochimie de type V, dans lequel les quatre liaisons N-H du complexe sont dirigées de façon alternée par rapport au plan formé par les atomes d'azote du macrocycle (*cf.* Schéma I-2 Chapitre I).

Pour le complexe $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$, des monocristaux ont été obtenus par diffusion lente de diéthyléther dans une solution méthanolique du complexe. La structure cristalline de $[Cd\mathbf{L}^3H(NO_3)](NO_3)$ est présentée à la Figure IV-7 (pour des raisons de clarté les atomes d'hydrogène hormis celui de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole, ne figurent pas sur la structure). Les principaux paramètres géométriques du complexe sont donnés dans le Tableau IV-2.

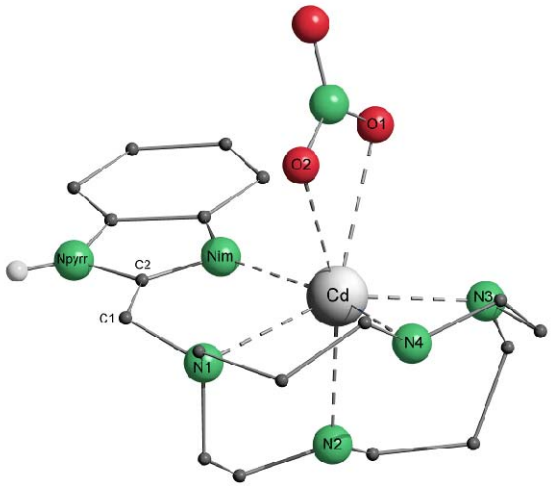


Figure IV-7 *: Structure du complexe $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$*

Tableau IV-2 *: Longueurs (Å) et angles de liaison (°) principaux du complexe [Cd**L**^{3}H(NO$_3$)](NO$_3$)*

Cd-N$_1$	2,487(2)	N$_1$-Cd-N$_2$	75,36(12)
Cd-N$_2$	2,349(4)	N$_1$-Cd-N$_3$	152,27(12)
Cd-N$_3$	2,338(4)	N$_1$-Cd-N$_4$	84,75(6)
Cd-N$_4$	2,377(3)	N$_1$-Cd-N$_{im}$	75,05(11)
Cd-N$_{im}$	2,289(3)	N$_1$-Cd-O$_1$	129,44(12)
N$_{im}$-C$_2$	1,371(5)	N$_1$-Cd-O$_1$	85,16(12)
N$_{pyrr}$-C$_2$	1,318(5)	N$_2$-Cd-N$_3$	84,02(12)
Cd-O$_1$	2,672(3)	N$_2$-Cd-N$_4$	90,99(12)
Cd-O$_2$	2,405(3)	N$_2$-Cd-N$_{im}$	90,83(12)
		N$_2$-Cd-O$_1$	147,80(12)
		N$_2$-Cd-O$_2$	160,40(12)
		N$_3$-Cd-N$_4$	77,18(13)
		N$_3$-Cd-N$_{im}$	124,24(13)
		N$_3$-Cd-O$_1$	77,03(13)
		N$_3$-Cd-O$_2$	113,63(13)
		N$_4$-Cd-N$_{im}$	109,40(6)
		N$_4$-Cd-O$_1$	109,40(11)
		N$_4$-Cd-O$_2$	85,12(11)

L'analyse des monocristaux par diffraction des rayons X montre que le complexe cristallise dans un système tétragonal (groupe d'espace P$_{42/c}$) (Annexe Tableau C). La maille élémentaire comprend huit complexes (Z = 8). Dans le complexe [Cd**L**^{3}H]$^{2+}$, le cadmium(II) est heptacoordiné et possède une géométrie octaédrique coiffée : sa sphère de coordination est formée par les quatre atomes d'azote macrocycliques (N$_1$-N$_4$), l'azote imine du benzimidazole (N$_{im}$) et deux atomes d'oxygène (O$_1$ et O$_2$) d'un contre-ion nitrate. En ce qui concerne les longueurs des liaisons Cd-N, les distances Cd-N$_{secondaire}$ varient entre 2,349 et 2,377Å ; elles sont plus courtes que la distance Cd-N$_{tertiaire}$ égale à 2,487 Å, comme observé précédemment pour les complexes de **L**^{1}H. Cette dernière distance est à son tour plus longue que celles du complexe [Cd(diméthylbenzyl-cyclam)]$^{2+}$ (Cd-N = 2,267 et 2,369 Å).[11] D'autre part, la longueur de liaison axiale Cd-N$_{im}$ (2,289Å) est plus courte que les liaisons équatoriales ce qui souligne la forte interaction entre l'atome d'azote imine du benzimidazole et le cadmium. En ce qui concerne la distance Cd-O$_2$ (2,405 Å), elle est très proche de celle observée dans le

complexe [Cd(diméthylbenzyl-cyclam)]$^{2+}$ (2,484 Å). Enfin, toutes les liaisons NH de la cavité macrocyclique complexée sont dirigées de façon alternée par rapport au plan formé par les atomes d'azote du macrocycle, ce qui confère au complexe à l'état solide une stéréochimie de type V.

En solution, le spectre RMN ^{13}C de [Cd**L**^{3}H]$^{2+}$ présente sept signaux dans la zone des carbones aromatiques (154,34-138,66-133,17-123,54-123,01-116,74 et 112,3 ppm) : ceci signifie que le groupement benzimidazole, coordiné au métal, a perdu sa symétrie locale. Par ailleurs, en RMN ^{1}H, les deux protons H_α du groupement benzimidazole ne sont plus équivalents et résonnent sous forme d'un doublet de doublet à 7,68 et 7,63 ppm tandis que les protons H_β ne sont pas différenciés (7,38 ppm) (Figure IV-8).

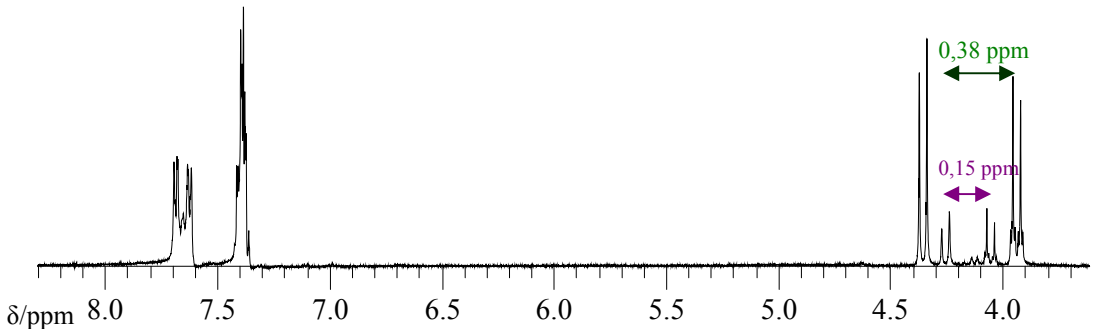


Figure IV-8 *: Spectre RMN ^{1}H du complexe [Cd**L**^{3}H]$^{2+}$ dans la zone des protons aromatiques* ***H_α et H_β*** *et dans la zone des protons méthyléniques en α du macrocycle et du substituant (pH 6,15), D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1},* ***250*** *MHz*

Ce phénomène, déjà observé lors de l'étude de [Cd**L**^{1}H]$^{2+}$, est attribué à la coordination d'un contre-ion en mode bidenté.[12,13] La coordination de l'anion a alors pour conséquence de différencier l'environnement des deux protons H_α du benzimidazole.

Enfin, l'examen du signal associé aux protons méthyléniques portés par l'atome de carbone en alpha du groupement benzimidazole (entre 4,5 et 4,0 ppm Figure IV-8) montre l'existence de deux doublets dédoublés dans les proportions 80:20. Ceci signifie que le complexe existe sous forme de deux stéréoisomères en solution. En se référant aux travaux de Sadler[9a] et à ce qui a été déjà dit pour [Zn**L**^{3}H]$^{2+}$, ces deux stéréoisomères sont probablement de type V (majoritaire, Δδ = 0,38 ppm) et de type III (minoritaire, Δδ = 0,15 ppm).

2. Etude de la stabilité thermodynamique des systèmes {Zn(II) – L^3H} et {Cd(II) – L^3H}

2 .1 Dosage potentiométrique des complexes de Zn(II) et de Cd(II) de $\mathbf{L^3}$H

La cinétique de formation des complexes de zinc(II) avec le cyclam est connue pour être plus lente qu'avec le cyclen. [14] Afin de s'affranchir de la cinétique de formation des complexes en milieu acide, la méthode des « batch » a été à nouveau utilisée pour déterminer les constantes de stabilité des complexes $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$. Un mode opératoire similaire à celui utilisé pour la détermination de la stabilité des complexes de zinc(II) et de cadmium(II) avec $\mathbf{L^1}$H, a été mis en œuvre. Des exemples des courbes de titrages expérimentales, obtenues pour des pH compris entre 2,5 et 6.5 par la technique des « batch » et par titrage en continu du complexe pour des pH supérieurs à 6,5, sont présentés dans la Figure IV-9.

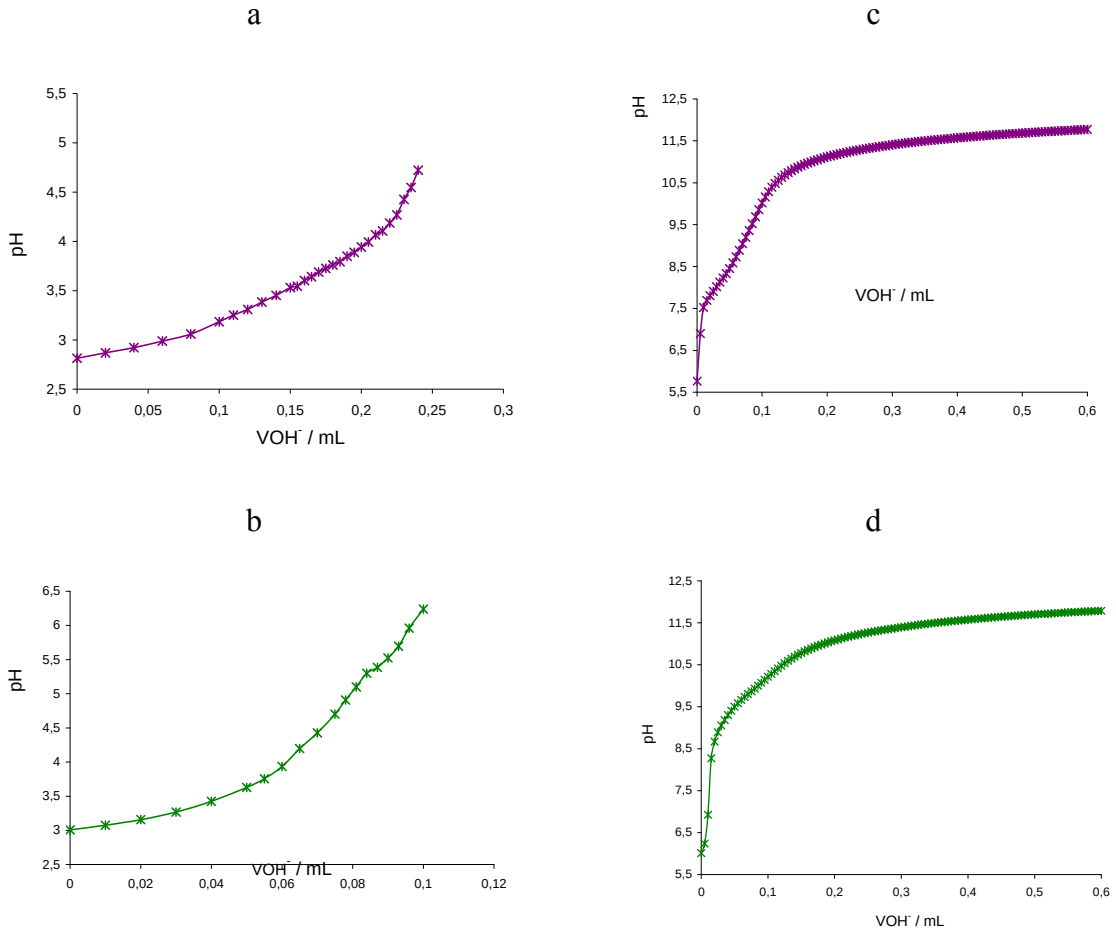


Figure IV-9 *: Titrages potentiométriques a) méthode des « batch » pour le système {Zn(II)-$\mathbf{L^3}$H}, b) méthode des « batch » pour le système {Cd(II)-$\mathbf{L^3}$H}, R = 1,3, c = 2.10^{-3} mol.L^{-1} ; Titrage continu du complexe c) $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et d) $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$, c = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, T = 25°C, I = 1 (KNO_3)*

2 .2 Stabilité thermodynamique des complexes Zn(II) et Cd(II) de $\mathbf{L^3}$H

La combinaison entre les deux méthodes de titrage a permis, à l'aide du logiciel PROTAF, de déterminer les constantes de stabilité et les constantes de déprotonation des complexes $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$. Les résultats des calculs sont présentés dans le Tableau IV-3 et les valeurs obtenues, comparées avec constantes globales de formation des complexes $[Zn(cyclam)]^{2+}$ et $[Cd(cyclam)]^{2+}$.

Tableau IV-3 *: Constantes globales de formation des complexes Zn/$\mathbf{L^3}$H et Cd /$\mathbf{L^3}$H, [$\mathbf{L^3}$H] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, [complexe] = 2.10^{-3} mol.L^{-1}, T = 25°C, I = 1 (KNO_3)*

Equilibre	Zn-$\mathbf{L^3}$H	Cd-$\mathbf{L^3}$H	Zn-cyclam	Cd-cyclam
	log β_{mlh} [a]		log β_{mlh}	
$M+\mathbf{L}+H^+ \rightleftharpoons M\mathbf{L}H$	29,45 (5)	26,35 (3)		
$M+\mathbf{L} \rightleftharpoons M\mathbf{L}$	20,96 (4)	16,8 (2)	15,5[15]	11,23[16]
$M+\mathbf{L} \rightleftharpoons M\mathbf{L}(OH)+H^+$	9,11 (2)			
	log *K*			
$M+\mathbf{L}H \rightleftharpoons M\mathbf{L}H$	17,45	14,35		
$M\mathbf{L}H \rightleftharpoons M\mathbf{L}+H^+$	-8,49	-9,55	(9,8[17])	
$M\mathbf{L} \rightleftharpoons M\mathbf{L}H_{-1}+H^+$	-11,85			

a- les constantes globales de formation des complexes de cuivre de $\mathbf{L^3}$H (β_{mlh}) correspondant à l'équilibre :

$$M + \ell L + h H^+ \rightleftharpoons ML_lH_h$$

avec

$$\beta_{mlh} = \frac{[MLH_h]}{[M]\,[L]^l\,[H]^h}$$

Les constantes successives de formation des complexes de zinc(II) (log K ($Zn\mathbf{L^3}H$) = 17,45) et de cadmium(II) (log K ($Cd\mathbf{L^3}H$) = 14,35) ont été calculées à partir des constantes globales de formation de ces complexes (log β_{111}) et de la constante de protonation log K_{011} déterminée précédemment pour le ligand $\mathbf{L^3}$H (log K_{011} = 12.0). Par comparaison aux données bibliographiques, on remarque que ces constantes sont plus importantes que celles des complexes formés avec le cyclam non substitué (log $K_{Zn\text{-}cyclam}$ = 15,5 ; log $K_{Cd\text{-}cyclam}$ = 11,23). L'augmentation de cette stabilité est expliquée

par la présence d'un site de coordination supplémentaire dans $\mathbf{L^3}$H (l'azote imine du benzimidazole) par rapport au cyclam, qui permet de compléter la sphère de coordination du métal. Dans ce cas, la diminution du caractère donneur de l'atome d'azote tertiaire du macrocycle[18] est compensée par la capacité coordinante de l'atome d'azote imine du benzimidazole.

En ce qui concerne la déprotonation des complexes, deux constantes successives à log K = - 8,5 et - 11,85 ont été déterminées à partir des titrages continus pour $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ tandis qu'une seule constante à log K = - 9,55 à été mise en évidence pour son analogue $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$.

Les constantes de déprotonation log K = - 8,5 pour $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et log K = - 9,55 pour $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$ sont voisines de celles déterminées pour les complexes à cavité cyclen $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^1}H]^{2+}$ (log K_{110} = - 8,65 et log K_{110} = - 9,9). Ceci plaide en faveur de la déprotonation du groupement benzimidazole sur les complexes $[Zn\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^3}H]^{2+}$. Des mesures spectroscopiques sont néanmoins nécessaires pour valider cette hypothèse.

La deuxième constante de déprotonation (log $K_{11\text{-}1}$ = - 11,85) du complexe de zinc(II) correspond à la formation d'une espèce hydroxylée $[Zn\mathbf{L^3}OH]^{+}$ obtenue après déprotonation d'une molécule d'eau liée au métal.

Les données potentiométriques déterminées ci-dessus ont été utilisées pour tracer, à l'aide du logiciel HYSS, les courbes de distribution des complexes de Zn(II) et de Cd(II) de $\mathbf{L^3}$H (Figure IV-10).

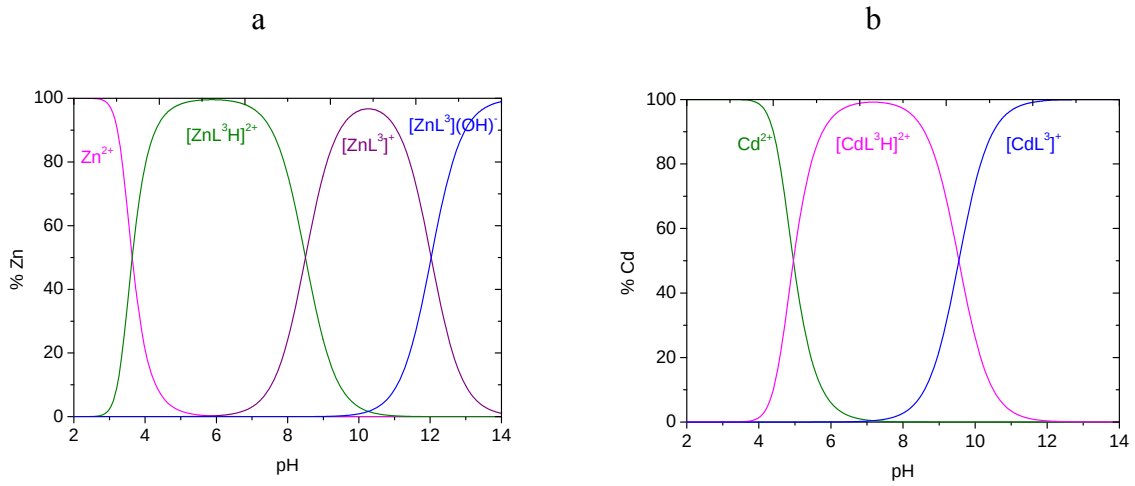


Figure IV-10 *: Courbes de distribution des complexes a) Zn(II) / $\mathbf{L^3}$H et b) Cd(II) / $\mathbf{L^3}$H en fonction du pH, ([M(II)] = [$\mathbf{L^3}$H] = 2.10^{-3} mol.L^{-1})*

La comparaison entre ces deux diagrammes de répartition montre que le complexe $[ZnL^3H]^{2+}$ commence à se former à pH plus acide que $[CdL^3H]^{2+}$ et devient l'espèce prédominante à partir de pH 4 (valeur à laquelle $[CdL^3H]^{2+}$ commence à se former).

A partir de ces résultats, le pouvoir complexant de L^3H vis-à-vis du zinc(II) et du cadmium(II) a pu être calculé et comparé à celui du cyclam vis-à-vis des mêmes cations (Figure IV-11).

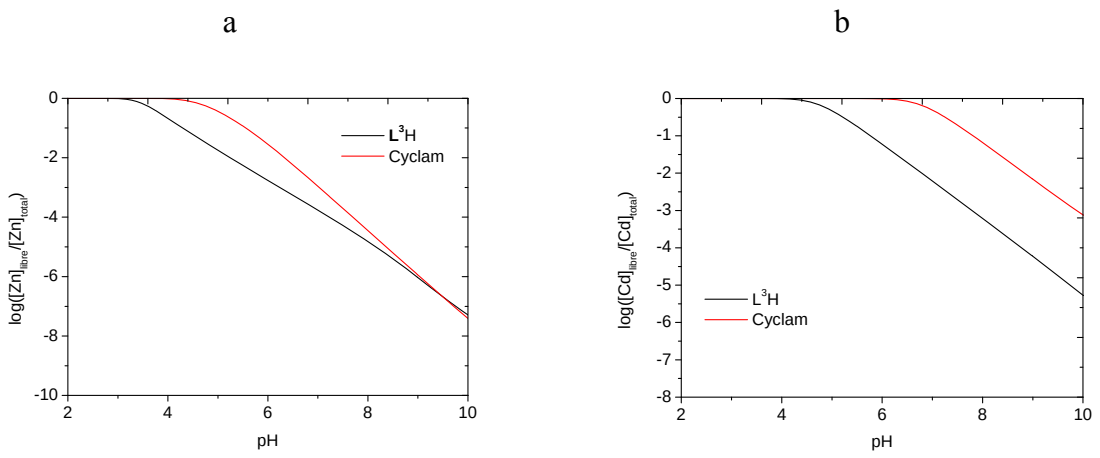


Figure IV-11 *: Comparaison du pouvoir complexant de* L^3H *et du cyclam vis-à-vis a) de Zn(II) et b) de Cd(II)*

Dans la gamme de pH étudiée, le pouvoir complexant de L^3H vis-à-vis du zinc et surtout du cadmium est supérieur à celui du cyclam, ce qui est à nouveau dû à la coordination du groupement benzimidazole.

3. Etude des propriétés acido-basiques des complexes de zinc(II) et de cadmium(II) par spectroscopie UV et par RMN ^1H

La formation et la déprotonation des complexes de Zn(II)/L^3H et Cd(II)/L^3H a été étudiée par spectroscopie UV et RMN ^1H afin de confirmer les hypothèses formulées.

3.1 Etude des propriétés acido-basiques de $[ML^3H]^{2+}$ par spectroscopie UV

Les études spectroscopiques UV en fonction du pH sont réalisées entre 240 et 400 nm. La variation du pH des solutions de complexes ($[ZnL^3H]^{2+}$ où $[CdL^3H]^{2+}$ à 3.10^{-5} mol.L^{-1}) est réalisée par ajout de NaOH (6 < pH < 12) ou de HCl (1,9 < pH < 6,1). Un exemple de titrage de complexe est présenté dans la Figure IV-12.

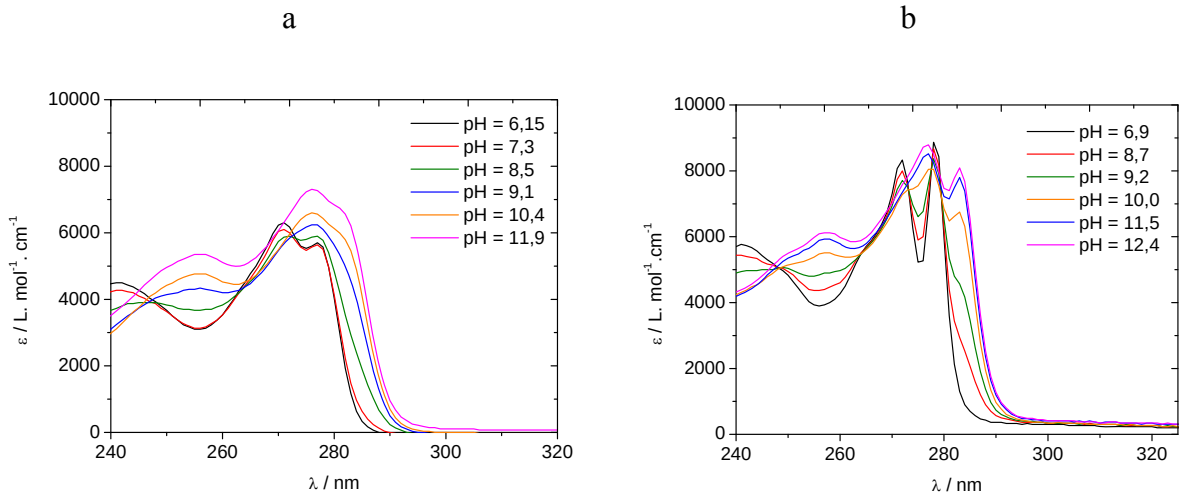


Figure IV-12 *: Titrage spectroscopique de a) $[ZnL^3H]^{2+}$ et b) $[CdL^3H]^2$ par NaOH 0,1 mol.L^{-1}, c= 3.10^{-5} mol.L^{-1}, I = 1 (NaCl), T = 25°C, ℓ = 1 cm*

En présence de métal, les bandes associées au groupement benzimidazole (λ = 273 et 280 nm) subissent un faible déplacement hypsochrome pour conduire à deux maxima d'absorption à (λ = 271 et 278 nm).

Une fois le complexe formé, l'augmentation du pH s'accompagne d'un effet bathochrome (5 nm), ainsi que de l'apparition de la bande caractéristique de la déprotonation du benzimidazole à 282 nm.[6] Le suivi de l'évolution de cette bande en fonction du pH (Figure IV-13) montre que son apparition suit la formation de l'espèce $[ML^3]^+$. Cette évolution confirme donc que les constantes, log K_{110} = - 8,65 et log K_{110} = - 9,9, déterminées par potentiométrie pour les complexes $[ZnL^3H]^{2+}$ et $[CdL^3H]^{2+}$, correspondent à une déprotonation du benzimidazole complexé.

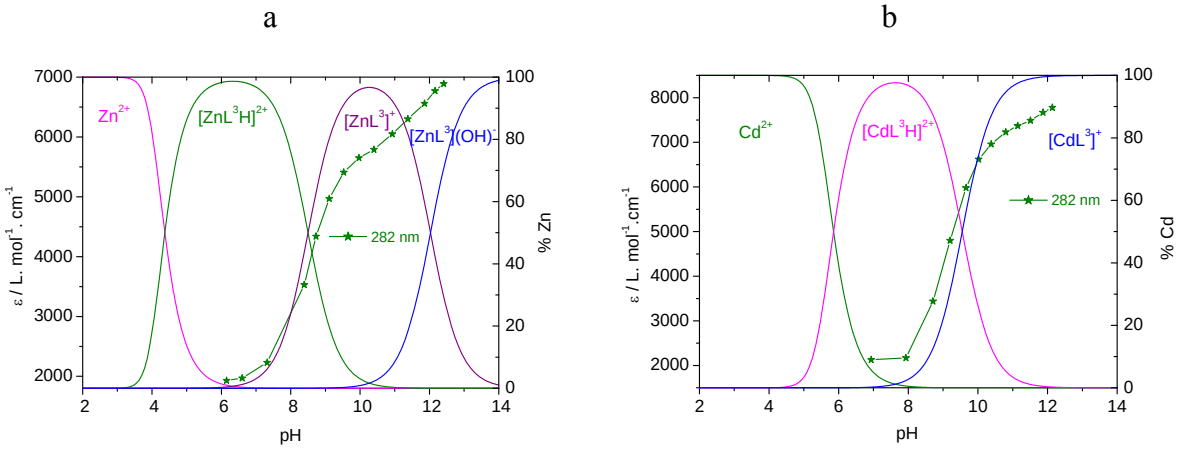


Figure IV-13 *: Evolution de ε_{282} (mol^{-1} L cm^{-1}) = f (pH) et courbes de distribution des espèces des systèmes a) {Zn(II)-L^3H} et b) {Cd(II)-L^3H}, c= 3.10^{-5} mol.L^{-1}*

La limite du domaine d'existence des complexes a été déterminée en suivant l'évolution du spectre UV des complexes en milieu acide (pH < 6) (Figure IV-14).

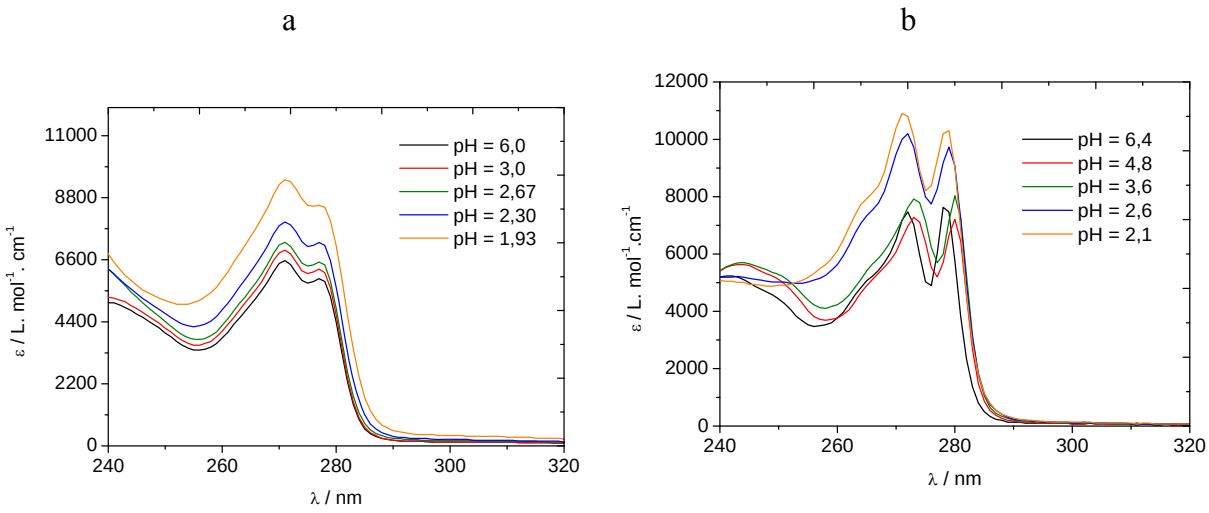


Figure IV-14 *: Evolution en milieu acide des spectres UV de a) $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et b) $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$*
$c = 3.10^{-5}$ mol.L^{-1}, I = 1 (NaCl), T = 25°C, ℓ = 1 cm

L'évolution des spectres montre que les bandes du groupement benzimidazole subissent un effet hyperchrome à fur et à mesure que le pH diminue. Pour des valeurs de pH < 3 les valeurs du coefficient d'absorption molaire ε_{273}, correspondent à celle calculée dans le ligand libre à la même valeur de pH (ε_{273} ~ 10000 cm^{-1}), ce qui permet de conclure en dessous de pH 3, à la décomplexation des complexes.

3.2 Etude des propriétés acido-basiques de $[M\mathbf{L}^3H]^{2+}$ par spectroscopie RMN ^{1}H

Le même type d'étude peut être effectué en suivant l'évolution des déplacements chimiques des protons du cycle benzimidazole, en présence de Zn(II) ou de Cd(II) et en fonction du pH.

3.2.1 Evolution du spectre RMN ^{1}H de $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$ en fonction du pH

La variation des déplacements chimiques en fonction du pH des protons aromatiques du groupement benzimidazole et celle des protons méthyléniques portés par l'atome de carbone situé en α du macrocycle et du benzimidazole sont présentées dans la Figure IV-15.

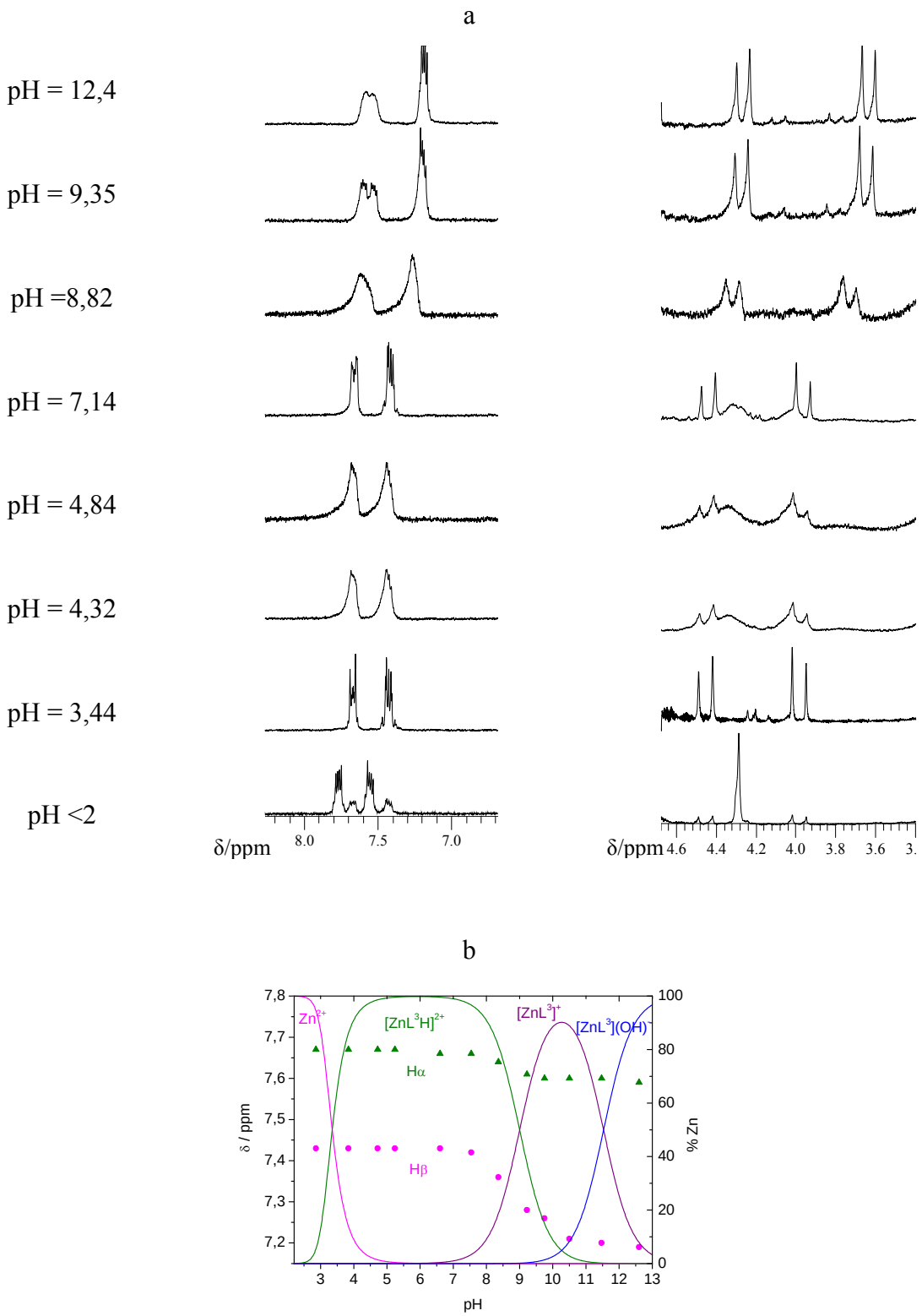


***Figure IV-15**: a) Spectre RMN ^1H du complexe $[ZnL^3H]^{2+}$ en fonction du pH b) Evolution des δ ($^1H_{aromatiques}$) et δ (cyclam-CH_2) du complexe $[ZnL^3H]^{2+}$ en fonction du pH, D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 250 MHz*

En milieu acide, deux groupes de deux signaux sont observés pour le système Zn(II)/$\mathbf{L}^3$H dont l'un, majoritaire, correspond au ligand libre (7,77 et 7,55 ppm) et l'autre minoritaire, correspond au complexe de zinc (7,67 et 7,43 ppm). A partir de pH 3, les signaux du ligand disparaissent au profit de ceux de $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$. Entre pH 4 et pH 7, aucune modification de la valeur du déplacement chimique de ces protons aromatiques n'est observée. Au-delà de pH 7,5 un faible déplacement vers les hauts champs commence à se produire pour les protons aromatiques (Figure IV-15a et b). Ce blindage, également observé sur les protons méthyléniques, est attribué à la déprotonation du groupement benzimidazole du complexe (log K = 8,49). En milieu basique, les protons H_α sont non seulement blindés mais également dédoublés. Ceci laisse supposer que la déprotonation du complexe et la formation de $[Zn\mathbf{L}^3]^+$ est accompagnée d'un changement de géométrie pour le complexe.
Enfin, le fait que les signaux des protons méthyléniques soient larges laisse supposer l'existence de plusieurs isomères configurationnels pour $[Zn\mathbf{L}^3H]^+$ en solution.

3.2.2 Evolution du spectre RMN ^{1}H de $[Cd\mathbf{L}^3H(NO_3)](NO_3)$ en fonction du pH

Le même type d'études a été réalisé sur une solution de $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ à 10^{-2} mol.L^{-1} (Figure IV-16).

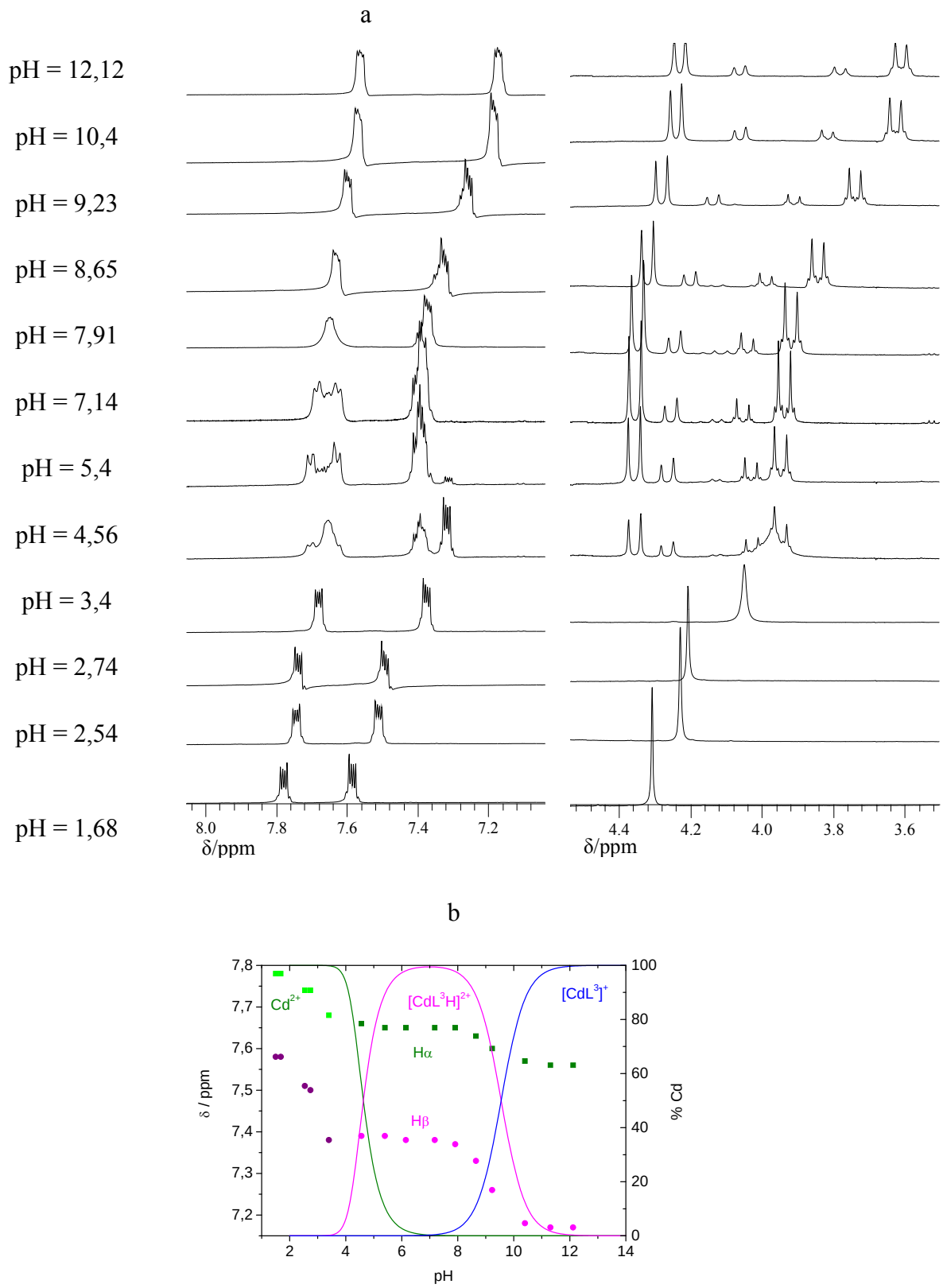


Figure IV-16 *: a) Spectre RMN ^1H du complexe $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ en fonction du pH*

b) Evolution des δ ($^1H_{aromatiques}$) du complexe $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ en fonction du pH,

D_2O, c = 10^{-2} mol.L^{-1}, 250 MHz

Les résultats présentés dans la figure précédente montrent la formation du complexe à partir de pH = 4,5 (en deçà, seuls les signaux du ligand sont observés). A partir de pH 8,5 les protons aromatiques subissent un blindage qui correspond à la formation de $[Cd\mathbf{L}^3]^+$ par déprotonation du groupement benzimidazole.

Dès la formation de $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$, deux groupes de signaux sont détectés pour les protons méthyléniques de l'atome de carbone situé en α du macrocycle et du groupement benzimidazole. A nouveau, cette observation souligne l'existence de deux isomères en solution pour $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$, le composé majoritaire étant de type V ($\Delta\delta$ = 0,38 ppm).[9,10,11]

B.2 - Complexes de cuivre(II)

1. Synthèse et caractérisation de complexe $[CuL^3H](BF_4)_2$

1.1 Synthèse du complexe de Cu(II) avec le ligand $\mathbf{L}^3$H

La synthèse du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H](BF_4)_2$ a été réalisée un mode opératoire analogue à celui suivi pour la synthèse de l'homologue cyclen $[Cu\mathbf{L}^1H](BF_4)_2$ (*cf.* page 223).

1.2. Caractérisation du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H](BF_4)_2$ par cristallographie, spectroscopies visible et RPE

Des monocristaux bleus de $[Cu\mathbf{L}^3H](BF_4)_2$ ont été obtenus par diffusion lente de diéthyléther dans une solution méthanolique du complexe.

L'analyse des monocristaux par diffraction de rayons X montre que le complexe cristallise dans un système monoclinique avec une molécule de méthanol de cristallisation (Annexe Tableau D). La maille élémentaire comprend deux unités macrocycliques (Z = 2). La structure RX du complexe est présentée dans la figure (Figure IV-17).

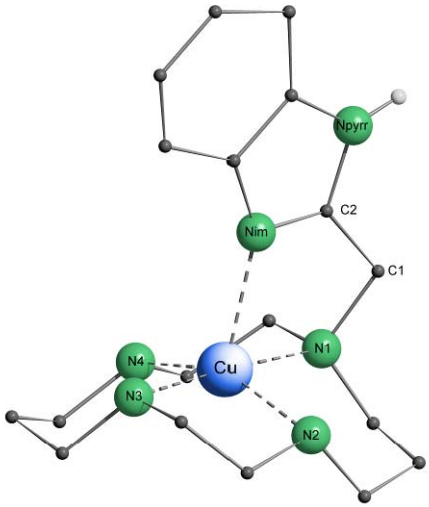


Figure IV-17 *: Structure du complexe* $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$

Les principaux paramètres géométriques sont donnés dans le Tableau IV-4.

Tableau IV-4 *: Longueurs de liaison (Å) et angles de liaison (°) principaux du complexe* $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$

$Cu-N_1$	2,073(10)	N_1-Cu-N_2	91,6(4)
$Cu-N_2$	2,041 (9)	N_1-Cu-N_3	176,5(4)
$Cu-N_3$	2,019(9)	N_1-Cu-N_4	87,1(4)
$Cu-N_4$	2,036 (8)	N_1-Cu-N_{im}	80,7(4)
$Cu-N_{im}$	2,184(10)	N_2-Cu-N_3	85,68(4)
$C2-N_{im}$	1,273(15)	N_2-Cu-N_4	153,1(4)
$C2-N_{am}$	1,399(16)	N_2-Cu-N_{im}	102,4(4)
		N_3-Cu-N_4	94,4(4)
		N_3-Cu-N_{im}	101,9(4)
		N_4-Cu-N_{im}	103,9(3)

La structure montre que l'ion cuivre(II) est pentacoordiné. La sphère de coordination du métal est constituée par les quatre atomes d'atome d'azote macrocycliques et complétée par l'azote imine du benzimidazole. Les cinq sites de coordination offrent au complexe une géométrie pyramidale à base carrée, comparable à celles des complexes $[Cu\mathbf{L}^{11}]^{2+}$[3a] et [Cu (cyclam-éthylamine)]$^{2+}$[19]. L'ion cuivre est ainsi situé au dessus du plan moyen des quatre atomes d'azote du macrocycle (d = 0,262 Å). Les liaisons $Cu-N_{secondaire}$ (2,019-2,041 Å) sont plus petites que la liaison $Cu-N_{tertiaire}$ (2,073 Å) ce qui est, comme pour les structures des complexes précédentes, une conséquence de la substitution d'un des quatre atomes

d'azote macrocyclique.[20] La structure cristallographique montre par ailleurs que les trois liaisons NH et la liaison NCH_2-benzimidazole du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ sont orientées du même coté du plan macrocyclique, ce qui confère au complexe une configuration de type I.

Les spectres visible du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ à l'état solide et en solution aqueuse présentent, entre 400 et 900 nm, des larges bandes d'absorption.

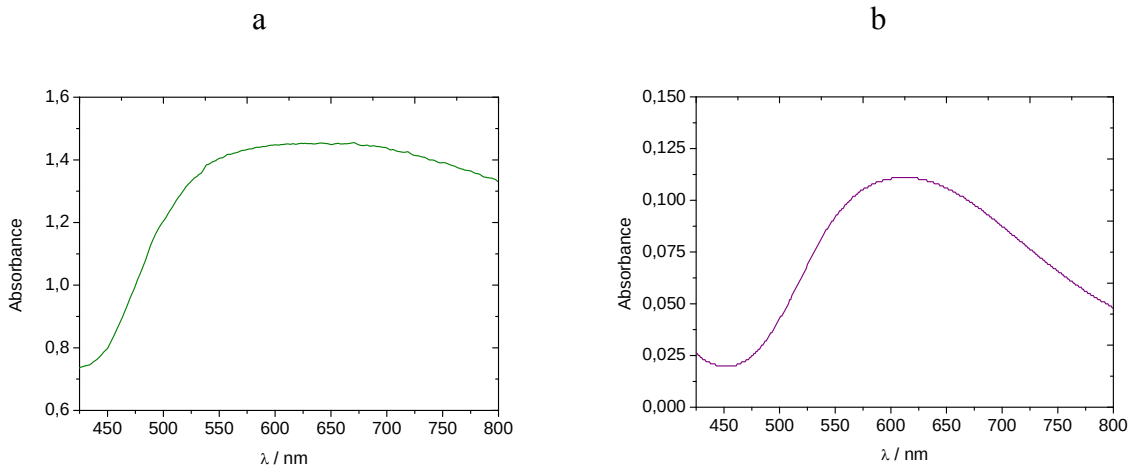


Figure IV-18 *: Spectre visible du complexe* $[Cu\mathbf{L}^3H](BF_4)_2$,
a) à l'état solide, b) dans l'eau, $c = 10^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$, $\ell = 1$ *cm, T = 25°C*

Le spectre visible du complexe à l'état solide est peu défini (spectre large entre 590 et 660 nm) et en solution, il présente une bande large dont le maximum d'absorption est centré à 618 nm (Figure IV-18). Dans les deux cas, les spectres sont caractéristiques d'un cuivre pentacoordiné de chromophore $Cu\text{-}N_5$.[21,22] La similitude des spectres obtenus pour ce complexe à l'état solide et en solution permet de conclure que la géométrie autour du métal est conservée au cours du passage en solution avec en particulier, le maintien de la coordination de l'azote imine du benzimidazole au cuivre.

Afin de compléter l'étude de la sphère de coordination du cuivre dans le complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$, un spectre de résonance paramagnétique électronique a été enregistré en solution dans l'eau à 180 K en bande X. Le spectre expérimental et son spectre simulé sont présentés dans la Figure IV-19, les paramètres RPE sont regroupés dans le Tableau IV-5.

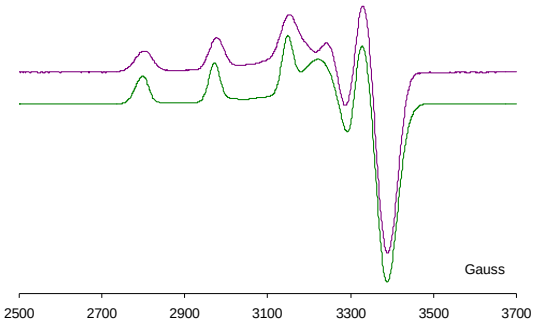


Figure IV-19 : *Spectre RPE du complexe [Cu**L**^{3}H] dans l'eau à 180 K (violet : spectre expérimental, vert : spectre obtenu par la simulation).*

Tableau IV-5*: Paramètres RPE du complexe [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$ dans l'eau à 180 K*

	$g_{//}$	$g_{\perp}$	$A_{//}$(10^{-4} cm^{-1})	$A_{\perp}$ (10^{-4} cm^{-1})	G^a
[Cu**L**^{3}H]$^{2+}$	2,197^b	2,041^b	177,0^b	24,8^b	4,37^b
[Cu**L**^{11}]$^{2+}$ [3a]	2,190^c	2,045^c	177,5^c	25,5^c	4,27^b
[Cu-**cyclam**]$^{2+}$ [23]	2,168^d	2,049^d	205^d		

a- $G = \dfrac{g_{II} - 2}{g_{\perp} - 2}$*, b- H_2O (pH = 4,9),c- DMF (150K), d- H_2O (77K)*

Le spectre du complexe [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$ est caractéristique d'un complexe de cuivre d^9 ($g_{//} > g_{\perp}$ et G>4), pour lequel l'électron célibataire occupe l'orbitale d_{x2-y2}.[24]

De plus, la valeur de $A_{//}$ de [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$, plus petite que celle déterminée dans le [Cu(cyclam)]$^{2+}$, illustre une distorsion géométrique plus prononcée autour du métal dans le complexe [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$, compatible avec une géométrie pyramide à base carrée.

2. Etude de la stabilité thermodynamique des complexes de Cu(II) avec le ligand L^{3}H

2.1 Dosage de solutions Cu(II) – **L**^{3}H

La formation des complexes de Cu^{2+} avec **L**^{3}H est, comme dans le cas de **L**^{1}H, très lente en milieu acide (pH 2). Pour cette raison, le protocole expérimental suivi dans le chapitre II a été adopté pour déterminer les constantes globales de formation des complexes de Cu(II) de **L**^{3}H. Les études potentiométriques ont été réalisées 25,0°C en milieu HNO_3 par ajout de potasse (0,1 mol.L^{-1}), pour des solutions de ligand de concentration 1, 92.10^{-3} mol.L^{-1}

et des mélanges $\mathbf{L^3}$H -Cu$(NO_3)_2$ dans lesquels les rapports R = [*Ligand*] / [*Métal*] sont égaux respectivement à 1,2; 1,5; 1,8 et 2,2. La force ionique des différents milieux est I = 1 KNO_3.

Les courbes de neutralisation correspondant à ces titrages sont présentées à la Figure IV-20. Ces courbes ont été comparées à celle du dosage du ligand $\mathbf{L^3}$H effectué dans les mêmes conditions.

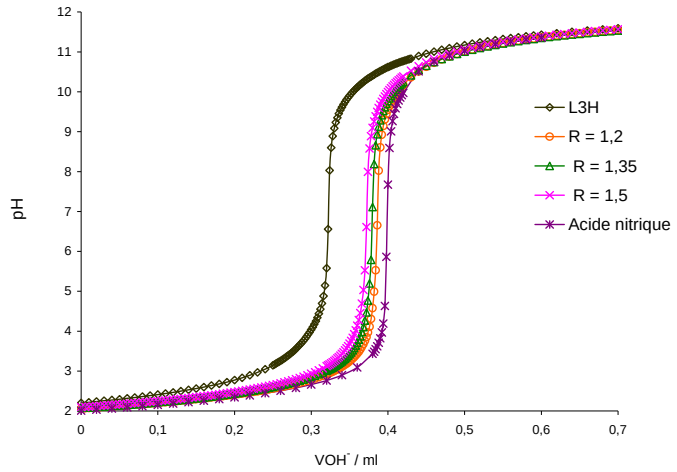


Figure IV-20 *: Courbes de neutralisation de solutions de* $\mathbf{L^3}$ *H- Cu(II),* $[\mathbf{L^3}H] = 1{,}925.10^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$ $[HNO_3] = 10^{-2}$ *mol.L*$^{-1}$*,* $I = 1(KNO_3)$ *à 25°C*

L'analyse des courbes de dosage des solutions $\mathbf{L^3}$H-Cu(II) est similaire à celle effectuée précédemment pour les solutions $\mathbf{L^1}$H-Cu(II) (*cf.* Chapitre 2). Au début du dosage, les courbes de neutralisation des solutions $\mathbf{L^3}$H-Cu(II) présentent une diminution de pH par rapport à celle du ligand seul. Cette diminution du pH est due à la libération de protons lors de la complexation.

D'après la Figure IV-20, on remarque que les volumes équivalents varient selon la valeur du rapport R = [*L*]/[*M*] (le volume équivalent augmente lorsque R diminue). La différence entre le volume équivalent de la courbe de neutralisation du ligand seul et celui d'une solution de $\mathbf{L^3}$H-Cu(II) correspond au volume de base nécessaire pour neutraliser le nombre supplémentaire de protons libérés par la complexation.

Pour tous les rapports étudiés, le tracé des courbes des dérivées des courbes de neutralisation précédentes met en évidence la présence d'un seul point d'équivalence à pH = 7(Figure IV-21).

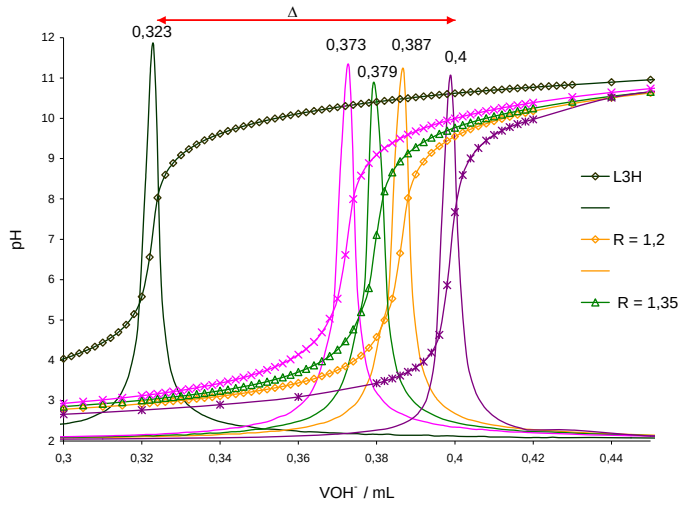


Figure IV-21 : *Courbes de neutralisation des différents rapports et ses courbes dérivées*
*[KOH]= 0,1 mol.L^{-1} ; [**L**^{3}H] = 1,9.10^{-3} mol.L^{-1}, [HNO$_3$] = 10^{-2} mol.L^{-1} I = 1(KNO$_3$) à 25°C*

Si l'on considère qu'à l'équivalence seule l'espèce [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$ se forme en solution, le bilan de matière pour un rapport R = [L]/[M] donné est :

	Cu^{2+}	+	$[\mathbf{L}^3H_3]^{2+}$	→	$[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$	+	$2\ H^+$
$n_{initial}$(mol)	1/R		1				
n_{final}(mol)			(1-1/R)		1/R		2/R

Les bilans de matière pour chaque rapport R = [L]/[M] étudié sont alors :

		Cu^{2+}	+	$[\mathbf{L}^3H_3]^{2+}$	→	$[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$	+	$2\ H^+$	$V_{théorique}$
$n_{initial}$(mol)	R = 1,2	0,833		1					
	R = 1,35	0,74		1					
	R = 1,5	0,666		1					
n_{final}(mol)	R = 1,2			0,166		0,833		1,66	0,387
	R = 1,35			0,26		0,74		1,48	0,380
	R = 1,5			0,333		0,666		1,33	0,374

Les valeurs expérimentales du volume équivalent déterminées pour chaque rapport R (Figure IV-22) sont légèrement inférieures à celles déterminées théoriquement. La proximité de ces valeurs permet de néanmoins valider l'hypothèse de complexation formulée pour le système **L**^{3}H-Cu(II), à savoir la formation à l'équivalence de l'espèce [Cu**L**^{3}H]$^{2+}$.

2.2 Stabilité thermodynamique des complexes de Cu(II) de $\mathbf{L^3}$H

Les résultats de huit titrages potentiométriques calculés à l'aide du logiciel PROTAF ont permis de déterminer les constantes globales de formation des complexes de cuivre de $\mathbf{L^3}$H (β_{mlh}) correspondant à l'équilibre :

$$Cu + \ell L + h H^+ \rightleftharpoons CuL_lH_h$$

avec

$$\beta_{mlh} = \frac{[CuLH_h]}{[Cu]\,[L]^l\,[H]^h}$$

Une bonne superposition entre les courbes expérimentales et les courbes calculées a été obtenue grâce à la prise en compte des espèces $[Cu\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L^3}]^+$ Figure IV-23.

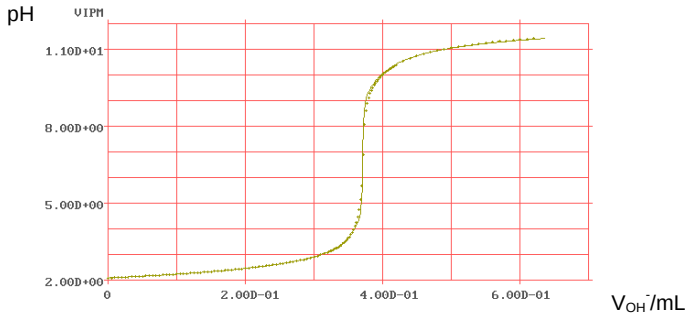


Figure IV-23 *: Courbes de neutralisation expérimentale (•) et calculée (-) par PROTAF pour le système {Cu/ $\mathbf{L^3}$H}*

Les résultats obtenus sont présentés et comparés avec les données de la littérature dans le Tableau IV-6.

Tableau IV-6 *: Constantes globales de formation des complexes $[Cu\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L^3}]^+$, T = 25°C, I = 1 (KNO_3)*

Equilibre	$\mathbf{L^3}$H	$\mathbf{L^{11}}$	**cyclam**
	log β_{mlh}	log β_{mlh}	log β_{mlh}
$Cu+\mathbf{L}+H^+ \rightleftharpoons Cu\mathbf{L}H$	35,4 (1)		
$Cu+\mathbf{L} \rightleftharpoons Cu\mathbf{L}$	25,2 (1)	23,0 [3a]	26,5 [16,25]
	log K^a		
$Cu+\mathbf{L}H \rightleftharpoons Cu\mathbf{L}H$	23,4		
$Cu\mathbf{L}H \rightleftharpoons Cu\mathbf{L}+H^+$	-10,2		

a- La constante de déprotonation du complexe $[Cu\mathbf{L^3}H]^{2+}$ (K_{110}) correspond à l'équilibre :

$$CuL^3H \rightleftharpoons CuL^3 + H$$

avec

$$K_{110} = \frac{[CuL^3][H^+]}{[CuL^3H]}$$

La constante successive de formation du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$, $K_{111,}$ est calculée, comme dans le cas des complexes précédents, à partir de la constante globale de formation du complexe de cuivre (log β_{111}) et de la constante de déprotonation de $\mathbf{L}^3H$ (log K_{011} = 12). Sa valeur (log K_{111} = 23,4), montre que le complexe est thermodynamiquement très stable. Sa stabilité, comprise entre la constante de formation de $[Cu\mathbf{L}^{11}]^{2+}$ et celle du $[Cu(cyclam)]^{2+}$, est comparable à celle du complexe $[Cu(cyclam\text{-}éthylamine)]^{2+}$ (log K_{110} = 25,66)[19] dans lequel une amine primaire complète la sphère de coordination du métal pour conduire un complexe pentacoordiné (Schéma IV-4).

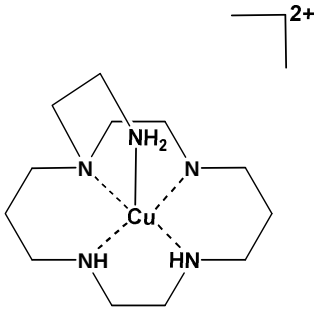


Schéma IV-4 *: Structure du complexe [Cu(cyclam-éthylamine)]$^{2+}$*

La diminution de la stabilité du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ par rapport à celle de $[Cu(cyclam)]^{2+}$ doit être rapprochée de celle déjà relevée pour le complexe $[Cu\mathbf{L}^{11}]^{2+}$.[3a] Elle est due à la diminution de la force du champ de ligand dans la sphère équatoriale, non compensée ici par la coordination axiale du benzimidazole.

Le complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ est thermodynamiquement plus stable que le complexe $[Cu\mathbf{L}^1H]^{2+}$ (log β = 21,75). Cette différence de stabilité est comparable à celle existant entre les complexes $[Cu(cyclen)]^{2+}$ et $[Cu(cyclam)]^{2+}$, [19a,26] la cavité cyclam étant réputée pour être mieux adaptée aux constraintes stéréoélectroniques du cuivre.[26]

A des pH basiques, une seule constante de déprotonation (log K_{110} = -10,2) est déterminée pour le complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$. Cette constante, proche de celle déterminée pour $[Cu\mathbf{L}^1H]^{2+}$ (log K_{110}= -9,5), correspond selon toute probabilité à la déprotonation du groupement benzimidazole sur le complexe .

Les courbes de répartition de différents complexes de cuivre pour le système $\mathbf{L}^3$H-Cu(II) tracées à partir des données potentiométriques (Figure IV-24), montrent que $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ est majoritairement formé dès le début du titrage.

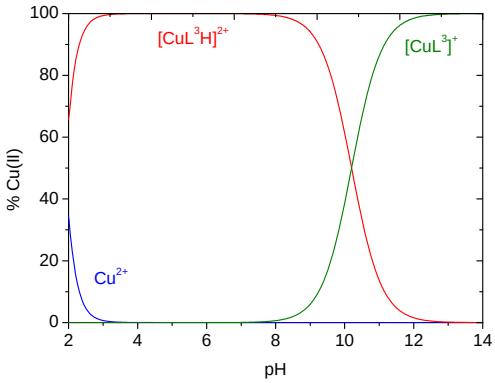


Figure IV-24 *: Courbe de distribution des complexes Cu(II) /* $\mathbf{L}^3$*H en fonction du pH,*
$[Cu(II)] = [\mathbf{L}^3H] = 2.10^{-3}\ mol.L^{-1}$.

Le pouvoir complexant en fonction du pH du ligand $\mathbf{L}^3$H vis-à-vis du cuivre a enfin été comparé à ceux de $\mathbf{L}^{11}$ et du cyclam (Figure IV-25).

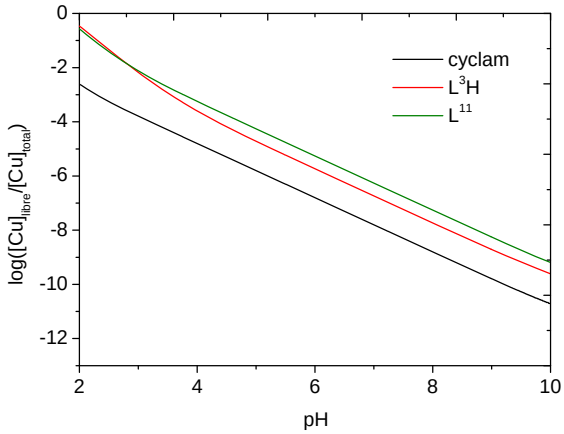


Figure IV-25 *: Pouvoir complexant de* $\mathbf{L}^3$*H,* $\mathbf{L}^{11}$ *et du cyclam vis-à-vis de Cu(II),*
$[Cu^{2+}]_{tot} = 2.10^{-3}\ mol.L^{-1}$

Le pouvoir complexant de $\mathbf{L}^3$H dépend du pH. Son évolution, présentée dans la Figure IV-25, montre que pour des valeurs de pH inférieures à 2,8, le pouvoir complexant de $\mathbf{L}^3$H est plus faible que celui des ligands analogues cyclam et $\mathbf{L}^{11}$. En revanche, au-delà de pH 2,8, un croisement au niveau des pouvoirs complexants est observé et $\mathbf{L}^3$H devient plus complexant que $\mathbf{L}^{11}$. Si on se réfère au schéma de protonation de $\mathbf{L}^3$H, en prenant en compte que la complexation du ligand est en compétition avec sa déprotonation, il est possible

d'expliquer l'amélioration du pouvoir complexant de $\mathbf{L^3}$H, par la déprotonation de l'atome d'azote imine du benzimidazole, qui devient coordinant vis-à-vis du métal.

3. Etudes spectroscopiques des complexes de Cu^{2+} avec L^3H

3.1 Etude spectroscopique UV-visible du complexe $[Cu\mathbf{L^3}H]^{2+}$ en fonction du pH

Les études spectroscopiques en fonction du pH ont été réalisées selon le mode opératoire utilisé dans le Chapitre II. Les concentrations des solutions de complexe sont à 3.10^{-5} mol.L^{-1} (étude dans l'UV) et 10^{-3} mol.L^{-1} (étude dans le visible). Toutes les solutions ont été préparées avec une force ionique I = 1 en NaCl. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure IV-26.

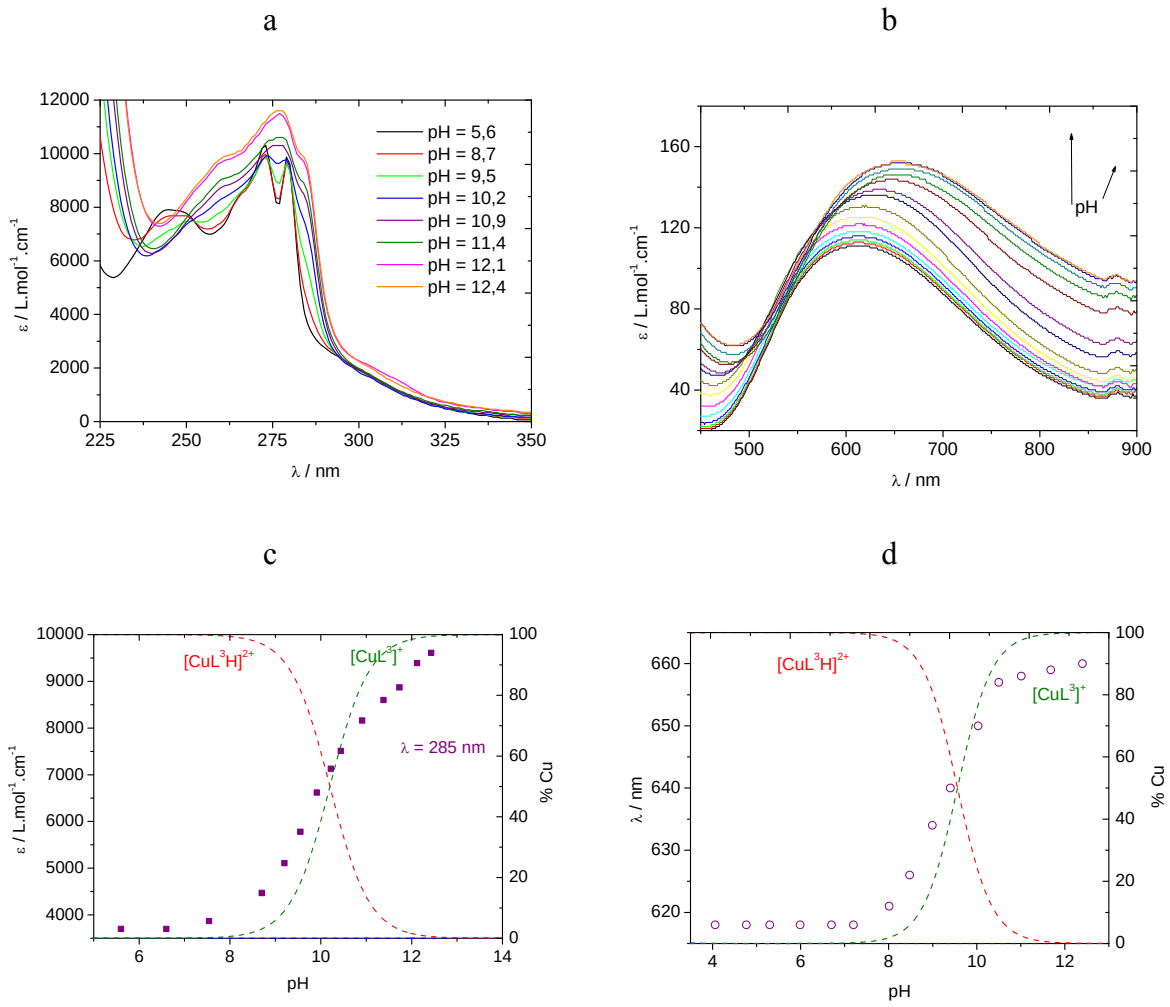


Figure IV-26 *: Titrage spectroscopique de [Cu**L**^{3}H] en a) UV (c=3.10^{-5} mol.L^{-1}) b) visible (c = 10^{-3} mol.L^{-1}). Courbes de distribution des espèces et évolution de c) λ (285 nm) = f(pH) et d) λ = f(pH), I = 1(NaCl), T = 25°C, ℓ = 1 cm*

La variation du signal d'absorption du benzimidazole en fonction du pH présentée dans la Figure IV-26a, montre qu'au fur et à mesure que le pH augmente, les deux bandes à 273 et 280 nm disparaissent pour laisser place à deux bandes à 277 nm et 285 nm. L'évolution hyperchrome de la bande à 285 nm en fonction du pH suit la formation de l'espèce $[Cu\mathbf{L}^3]^+$ avec un point d'inflexion à pH = 10,1(Figure IV-26c). Par conséquent, comme cela l'a été proposé dans des conditions analogues pour les autres complexes formés avec $\mathbf{L}^3H$, la constante de déprotonation log K_{110} = 10,2 déterminée par potentiométrie, est attribuée à la déprotonation du groupement benzimidazole.

Le Tableau IV-7 regroupe, à titre de comparaison, les logarithmes des constantes de déprotonation de la fonction pyrrole du groupement benzimidazole dans les différents complexes formés avec $\mathbf{L}^3H$.

Tableau IV-7 *: Logarithmes des constantes de déprotonation des complexes de Zn(II), Cd(II) et Cu(II) formés avec* $\boldsymbol{L}^3H$

$Zn\mathbf{L}^3H \rightleftharpoons Zn\mathbf{L}^3+H^+$	$Cu\mathbf{L}^3H \rightleftharpoons Cu\mathbf{L}^3+H^+$	$Cd\mathbf{L}^3H \rightleftharpoons Cd\mathbf{L}^3+H^+$
8,49	10,2	9,55

En visible (Figure IV-26b), la bande associée à la transition d-d du cuivre n'évolue pas en longueur d'onde jusqu'à pH 8 (λ = 618 nm). Au-delà de cette valeur, la bande subit un effet hyperchrome et bathochrome ($\Delta\lambda$ = 40 nm). La superposition de l'évolution de l'intensité de cette bande en fonction du pH et du diagramme d'existence des espèces issues du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$, montre que les effets hyperchrome et bathochrome observés sont corrélés à la formation de l'espèce $[Cu\mathbf{L}^3]^+$. Cette évolution, doit de plus être mise en parallèle avec l'augmentation d'intensité relevée au paragraphe précédent pour la bande à 285 nm. Ce résultat conforte donc une fois de plus la déprotonation de l'atome d'azote imine du groupement benzimidazole sur le complexe.

En milieu acide, l'évolution de la sphère de coordination du cuivre dans le complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ a été suivie par ajout de quantités croissantes d'acide perchlorique. (Figure IV-27).

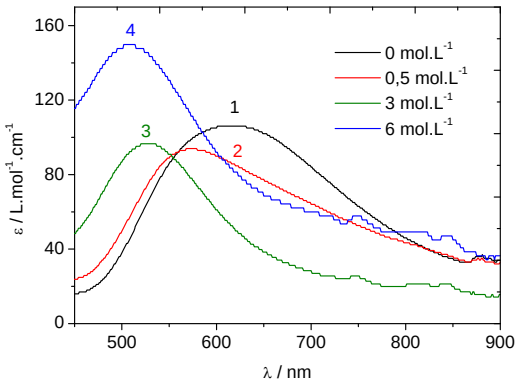


Figure IV-27 *: Variation du spectre d'absorption de* $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ *en présence d'acide* ($HClO_4$), $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+} = 10^{-3}$ *mol.L*$^{-1}$

Lorsque le pH décroit, le maximum d'absorption de la bande d-d subit un déplacement vers les faibles longueurs d'onde, accompagné par un effet hyperchrome pour conduire à un signal dont le maximum d'absorption est situé à 511 nm. Cette bande, caractéristique d'un cuivre(II) de géométrie plan carrée,[3a,21,23,27] correspond à un complexe dans lequel l'atome d'azote imine du groupement benzimidazole protoné, n'est plus coordinant vis-à-vis du métal.

3.2 Etude spectroscopique RPE du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ en fonction du pH

Les spectres RPE du complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ ont été enregistrés à deux valeurs de pH, avant et après déprotonation. Les résultats obtenus après simulation des spectres par le programme XSophe[28] sont regroupés dans le Tableau IV-8.

Tableau IV-8 *: Paramètres RPE du complexe* $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ *en fonction du pH en milieu* (H_2O/*glycérol*), *à 180 K*

	pH	$g_{//}$	$A_{//}$ (10^{-4} cm^{-1})	$g_{\perp}$	$A_{\perp}$ (10^{-4} cm^{-1})
Cu^{2+} / $\mathbf{L}^3H$	4,9	2,197	177,0	2,041	24,8
	11,2	2,201	167,5	2,048	34,6

La principale évolution observée pour les paramètres électroniques de $[Cu(\mathbf{L}^3H)]^{2+}$ consiste en une diminution de la valeur de $A_{//}$ en milieu basique. Ceci suggère une évolution de la géométrie du complexe d'une pyramide à base carrée vers une géométrie octaédrique.[29]

C- DOSAGE DE Zn^{2+}, Cu^{2+} ET Cd^{2+} PAR LE LIGAND L^3H PAR SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE ET SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE

Les études précédentes ont montré que le ligand **L**^{3}H est un bon complexant des ions Zn^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}. Afin de comparer la sensibilité de **L**^{3}H à celle de **L**^{1}H vis-à-vis de ces cations, leur dosage a été entrepris par spectroscopie UV-visible et par spectroscopie de fluorescence.

1. Dosage de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par L^3H en spectroscopie UV-Visible

1.1 Dosage de Zn^{2+} et Cd^{2+} par **L**^{3}H en spectroscopie UV

L'analyse des spectres UV des systèmes {Zn(II)-**L**^{3}H} et {Cd(II)-**L**^{3}H} effectuée dans les paragraphes précédents indique un changement net des spectres à partir de pH = 9, ce changement se manifestant par l'apparition d'une nouvelle bande d'intensité croissante à λ = 282 nm. Comme dans les systèmes impliquant le ligand **L**^{1}H (Chapitre 2), cette nouvelle bande, attachée à la formation d'un benzimidazolate, est donc un bon indicateur pour mettre au point un dosage des cations choisis par spectroscopie UV. Pour cela, la réponse du ligand **L**^{3}H, en solution dans le tampon CAPS (pH = 10,4), en présence de quantités croissantes de Zn^{2+} et Cd^{2+} a été analysée (Figure IV-28).

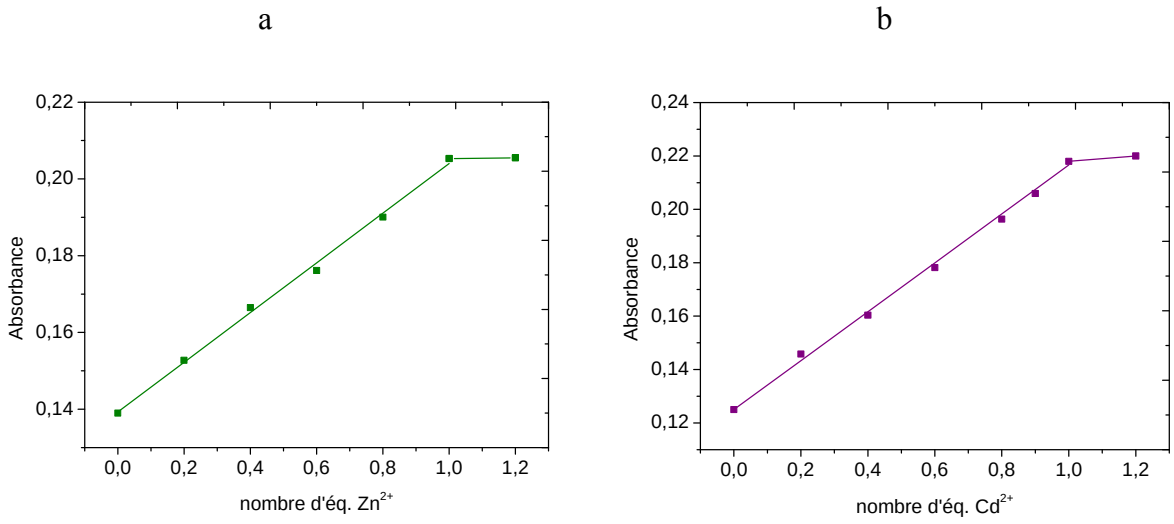


Figure IV-28 *: Titrage de* ***L***^{3}*H (3.10*$^{-5}$ *mol.L*$^{-1}$*) à λ = 283 nm en présence de quantités croissantes de a) Zn^{2+}, b) Cd^{2+} à pH = 10,4 (tampon CAPS), I = 1 (NaCl), T = 25°C*

Les résultats précédents montrent que l'évolution de la bande λ = 283 nm en fonction des ajouts d'ions M^{2+}, est linéaire et proportionnelle à la concentration en métal. Au-delà d'un équivalent de cation ajouté l'absorbance est stabilisée. Ces résultats sont compatibles avec la formation d'un complexe M : $\mathbf{L^3}H$ (M = Zn^{2+} ou Cd^{2+}) de stœchiométrie 1 :1. Cette linéarité montre que $\mathbf{L^3}H$ a la possibilité de détecter les cations Zn^{2+} et Cd^{2+} en spectroscopie UV dans la gamme de concentration 3.10^{-6} mol.L^{-1} (0,1éq.) - 310^{-5} mol.L^{-1} (1 éq.).

1.2 Dosage de Cu^{2+} par L^3H par spectroscopie visible

La variation de la réponse spectroscopique dans le visible du ligand $\mathbf{L^3}H$ a été également suivie, en présence de quantités croissantes de Cu^{2+}. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure IV-29.

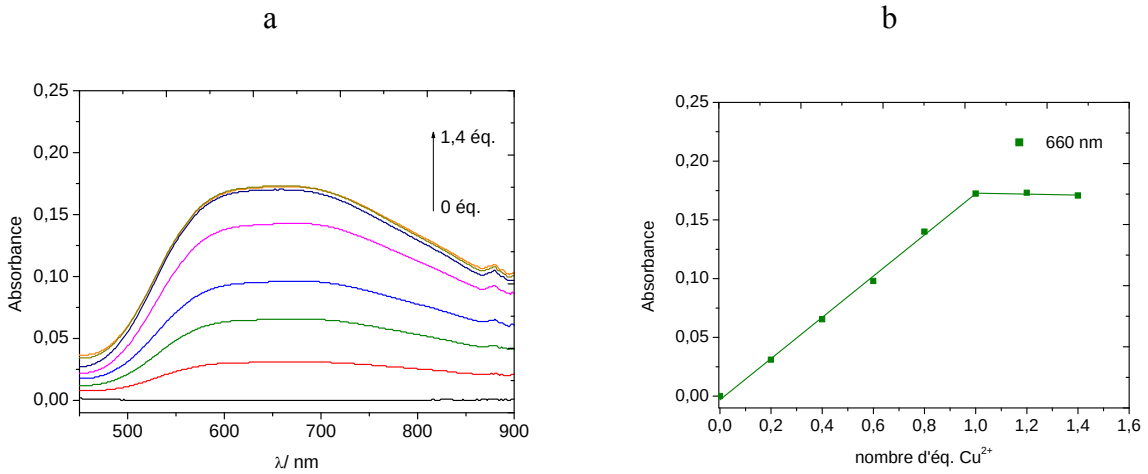


Figure IV-29 *: a) Titrage spectroscopique dans le visible du ligand* $\mathbf{L^3}H$ *par* Cu^{2+}*,*
b) variation de λ = 660 nm en fonction de Cu^{2+}*,*
[$\mathbf{L^3}H$*] =*10^{-3} *mol.*L^{-1}*, pH = 10,4 (tampon CAPS), I = 1 (NaCl), T = 25°C, ℓ = 1 cm*

Les résultats précédents montrent que l'évolution de la bande λ = 660 nm en fonction de la concentration de cuivre, est linéaire et proportionnelle à la concentration en métal. Au-delà d'un équivalent de cation ajouté l'absorbance est stabilisée. Ces résultats sont compatibles avec la formation d'un complexe Cu : $\mathbf{L^3}H$ de stœchiométrie 1 :1. Cette linéarité montre que $\mathbf{L^3}H$ a la possibilité de détecter les cations Zn^{2+} et Cd^{2} en spectroscopie UV dans la gamme de concentration.

2. Dosage de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} par L^3H en spectroscopie de fluorescence

Afin d'évaluer de comparer la sensibilité de **L**^{3}H à celle de **L**^{1}H en fluorescence, vis-à-vis de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} et donc de juger de l'effet de la taille de la cavité macrocyclique sur l'efficacité de la sonde, des études fluorimétriques analogues à celles réalisées avec le ligand **L**^{1}H ont été effectuées en fonction du pH et en fonction de la concentration en métal.

2.1 Etude du comportement fluorescent de **L**^{3}H en fonction du pH

Les études fluorimétriques de **L**^{3}H en fonction du pH ont été réalisées en faisant varier le pH d'une solution de ligand (5.10^{-7} mol.L^{-1}) entre 2 et 12. Les spectres d'émission enregistrés après une excitation à 270 nm sont présentés dans la Figure IV-30.

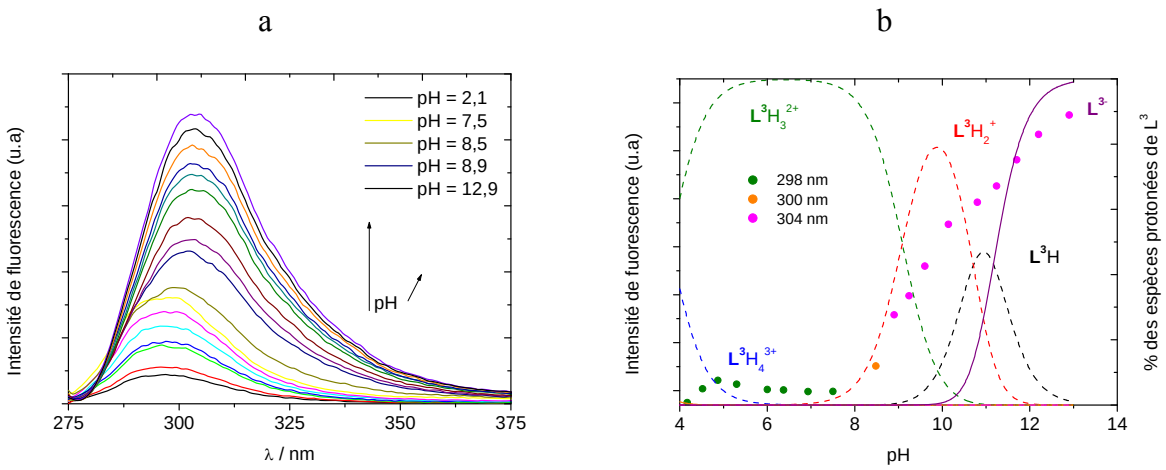


Figure IV-30 *: a) Variation de I_F (**L**^{3}H) en fonction du pH, b) Evolution de I_F à λ_{em}(max)*
*[**L**^{3}H] = 5.10^{-7} mol.L^{-1}, I = 0,1 (NaCl), T = 25°C*

En milieu acide, la fluorescence du ligand est très faible Figure IV-30. L'augmentation du pH provoque une augmentation de fluorescence accompagnée de deux effets bathochromes successifs pour la bande d'émission de 2 et 4 nm à pH 7,5 et 8,9 respectivement. Si l'on reporte l'évolution de l'intensité de fluorescence en fonction du pH sur le diagramme de répartition des différentes formes protonées du ligand **L**^{3}H (Figure IV-30-b), on constate que cette intensité croît selon une courbe sigmoïdale dont le point d'inflexion est situé aux environs de pH 9,7. Un accroissement supplémentaire de l'intensité est observé au-delà de pH 11. Ces données indiquent que pour **L**^{3}H, la protonation du ligand s'accompagne d'une

extinction de fluorescence. Ce comportement est analogue à celui du ligand **L**^{1}H (*cf.* Chapitre II p118). Ainsi pour **L**^{3}H, les modifications conformationnelles du ligand induites par sa déprotonation se traduisent par une évolution des positions énergétiques relatives des orbitales moléculaires localisées sur le fragment benzimidazole d'une part, et sur le doublet de l'atome d'azote tertiaire du macrocycle d'autre part. En milieu acide, l'énergie du doublet de l'atome d'azote tertiaire est plus élevé que l'énergie du premier niveau occupé du benzimidazole : un transfert d'électron photoinduit intervient avec comme conséquence une extinction de la fluorescence de la sonde. L'augmentation du pH, et donc la déprotonation progressive de **L**^{3}H, s'accompagne d'une inversion relative des niveaux énergétiques des orbitales localisées sur le benzimidazole et sur l'atome d'azote tertiaire : le transfert d'électron photoinduit ne peut plus se produire et la fluorescence de la sonde benzimidazole s'exprime.

2.2 Comportement fluorimétrique de **L**^{3}H en présence de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+}

a- Etude préliminaire – Fluorescence des complexes $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$, $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ en fonction du pH

En préalable à l'élaboration d'un test de dosage par fluorescence des cations Zn^{2+}, Cd^{2+} et Cu^{2+} avec **L**^{3}H, un suivi en fonction du pH de la fluorescence des complexes $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$, $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$ a été réalisé (Figure IV-31).

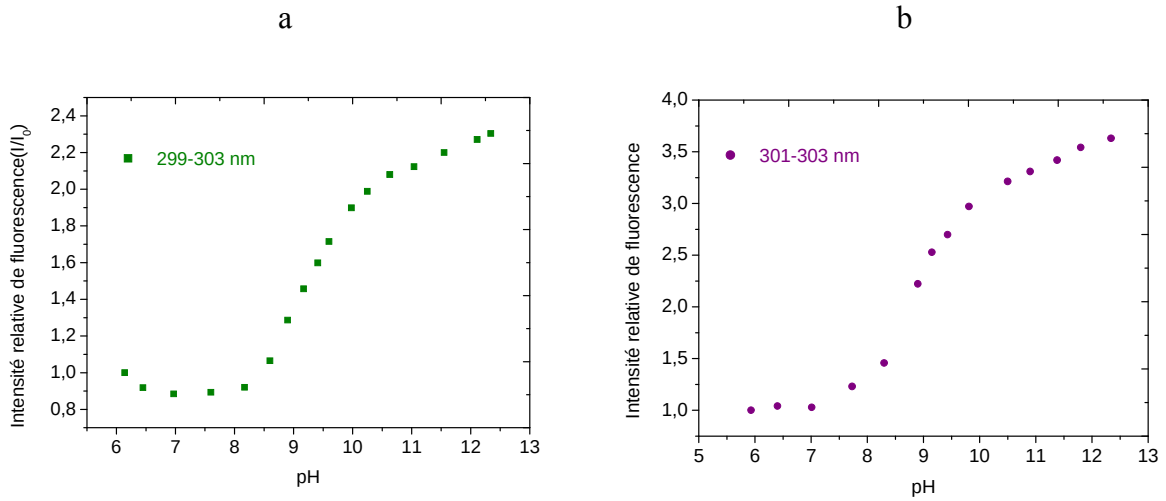


Figure IV-31 : *Variation de $I_R^a = f(pH)$ pour a) $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et b) $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$, $[M\mathbf{L}^3H]^{2+} = 5.10^{-7}$ mol.L^{-1}, I = 0,1 (NaCl), T = 25°C*

a) $I_R = I/I_0$ = Intensité de fluorescence complexe à pH_{final} / Intensité de fluorescence du complexe à $pH_{initial}$

L'intensité de fluorescence des complexes $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ augmente avec le pH de façon analogue à celle décrite pour les complexes homologues $[Zn\mathbf{L}^1H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L}^1H]^{2+}$. La déprotonation du benzimidazole dans les complexes s'accompagne donc d'une augmentation de fluorescence en milieu basique d'un facteur 2,3 pour le complexe de zinc et d'un facteur 3,6 pour le complexe de cadmium.

En ce qui concerne le complexe $[Cu\mathbf{L}^3H]^{2+}$, quel que soit le pH, le complexe n'est pas fluorescent. Ce comportement est analogue à celui décrit pour le complexe $[Cu\mathbf{L}^1H]^{2+}$ conformément aux propriétés photophysiques du cuivre.[30]

b- Variation de la fluorescence de $\mathbf{L}^3H$ en présence de Zn^{2+} et Cd^{2+}

La réponse fluorimétrique du ligand $\mathbf{L}^3H$ a été étudiée en fonction de la concentration en cation métallique. Afin de comparer cette réponse avec celle du ligand $\mathbf{L}^1H$, cette étude a été réalisée dans les mêmes conditions que celles utilisées pour $\mathbf{L}^1H$ c'est-à-dire dans le tampon CAPS (pH 10,4). Pour cette valeur de pH, les intensités relatives de fluorescence de $\mathbf{L}^3H$, $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ sont reportées dans le Tableau IV-9 (celle du ligand $\mathbf{L}^3H$ constituant la référence).

Tableau IV-9 *: Intensités relatives de fluorescence à pH 10,4 de $\mathbf{L}^3H$, $[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$*

	$\mathbf{L}^3H$	$[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$	$[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$
I_R	1	1,4	0,9

Cette comparaison montre qu'à pH 10,4, l'intensité de fluorescence du complexe $[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$ n'est pas significativement différente de celle du ligand seul. Dans ces conditions, l'ajout de quantités croissantes de cadmium sur le ligand $\mathbf{L}^3H$ n'a provoqué aucune variation de la réponse de $\mathbf{L}^3H$.

En revanche, l'émission de fluorescence du ligand $\mathbf{L}^3H$ augmente linéairement avec l'augmentation de la teneur en zinc et ce, jusqu'à un équivalent de zinc (Figure IV-32).

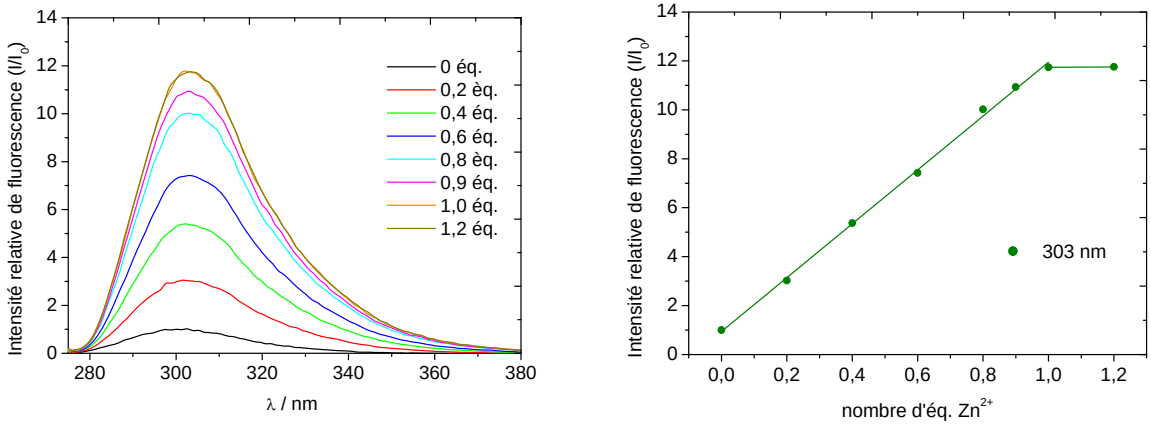


Figure IV-32 *: a)$I_F(\mathbf{L}^3H) = f\,[n_{éq}(Zn^{2+})]$, b) $I_R^a(\mathbf{L}^3H) = f\,[n_{éq}(Zn^{2+})]$ à pH 10,4*

λ_{exc} = 275 nm, λ_{em} = 303 nm, $[\mathbf{L}^3H] = 5.10^{-7}$ mol.L^{-1}, I = 0,1(NaCl), T = 25°C

[a] $I_R = I/I_0$ = Intensité de fluorescence du ligand en présence du métal/ Intensité de fluorescence du ligand seul

Le cyclam-methylbenzimidazole est donc un bon détecteur du zinc(II) dans le milieu aqueux même si ce dernier existe à des faibles concentrations.

A pH 10,4, le rendement quantique évolue d'une valeur ϕ = 0,016 à une valeur ϕ = 0,19. Il y a donc bien proportionnalité entre la concentration en zinc et l'intensité de fluorescence. Pour un équivalent de zinc ajouté, l'intensité de fluorescence est maximale, ce qui correspond à la formation d'un complexe 1 :1. Au-delà d'un équivalent de zinc ajouté, l'intensité de fluorescence reste constante. Ces résultats montrent donc que le ligand $\mathbf{L}^3$H est un bon détecteur du zinc à pH 10,4. Les limites de détection et de quantification de $\mathbf{L}^3$H dans ces conditions ont été déterminées à 4,5.10^{-9} mol.L^{-1} et 1,5.10^{-8} mol.L^{-1} respectivement.

A pH 10,4 et en présence d'un équivalent de Zn^{2+}, la fluorescence de $\mathbf{L}^3$H augmente d'un facteur douze. Dans les mêmes conditions, la fluorescence de $\mathbf{L}^1$H augmente d'un facteur trois (*cf.* Chapitre II p 124). Le transfert d'électron photoinduit est donc moins efficace dans $\mathbf{L}^3$H ce qui confère à ce ligand, des propriétés de détection meilleures que celles de $\mathbf{L}^1$H vis-à-vis de Zn^{2+}.

3. Test de sélectivité du ligand L^3H vis-à-vis des cations interférents

Afin de juger de la sélectivité de $\mathbf{L^3}$H, sa réponse fluorescente a été testée à pH 10,4 vis-à-vis d'un panel de cations potentiellement interférents (certains cations de métaux de transition, d'ions alcalins et alcalino-terreux). L'émission de fluorescence du ligand en présence d'un équivalent de cations métalliques est enregistrée après excitation à 270 nm. L'intensité de fluorescence I_0 est celle du ligand seul libre à 303 nm (Figure IV-33).

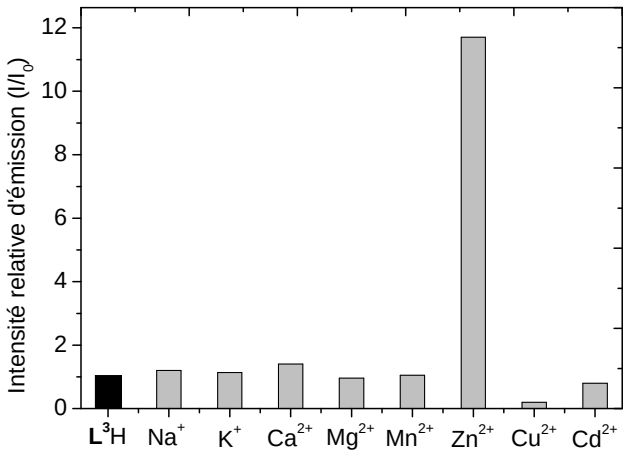


Figure IV-33 *: Intensité relative de fluorescence de* $\mathbf{L^3}H$ *à 303 nm en présence des cations métalliques, pH 10,4 (CAPS* 2.10^{-2} *mol.L*$^{-1}$*),* $[\mathbf{L^3}H] = 5.10^{-7}$ *mol.L*$^{-1}$*, I = 0,1(NaCl), T = 25°C,*

Sur ce test, la réponse de $\mathbf{L^3}$H vis-à-vis de Zn^{2+}, Cu^{2+} et Cd^{2+} est celle décrite précédemment. En présence d'alcalins et d'alcalino-terreux, la réponse de $\mathbf{L^3}$H est comparable à celle obtenue pour $\mathbf{L^1}$H dans les mêmes conditions. Ceci illustre à nouveau l'intérêt d'utiliser une cavité macrocyclique comme récepteur de cations tels que le Zn^{2+} pour des tests de dosage, l'affinité des macrocycles pour les ions alcalins et alcalino-terreux étant extrêmement faible.

D – EN CONCLUSION

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés complexantes du cyclam-méthylbenzimidazole $\mathbf{L^3}$H, l'objectif étant de mettre à profit ses capacités pour titrer le Zn^{2+} par fluorescence et de comparer son efficacité par rapport à $\mathbf{L^1}$H.

La caractérisation des complexes de Zn(II), Cu(II) et Cd(II) montre que l'azote imine du benzimidazole participe à la sphère de coordination du métal. La stabilité des complexes

déterminée par potentiométrie varie selon l'ordre $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+}$ en accord avec la série de Irving-Williams.[31] Les complexes $[M\mathbf{L^2}H]^{2+}$ se déprotonent et les mesures ont montré que la constante de déprotonation varie selon l'ordre $Zn^{2+} < Cd^{2+} < Cu^{2+}$ c'est-à-dire selon l'acidité du métal. Ces caractéristiques sont comparables à celles obtenues pour les complexes de ces métaux formés avec le ligand $\mathbf{L^1}H$.

Le ligand $\mathbf{L^3}H$ a lui aussi un comportement en fluorescence dépendant du pH, la protonation du ligand se traduisant par une extinction de fluorescence due à un processus PET.

L'évaluation du ligand $\mathbf{L^3}H$ comme sonde de cations a été réalisée dans les mêmes conditions que celles utilisées pour le ligand $\mathbf{L^1}H$ c'est-à-dire à pH 10,4. Dans ces conditions la présence de Zn^{2+} induit une augmentation significative de fluorescence du système tandis que la présence des cations compétiteurs, ne la modifie pas (Cd^{2+}) voire l'éteint (Cu^{2+}). Comme le ligand $\mathbf{L^1}H$, le cyclam-méthylbenzimidazole $\mathbf{L^3}H$ détecte sélectivement Zn^{2+} par rapport aux ions alcalins et alcalino-terreux.

La comparaison des performances respectives de $\mathbf{L^3}H$ et de $\mathbf{L^1}H$ pour le dosage de Zn^{2+} montre enfin que les propriétés de détection de $\mathbf{L^3}H$ vis-à-vis de Zn^{2+} sont meilleures que celles de $\mathbf{L^1}H$ (exaltation de la réponse du ligand d'un facteur douze pour $\mathbf{L^3}H$ et d'un facteur trois pour $\mathbf{L^1}H$ en présence de zinc).

Références bibliographiques

[1] A. Bianchi, M. Micheloni, P. Paoletti, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *110*, 17-113.

[2] a) R. Fournaise, C. Petitfaux, *Talanta* **1987**, *34*, 385-395. b) R. Fournaise, C. Petitfaux, *Analusis* **1990**, *18*, 242-249.

[3] a) S. El Ghachtouli, C. Cadiou, I. Déchamps-Olivier, F. Chuburu, M. Aplincourt, T. Roisnel, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 3472-3481. b) M. Shionoya, T. Ikeda, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3848-3859.

[4] M. Krishnamurthy, P. Phaniraj, S. K. Dogra, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1986**, 1917-1925.

[5] a) M. R. Figueroa, D. E. Gomez, C. P. Iglesias, A. De Blas, T. R. Blas, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 2198-2207. b) G. Berden, W. L. Meerts, E. Jalviste, *J. Chem. Phys.* **1995**, *103*, 9596-9606. c) J. R. Platt, *J. Chem. Phys.* **1951**, *19*, 101-118.

[6] S. K. Dogra, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2005**, *172*, 196-206.

[7] M. R. Figueroa, D. E. Gomez, C. P. Iglesias, A. De Blas, T. R. Blas, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 2198-2207.

[8] M. Kato, T. Ito, *Inorg. Chem*. **1985**, *24*, 509-514.

[9] a) S. J. Paisey, P. J. Sadler, *Chem. Comm.* **2004**, 306-307. b) W. Niu, E. H. Wong, D. C. Hill, D. J. Tranchemontagne, K. C. Lam, R. Sommer, L. N. Zakharov, A. L. Reingold, *Dalton Trans*. **2004**, 3536-3547.

[10] B. Bosnich, C. K. Poon, M. L. Tobe, *Inorg. Chem*. **1965**, *4*, 1102-1108.

[11] Y. Dong, G. A. Lawrence, L. F. Lindoy, P. Turner, *Dalton Trans.* **2003**, 1567-1576.

[12] X. Liang, J. A. Parkinson, S. Parsons, M. Weishäupl, P. J. Sadler, *Inorg. Chem*. **2002**, *41*, 4539-4547.

[13] E. Quiroz-Castro, S. Bernès, N. Barba-Behrens, R. Tapia-Benavides, R. Contreras, H. Nöth, *Polyhedron* **2000**, *19*, 1479-1484.

[14] A. P . Leugger, L. Hertli, T. A. Kaden, *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61*, 2296-2306.

[15] M. Kodama, E. Kimura. *J. Chem. Soc. Dalton Trans*. **1977**, 2269-2276.

[16] V. J. Thom, G. D. Hosken, R. D. Hancock, *Inorg. Chem*. **1985**, *24*, 3378-3381.

[17] a) M. Shionoya, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6730-6737. b) E. Kimura, T. Shiota, M. Shiro, M. Kodama, *J. Am. Chem. Soc*. **1990**, *112*, 5805-5811.

[18] a) E. K. Barefield, H. C. Freeman, D. G. V. Derveer, *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 552-558. b) D. Meyerstein, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *185-186*, 141-147.

[19] T. Kurisaki, S. Matsuo, H. Yamashige, H. Wakita, *J. Mol. Liq.* **2005**, *119*, 153-158.

[20] V. J. Thöm, C. C. Fox, J. C. A. Boeyens, R. D. Hancock, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3198-3207.

[21] B. J. Hathaway, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1972**, 1196-1199.

[22] B. J. Hathaway, A. A. G. Tomlinson, *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 1-43.

[23] K. Miyoshi, H. Tanaka, E. Kimura, S. Tsuboyama, S. Murata, H. Shimizu, K. Ishizu, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *78*, 23–30.

[24] H. Kurosaki, C. Bucher, E. Espinosa, J. M. Barbe, G. Guillard, *Inorg. Chim. Acta* **2001**, *322*, 145-149.

[25] A. Bianchi, M. Micheloni, P. Paoletti, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *110*, 17-113.

[26] a) V. J. Thöm, R. D. Hancock, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1985**, 1877-1880. b) A. Anichini, L. Fabbrizzi, P. Paoletti, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1978**, 577-580.

[27] Y. Dong, G. A. Lawrence, L. F. Lindoy, P. Turner, *Dalton Trans.* **2003**, 1567-1576.

[28] M. Griffin, A. Muys, C. Noble, D. Wang, C. Eldershaw, K. E. Gates, K. Burrage, G. R. Hanson, *Mol. Phys. Rep.* **1999**, *26*, 60.

[29] C. F. G. C. Geraldes, M. P. M. Marques, B. De Castro, E. Pereira, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2000**, 559-565.

[30] G. D. Santis, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, D. Sacchi, *Inorg. Chem*. **1995**, *34*, 3581-3582.

[31] H. Irving, R. J. P. Williams, *J. Chem. Soc*. **1953**, 3192-3120.

CHAPITRE IV

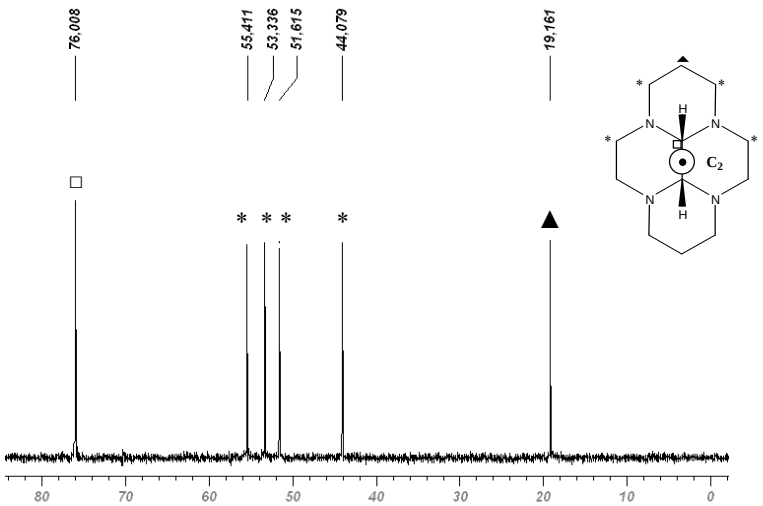
Partie expérimentale

A - SYNTHESE DU LIGAND L^3H (cyclam-méthylbenzimidazole)

La synthèse du ligand $\mathbf{L^3}H$ est réalisée à partir du bisaminal du cyclam. La condensation du glyoxal sur le cyclam est obtenue par addition d'une solution méthanolique équimolaire de glyoxal à une solution méthanolique du macrocycle. Le mélange réactionnel est agité pendant une journée à température ambiante. Après évaporation, le produit est dissout dans l'éther afin d'éliminer les polymères formés au cours de la synthèse. Après filtration, l'éther est évaporé. Le bisaminal cyclam-glyoxal est récupéré sous forme d'un solide blanc (R = 91 %).

Le spectre RMN ^{13}C enregistré dans D_2O pour le cyclam-glyoxal présente six signaux :

- un signal pour les atomes de carbone en β des atomes d'azote du macrocycle (C_β : 19,2 ppm) noté ▲
- quatre signaux pour les atomes de carbone situés en α des atomes d'azote du macrocycle (C_α : 44,07 ; 51,6 ; 53,3 ; 55,4 ppm) notés *
- un signal pour les atomes de carbone du pont aminal (C_{am} : 76 ppm) noté □

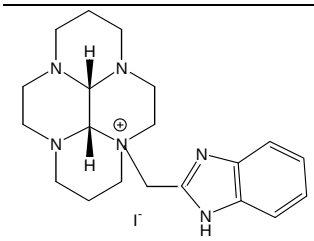


Spectre RMN ^{13}C (D_2O) du cyclam-glyoxal et interprétation, 250 MHz

1. Synthèse du cyclam-méthylbenzimidazole protégé

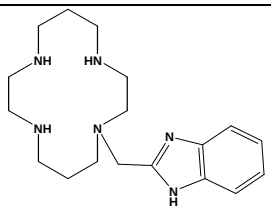
6,8 mmol de NaI et 7 mmol de 2- (chlorométhyl)-benzimidazole en solution dans 5 mL de THF anhydre sont ajoutés goutte-à-goutte à 10 mL de THF anhydre contenant 6,8 mmol du bisaminal cyclam-glyoxal. Après agitation à température ambiante, le bisaminal du cyclam-méthybenzimidazole précipite au bout de deux jours. Le produit est ensuite filtré, lavé au THF sec et séché sous le vide de la rampe.

La formation du bisaminal fonctionnalisé a été vérifiée par RMN du ^{13}C, les déplacements chimiques $\delta(^{13}C)$ étant regroupés dans le tableau ci-dessous (R = 95 %).

Bis-aminal	Temps réactionnel	δ(ppm) RMN ^{13}C (D_2O)
	2 jours	CH_2N : 42,50-45,74-48,84-51,38-51,88-53,3-53,61-62,76-68,20 CH_2CH_2N : 17,31-18,62 CH_{am} : 70,70-81,73 CH_{ar} : 115,08-128,38-132,3-135,71

2. Déprotection du bisaminal

Le bisaminal fonctionnalisé est déprotégé par hydrazinolyse (10 mL d'hydrate d'hydrazine, reflux pendant neuf heures). Après refroidissement, le ballon est placé au réfrigérateur pour favoriser la précipitation de $\mathbf{L^3}H$. Le ligand est ensuite isolé par filtration puis repris plusieurs fois dans l'éthanol afin d'éliminer toute trace de polyhydrazone. Après séchage sous le vide de la rampe, la pureté des produits est contrôlée par RMN ^{13}C, analyse élémentaire et spectrométrie de masse. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.



L^{3}H

R = 86 %

δ(^{13}*C, DMSO-d*^{6} */ ppm)* CH_2N : 45,98-46,75-46,92-47,77-50,03-50,36-51,59-52,35

CH_2CH_2N : 24,8 -26,8

BICH_2N : 58,81

CH_{ar} : 113,62-120,12-137,72-152,78

$C_{18}H_{30}N_6$,0,1 H_2O : Calculé (%): C, 65,06-H, 9,16-N, 25,29-C/N, 2,57

Trouvé (%) : C65,05-H, 9,09-N, 24,95-C/N, 2,6

ESI-MS (m/z) : [**L**^{2}H]$^+$: Calculé : 331,5

Trouvé : 331,2 (100%)

B - SYNTHESE DES COMPLEXES DE ZINC(II), DE CUIVRE (II) ET DE CADMIUM (II) AVEC LE LIGAND L^{3}H

1. Synthèse des complexes de zinc (II) avec le ligand L^{3}H

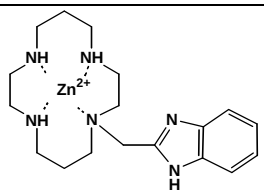
1.1 Synthèse de [Zn**L**^{3}H]$(NO_3)_2$

7 mL d'une solution méthanolique contenant 0,53 mmol de nitrate de zinc tétrahydraté ($Zn(NO_3)_2$, 4 H_2O) sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,51 mmol de ligand (**L**^{3}H) solubilisé dans 10 mL de méthanol. La solution jaune est chauffée à reflux pendant cinq heures et concentrée au minimum par évaporation. Le solide blanc-jaunâtre précipité par ajout d'éther est filtré et séché sous vide.

1.2 Synthèse de [Zn**L**^{3}H]$(ClO_4)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,21 mmol de perchlorate de zinc hexahydraté ($Zn(ClO_4)_2$, 6 H_2O) sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,20 mmol de ligand (**L**^{3}H) solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution obtenue est agitée à température ambiante pendant vingt heures puis concentrée au minimum par évaporation. Le solide blanc-jaunâtre précipité par ajout d'éther est filtré et séché sous vide.

Après séchage sous le vide de la rampe, la pureté des complexes de zinc(II) est contrôlée par RMN ^{13}C. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.

	$[Zn\mathbf{L}^3H]^{2+}$
δ(13C, DMSO-d6 / ppm)	CH_2N : 44,3-45,5-47,0-47,9-48,8-50,3-50,8-53,5 CH_2CH_2N : 24,0-26,7 $BICH_2N$: 55,2 CH_{ar} : 154,24-137,57-133,36-123,69-122,92-116,58-112,05

2. Synthèse du complexe de cuivre (II) avec le ligand L^3H

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,16 mmol de tétrafluoroborate de cuivre hexahydraté ($Cu(BF_4)_2$, 6 H_2O) sont ajoutés goutte à goutte à 0,17 mmol de $\mathbf{L}^3H$ solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution bleue est agitée à température ambiante pendant 24 heures et concentrée au minimum par évaporation du solvant. Le solide bleu précipité par ajout d'éther est filtré et séché sous le vide de la rampe. Des monocristaux bleus sont obtenus par diffusion d'éther dans une solution méthanolique de complexe.

3. Synthèse des complexes de cadmium (II) avec le ligand L^3H

3.1 Synthèse de $[Cd\mathbf{L}^3H](NO_3)_2$

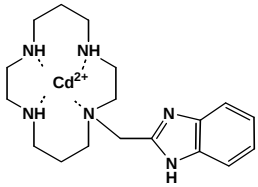
5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,3 mmol de nitrate de cadmium tétrahydraté ($Cd(NO_3)_2$, 4 H_2O) sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,29 mmol de ligand ($\mathbf{L}^3H$) solubilisé dans 10 mL de méthanol. La solution obtenue est chauffée à reflux pendant cinq heures et concentrée au minimum par évaporation. Le solide blanc-jaunâtre précipité par l'éther est filtré et séché sous vide.

3.2 Synthèse de $[Cd\mathbf{L}^3H](ClO_4)_2$

5 mL d'une solution méthanolique contenant 0,2 mmol de perchlorate de cadmium hexahydraté ($Cd(ClO_4)_2$, 6 H_2O) sont ajoutés goutte-à-goutte à 0,18 mmol de ligand ($\mathbf{L}^3H$) solubilisé dans 5 mL de méthanol. La solution obtenue est chauffée à reflux pendant cinq

heures et concentrée au minimum par évaporation. Le solide blanc-jaunâtre précipité lors de l'ajout d'éther est filtré et séché sous vide.

La pureté des complexes de cadmium(II) est contrôlée par RMN ^{13}C. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant.

	$[Cd\mathbf{L}^3H]^{2+}$
δ(13C, DMSO-d6 / ppm)	CH_2N : 43,6-45,1-46,6-48,2-48,9-49,3-52,7-54,5 CH_2CH_2N : 24,0-25,4 $BICH_2N$: 59,0 CH_{ar} : 154,34-138,66-133,17-123,54-123,01-116,74-112,3

3. Contrôle de la pureté des complexes de zinc(II), de cuivre(II) et de cadmium (II) formés avec le ligand L^3H

La pureté des complexes a été contrôlée par analyse élémentaire et spectrométrie de masse. Les analyses élémentaires des différents complexes sont données dans le tableau ci-dessous.

Formule		% C	% H	% N	Couleur
$[Zn\mathbf{L}^3H](NO_3)_2, H_2O$	Expérimental	40,33	5,59	20,5	blanc-jaunâtre
$C_{18}H_{30}N_6ZnN_2O_6, H_2O$	Théorique	40,19	5,59	20,83	
$[Zn\mathbf{L}^3H](ClO_4)_2, 0,75CH_3OH$	Expérimental	36,63	5,28	13,39	blanc-jaunâtre
$C_{18}H_{30}N_6ZnCl_2O_8, 0,75CH_3OH$	Théorique	36,39	5,37	13,58	
$[Cu\mathbf{L}^3H](BF_4)_2, 0,5H_2O$	Expérimental	37,68	5,31	14,20	bleu
$C_{18}H_{30}N_6CuB_2F_8, 0,5H_2O$	Théorique	37,49	5,42	14,5	
$[Cd\mathbf{L}^3H](NO_3)_2, 1,5H_2O$	Expérimental	36,55	5,2	18,5	blanc-jaunâtre
$C_{18}H_{30}N_6CdN_2O_6, 1,5H_2O$	Théorique	36,41	5,6	18,8	
$[Cd\mathbf{L}^3H](ClO_4)_2, 0,5H_2O$	Expérimental	33,70	4,8	12,9	blanc-jaunâtre
$C_{18}H_{30}N_6CdCl_2O_8, 0,5H_2O$	Théorique	33,73	4,7	13,1	

Les analyses des complexes par spectrométrie de masse (ESI-MS) sont reportées dans le tableau suivant.

Formule	Expérimental		Théorique
	m/z	%	m/z
$[Zn\mathbf{L}^3H(NO_3)]^+$	456,4	20	456,1
$[Zn\mathbf{L}^3]^+$	393,4	100	393,1
$[Cu\mathbf{L}^3H(BF_4)]^+$	480,2	100	480,2
$[Cu\mathbf{L}^3]^+$	392,2	25	392,2
$[Cd\mathbf{L}^3H(NO_3)]^+$	506,2	100	506,1
$[Cd\mathbf{L}^3]^+$	443,2	44	443,1
$[Cd\mathbf{L}^3H(ClO_4)]^+$	543,1	100	543,1

C- ETUDES POTENTIOMETRIQUES

1. Préparation et dosage de la solution aqueuse de $\mathbf{L}^3$H

La solution mère du ligand est préparée à une concentration voisine de 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} avec une force ionique de 1 (KNO_3). Le titre exact de la solution de ligand est déterminé par titrage. Un minimum de six titrages a été effectué à 25°C. Des volumes de 2, 3 et 4 mL de la solution mère sont dosés par de l'hydroxyde potassium 0,1 mol.L^{-1}.

2. Préparation et dosage des solutions de complexes de zinc(II) et de cadmium(II)

2.1 Méthode des «batch»

Une solution de $\mathbf{L}^3$H est préparée à une concentration voisine de 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}. Le titre exact de cette solution est déterminé par titrage. A 60 mL de cette solution, des volumes d'une solution de nitrate de zinc(II) ou de cadmium(II) à 5.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} sont ajoutés de façon à obtenir des rapports [L]/[M] égaux à 1,3 ; 1,5 ou 1,8. Le volume est complété à 300 mL avec une solution de KNO_3 1 mol.L^{-1}. Un protocole identique à celui décrit dans le chapitre précédent a été utilisé pour mettre en œuvre les titrages des différents « batch ».

2.2 Préparation et dosage des solutions de complexes

Une solution mère de [Zn**L**^{3}H]$(NO_3)_2$ ou [Cd**L**^{3}H]$(NO_3)_2$ (complexes dont les puretés sont vérifiées par spectrométrie de masse et par analyse élémentaire), est préparée à 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans une force ionique de 1 (KNO_3). Des solutions de 2, 3 ou 4 mL sont par suite titrées à 25°C par une solution de KOH à 0,1 mol.L^{-1}.

3. Préparation et dosage des solutions de ligand en présence de nitrate de cuivre(II)

Pour chaque rapport [Ligand]/[Métal], 20 mL de solution sont préparés en mélangeant 10 mL de solution mère de **L**^{3}H ($1,925.10^{-3}$ mol,L^{-1}) avec des volumes variables d'une solution de nitrate de cuivre (10^{-2} mol.L^{-1}) et à 10^{-2} mol.L^{-1} en acide nitrique (I = 1, KNO_3). Les rapports préparés sont de 1,2 ; 1,35 ; 1,5. Les mélanges préparés sont stockés sous argon dans des flacons de 20 mL à 40°C. Après un temps d'incubation de huit semaines, les solutions sont sorties et refroidies jusqu'à température ambiante pendant une durée de 2 jours. Enfin, 4 ml de ces solutions sont prélevés et dosés par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1 mol.L^{-1}.

D- SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

Les études spectroscopiques UV en fonction du pH sont réalisées sur des solutions de ligand et de complexes ([Zn**L**^{3}H]$(ClO_4)_2$, [Cd**L**^{3}H]$(ClO_4)_2$, [Cu**L**^{3}H]$(BF_4)_2$) à 3.10^{-5} mol.L^{-1} préparées avec une force ionique de 1 (NaCl). Les valeurs de pH ont été ajustées par des ajouts de NaOH et HCl à différentes concentrations. Il en est de même pour l'étude dans le visible du complexe (concentration en complexe : 10^{-3} mol.L^{-1}).

Pour les dosages en UV de **L**^{3}H par les ions Zn(II), Cu(II) et Cd(II), des volumes d'une solution de $M(ClO_4)_2$ à $1,2.10^{-3}$ mol.L^{-1} sont ajoutés à une solution de **L**^{3}H (5mL, 3.10^{-5} mol.L^{-1}). Pour les dosages dans le visible, des volumes d'une solution de Cu(II) (5.10^{-2} mol.L^{-1}) sont ajoutés à une solution de **L**^{3}H (5mL, 10^{-3} mol.L^{-1}). Le pH de ces solutions est fixé à 10,4 par le tampon CAPS. Toutes les solutions sont préparées avec une force ionique de 1 (NaCl).
Les différents spectres (UV et visible) sont enregistrés à 25°C avec un spectrophotomètre « SHIMADZU UV-2410-PC».

E- SPECTROSCOPIE RMN DU PROTON

Les études spectroscopiques RMN du proton en fonction du pH sont effectuées en faisant varier le pD d'une solution de ligand (**L**^{3}H) ou des complexes [Zn**L**^{3}H]$(ClO_4)_2$ et [Cd**L**^{3}H]$(NO_3)_2$ à 10^{-2} mol.L^{-1} par des ajouts d'une solution NaOD 4 % ou DCl à 3,5 %. Les valeurs de pH ont été calculées par la relation pH = pD – 0,40.

F- ETUDES FLUORIMETRIQUES

Les études fluorimétriques en fonction du pH sont réalisées sur des solutions de ligand ou de complexe de Zn(II), Cu(II) ou Cd(II) à 5.10^{-7} mol.L^{-1} préparées par dilutions successives avec de l'eau dégazée. Le pH de la solution du ligand (2 < pH<12) et celles des complexes (6 < pH< 12) est ajusté par des ajouts de NaOH et HCl à différentes concentrations.

Afin d'étudier la variation de l'intensité de fluorescence du ligand en fonction de la concentration en métal le protocole suivant a été adopté : des volumes successifs d'une solution de $Zn(ClO_4)_2$, $Cu(ClO_4)_2$ ou $Cd(ClO_4)_2$ (1,2 10^{-3} mol.L^{-1}) sont ajoutés à des solutions de ligand (3.10^{-5} mol.L^{-1}) dont le pH est fixé à 10,4 par le tampon (CAPS). Ces solutions sont ensuite diluées dans le CAPS de façon à atteindre une concentration de ligand égale à 5.10^{-7} mol.L^{-1}. Ces essais ont été également réalisés en milieu neutre (tampon HEPES, pH = 7,4).

Toutes les solutions sont préparées dans une force ionique de 0,1 (NaCl). Les spectres d'émission du ligand et des complexes sont enregistrés entre 275 et 400 nm après excitation à λ = 270 nm (fentes 5 nm).

Rendements quantiques de **L**^{3}H dans CAPS : ϕ(**L**^{3}H) = 0,016
Rendements quantiques du complexe de zinc dans CAPS : ϕ(**L**^{3}H/Zn^{2+}) = 0,19.
Rendements quantiques du complexe de cuivre dans CAPS : ϕ(**L**^{3}H/Cu^{2+}) = 0,005.
Rendements quantiques du complexe de cadmium dans CAPS : ϕ(**L**^{3}H/Cd^{2+}) = 0,09.
Rendements quantiques du complexe de zinc à pH = 12: ϕ(**L**^{3}H/Zn^{2+}) = 0,18.
Rendements quantiques du complexe de cadmium à pH = 12 : ϕ(**L**^{3}H/Cd^{2+}) = 0,09.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a été consacré à l'étude des propriétés complexantes des ligands tétraazamacrocycliques mono- et disubstitués par des groupements méthylbenzimidazole, l'objectif étant de mettre à profit leurs propriétés en fluorescence pour titrer les cations, en particulier Zn^{2+}.

Pour chacun des ligands $\mathbf{L^1}H$, $\mathbf{L^2}H_2$ et $\mathbf{L^3}H$, la caractérisation des complexes de Zn(II) Cu(II) et Cd(II) à l'état solide ou en solution, montre que l'azote imine du benzimidazole participe dans tous les cas à la sphère de coordination du métal. Cette coordination supplémentaire a comme effet d'augmenter la stabilité des complexes de Zn(II) et de Cd(II) de $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^3}H$ par rapport à des complexes basés sur des macrocycles substitués analogues. L'analyse radiocristallographique a montré que les complexes [Zn(cyclen-méthylbenzimidazole)] , [Cu(cyclen-méthylbenzimidazole)] et [Cu(cyclam-méthylbenzimidazole)] possèdent une géométrie pyramidale à base carrée. L'analyse radiocristallographique du complexe [Cd(cyclam-méthylbenzimidazole)] a mis en évidence une géométrie octaédrique coiffée pour le cadmium. Les géométries de ces complexes ont été également déterminées en solution, par spectroscopie UV-Visible et RPE dans le cas de cuivre(II).

La caractérisation des complexes $[Zn\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ $[Cu\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ et $[Cd\mathbf{L^2}H_2]^{2+}$ en solution, a montré que dans tous ces complexes les deux groupements benzimidazole participent à la coordination du métal pour conduire à une géométrie octaédrique *cis*-distordue. Une possibilité d'avoir une énantiomérisation dynamique a été également mise en évidence.

En milieu aqueux, le suivi en fonction du pH de l'évolution de la sphère de coordination des cations métalliques dans les complexes, a permis de montrer que ceux-ci se déprotonnent au niveau de l'atome d'azote pyrrolique du benzimidazole.

Le comportement en fluorescence des ligands hydrosolubles $\mathbf{L^1}H$ et $\mathbf{L^3}H$ dépend du pH. Lorsque les ligands sont protonés, leur fluorescence est faible du fait de l'existence d'un transfert d'électron photoinduit entre la couronne macrocyclique (en particulier l'atome d'azote tertiaire de la couronne) et le fluorophore benzimidazole. La fluorescence augmente ensuite au fur et à mesure de la déprotonation des ligands. Ce comportement a été rationalisé en termes d'orbitales moléculaires sur les différentes formes protonées et déprotonées en particulier pour le ligand $\mathbf{L^1}H$.

En présence du Zn^{2+} cation cible de l'étude, l'évolution de la fluorescence du système {Zn-ligand} suit le même type d'évolution avec, fort heureusement, une augmentation de fluorescence en présence du cation. Il ya donc en présence du cation, une diminution du

transfert d'électron photoinduit par rapport à ce qui est observé pour le ligand seul, du fait de la stabilisation des niveaux moléculaires de la couronne par la complexation.

La comparaison de la fluorescence des ligands par rapport à celles des complexes de zinc a permis de choisir le domaine de pH dans lequel un test de dosage peut être mis au point. Ainsi, en milieu aqueux à pH = 10,4 (tampon CAPS), les ligands hydrosolubles $\mathbf{L^1}$H et $\mathbf{L^3}$H détectent et permettent de quantifier la présence de Zn^{2+} en solution. En présence de cations interférents comme Cd^{2+} ou Cu^{2+}, la réponse des ligands n'est pas modifiée voire éteinte. Les tests de sélectivité effectués pour les ligands $\mathbf{L^1}$H et $\mathbf{L^3}$H en présence d'ions alcalins et alcalino-terreux montrent que $\mathbf{L^1}$H et $\mathbf{L^3}$H détectent sélectivement Zn^{2+}.

Le greffage d'un second groupement benzimidazole améliore les limites de détection et de quantification de Zn^{2+} de $\mathbf{L^1}$H en milieu organique. De plus, l'utilisation du ligand $\mathbf{L^2}H_2$ permet de doser Cu^{2+} à de faibles concentrations, ce qui n'est pas possible avec les ligands $\mathbf{L^1}$H et $\mathbf{L^3}$H.

Enfin, il faut remarquer que les résultats obtenus pour le dosage du Zn^{2+} par fluorescence indiquent que les propriétés de détection de $\mathbf{L^3}$H vis-à-vis de Zn^{2+} sont meilleures que celles de $\mathbf{L^1}$H. Ceci ouvre des perspectives pour améliorer l'efficacité des systèmes développés ici, en examinant les propriétés de détection de ligands macrocycliques basés sur des cavités *cyclam* fonctionnalisés par des sondes fluorescentes efficaces au voisinage du pH physiologique et émettant à des longueurs d'onde plus élevées.

ANNEXE I

Techniques utilisées

Analyse élémentaire

Les compositions centésimales C, H et N ont été obtenues à l'aide d'un analyseur « PERKIN-ELMER 2400 ».

Etude potentiométrique

➢ *Matériel utilisé*

L'étude des ligands et des complexes par potentiométrie utilise une chaîne de titrage informatisée comprenant :

- un pH-mètre METROHM 713 qui permet de mesurer le pH au millième à l'aide d'une électrode combinée METROHM AG 9101 (référence Ag/AgCl/KCl).
- une microburette à microprocesseur METROHM Dosimat 665 munie d'une unité interchangeable de 1 mL. L'extrémité de la pointe plongeant dans la solution est munie d'une soupape anti-diffusion en Téflon.
- une cellule de mesure reliée à un cryostat à circulation d'eau. La température mesurée, à 0,1°C près est fixée à 25°C à l'aide d'une sonde Pt100 reliée au pH-mètre.
- un dispositif de balayage d'argon qui permet d'isoler la solution du milieu extérieur.

La microburette et le pH-mètre sont pilotés par un logiciel développé au laboratoire par J. C. PIERRARD et J. RIMBAULT. Ce système permet d'automatiser les titrages potentiométriques et d'acquérir les couples de mesures (volume de réactif titrant délivré, pH) en vue d'un traitement futur.

La chaîne de mesure est étalonnée à pH = 4,6 par référence avec une solution tampon d'acide acétique de titre exactement égal à 2.10^{-2} mol.L^{-1} et de force ionique de 1 en KNO_3.

➢ *Détermination du produit ionique de l'eau*

Le produit ionique de l'eau à une force ionique de 1 en KNO_3 et à 25 °C a été déterminé avec précision. Ceci est en effet nécessaire car une faible variation de ce paramètre influe sur la précision des valeurs des constantes de protonation des ligands ou de formation des complexes.

La valeur expérimentale du produit ionique est obtenue par exploitation des courbes de titrage d'acide acétique, à différentes concentrations, par de l'hydroxyde de potassium. Le traitement des courbes par le logiciel PROTAF[1] permet l'affinement simultané de la concentration et de la constante d'acidité de l'acide acétique ainsi que le produit ionique de l'eau. Dans nos conditions, la valeur du produit ionique de l'eau est pKe = 13,75 ± 0,01.

- *Logiciel de calcul PROTAF*

La détermination des constantes d'équilibre est réalisée à l'aide du programme d'affinements multiparamétriques PROTAF basé sur une méthode des moindres carrés. Cette méthode consiste à minimiser la somme pondérée des carrés des résidus sur les variables expérimentales (volume de base ajouté, pH mesuré).

Les résidus sur les variables expérimentales sont définis par $R_{Vi} = V_{i\ exp} - V_{i\ affiné}$ et $R_{pHi} = pH_{i\ exp} - pH_{i\ affiné}$ avec les coefficients de pondération W_{Vi} et W_{pHi} liés à la précision des mesures sur le volume et sur le pH.

La somme pondérée des carrés des résidus est définie par l'équation :

$$S = \sum_i \left(W_{V_i} R_{V_i}^2 + W_{I_i} R_{I_i}^2 \right)$$

Simultanément aux constantes d'équilibre, il est possible d'affiner les autres paramètres de titrage tels que le produit ionique de l'eau et les concentrations des solutions utilisées.

Les constantes d'équilibre affinées sont des constantes de formation globales β_{mlh} correspondant à l'équilibre :

$$m\,M + \ell\,L + h\,H \rightleftharpoons M_m L_\ell H_h$$

avec $$\beta_{mlh} = \frac{[M_m L_l H_h]}{[M]^m [L]^l [H]^h}$$

Dans le cas particulier de l'étude du ligand seul (m = 0, ℓ = 1), les constantes de protonation β_{01h} sont reliées aux constantes d'acidité Ka par la relation :

$$\beta_{0lh} = \prod_{i=1}^{h} Ka_{h+1-i}^{-1}$$

Les valeurs $\bar{x}$ déterminées sont données avec un intervalle de confiance de 95 % selon la loi de Student : $\bar{x} \pm \frac{t \cdot \sigma_{N-1}}{\sqrt{N}}$ où t est le facteur de Student

N le nombre de degrés de liberté

$$\sigma_{N-1} = \sqrt{\frac{\sum_i (\bar{x} - x_i)^2}{N-1}} .$$

➢ *Préparation des solutions*

Afin de maintenir constants les coefficients d'activité des différentes espèces présentes en solution, les mesures ont effectuées à une force ionique fixée par ajout d'un sel de fond. Toutes les solutions sont préparées à une force ionique I = 1 en nitrate de potassium.

• *Préparation et dosage des solutions de ligands*

Les solutions mères des ligands sont préparées à des concentrations voisines de 2×10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}. Le titre exact de la solution de ligand est déterminé par titrage. Pour chaque ligand, un minimum de six dosages a été effectué. La concentration du ligand dans la cellule de mesure varie entre 10^{-3} et 2×10^{-3} mol.L^{-1}. Les solutions dosées sont obtenues par prélèvement d'un volume de 2, 3 ou 4 mL de la solution mère. Le dosage est effectué par de l'hydroxyde de potassium 0,1 mol.L^{-1} (la solution titrante de KOH est conservée sous argon pendant au maximum une semaine).

• *Préparation et dosage des solutions de complexes de zinc et de cadmium*

- Préparation et dosage des batch

Une solution de ligand est préparée à une concentration voisine de 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1}. Le titre exact de la solution de ligand est déterminé par titrage. Sur 60 mL de cette solution un volume d'une solution de $Zn(NO_3)_2$ ou $Cd(NO_3)_2$ à 5.10^{-3} mol.L^{-1} dans de l'acide nitrique 10^{-2} mol.L^{-1} est ajouté pour avoir des rapports [L]/[M] = 1,3 ; 1,5 ou 1,8. Le volume est complété à 300 mL avec une solution de KNO_3 1 mol.L^{-1}. Sur chaque 10 mL de cette solution, le pH est ajusté par ajout d'un volume connu de KOH 0,1 mol.L^{-1} puis cette solution est partagée en deux solutions de 5 mL chacune. Ceci

permet de constituer deux séries identiques de 30 pots (séries A et B). Les pots préparés sont stockés sous argon à 40°C. L'évolution du pH est suivie dans les pots de la série A jusqu'à six semaines d'incubation pour les complexes de zinc et neuf semaines d'incubation pour ceux du cadmium. Deux et trois semaines d'incubation sont respectivement suffisantes pour que l'équilibre de formation des complexes de zinc et cadmium soit atteint. Au bout de ce délai, les pH de la série B sont alors mesurés. Les mesures sont faites dans une cellule thermostatée à 25°C après avoir laissé les solutions de la série B revenir à température ambiante (pendant deux jours).

- Préparation et dosage des solutions de complexes

Une solution mère de complexe de $[M\mathbf{L^1}H](NO_3)_2$ ($M = Zn^{2+}$ ou Cd^{2+}), dont la pureté est vérifiée par spectrométrie de masse et par analyse élémentaire, est préparée à 2.10^{-3} mol.L^{-1} dans une force ionique de 1 (KNO_3). Des solutions de 2, 3 ou 4 mL sont par suite titrée à 25°C par une solution de KOH à 0,1 mol.L^{-1}.

• *Préparation et dosage des solutions de ligands en présence de nitrate de cuivre(II)*

Pour chaque rapport [Ligand]/[Cu], 20 mL de solution sont préparés en mélangeant 10 mL de solution mère de ligand avec une solution de nitrate de cuivre à 10^{-2} mol.L^{-1} et à 10^{-2} mol.L^{-1} en acide nitrique (I = 1, KNO_3). Les rapports préparés sont de 1,2 ; 1,5 ; 1,8 et 2,2. Les mélanges préparés sont stockés sous argon dans des flacons de 20 mL à 40°C. Après un temps d'incubation de quatre semaines, les pots sont sortis et refroidis jusqu'à température ambiante pendant une durée de 2 jours. Enfin, 4 mL de chacune de ces solutions sont prélevés et dosés par l'hydroxyde de potassium 0,1 mol.L^{-1}.

Spectroscopie UV-Visible

Les études spectroscopiques UV en fonction du pH sont faites sur des solutions de ligand et de complexe à 3.10^{-5} mol.L^{-1} (I = 1 (NaCl). Les valeurs de pH sont ajustées par des ajouts de NaOH et HCl à différentes concentrations. La même procédure est adoptée pour les études spectroscopiques dans le visible des complexes de cuivre (concentration des solutions : 10^{-3} mol.L^{-1}).

Pour les dosages des ligands par Cu(II) (dans l'eau ou dans l'acétonitrile), des volumes d'une solution de $Cu(ClO_4)_2$ à $1,2.10^{-3}$ mol.L^{-1} (UV) et 5.10^{-2} mol.L^{-1} (Visible) sont ajoutés sur 5 mL de solution de ligand à 3.10^{-5} mol.L^{-1} (UV) et 10^{-3} mol.L^{-1} (Visible) respectivement. Pour les études en milieu aqueux, le pH de ces solutions est fixé à 10,4 (tampon CAPS). Toutes les solutions sont préparées dans une force ionique de 1 (NaCl).

Le spectromètre utilisé pour enregistrer les spectres est un spectrophotomètre « SHIMADZU UV-2410-PC». Les spectres ont été enregistrés à 25°C soit en solution, soit à l'état solide par dépôt du complexe sur un papier filtre sans cendre « SCHLEICHER ET SCHUL » (complexes de cuivre).

Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés sur un spectromètre « BRUKER AC250 (250,13 MHz) » ou « DRX 500 (500,13 MHz) », au service commun de RMN de l'Université de Reims. Les déplacements chimiques, exprimés en ppm, sont comptés positivement vers les champs faibles et sont donnés par rapport au triméthylsilane (TMS).

Les spectres RMN ^1H en fonction du pH ont été enregistrés sur le spectromètre « DRX 500». Les concentrations des solutions de ligands ou de complexes sont voisines de 10^{-2} mol L^{-1}. Les ligands et les complexes ont été solubilisés dans D_2O et le pD des solutions a été ajusté par ajout d'une solution de NaOD 4 % ou de DCl 3,5 %. Ces solutions sont obtenues par dilution dans D_2O des solutions mères de NaOD 40 % ou de DCl 35 %. Les valeurs de pH ont été calculées par la relation suivante : [2]

$$pH = pD - 0,40$$

ETUDES FLUORIMETRIQUES

L'enregistrement des spectres d'émission de fluorescence a été réalisé avec un spectromètre de luminescence LS 50B Perkin-Elmer. Les caractéristiques de l'appareil sont les suivantes :

- Une lampe au xénon puisée produit une émission intense de très courte durée (~ 10 µs) sur l'ensemble de la gamme spectrale (200-900 nm).

- Deux monochromateurs : le premier situé entre la source et le compartiment échantillon sélectionne la longueur d'onde excitatrice traversant la cellule

d'analyse ; l'émission de l'échantillon est focalisée sur la fente d'entrée du second monochromateur placé avant le détecteur. Les bandes passantes peuvent varier de 2, 5 à 15 nm.

- Un porte cuve thermostaté de 1 cm de trajet optique occupe le compartiment échantillon (les mesures on été effectuées à 25 ± 0,1°C).

- Un photomultiplicateur Hamamatsu R928 présentant une bonne sensibilité entre 650 et 900 nm mesure les intensités d'émission.

Le spectrophotomètre est connecté par une interface RS232C à un ordinateur. Après le choix du mode fluorescence, le logiciel FLWINLAB 4.0 permet de sélectionner l'ensemble des paramètres analytiques (gammes de longueur d'onde, bandes passantes, temps d'intégration …). Il assure les fonctions de saisie, de stockage et d'analyse des spectres. Les spectres d'émission sont corrigés à partir d'un fichier contenant les facteurs de correction donnés par le constructeur.

Les études fluorimétriques en fonction du pH sont faites sur des solutions de ligand ou de complexe à 5.10^{-7} mol.L^{-1} préparées par dilutions successives avec de l'eau dégazée. Le pH de la solution du ligand (2 < pH<12) et celles des complexes (6 < pH< 12) est ajusté par des ajouts de NaOH et HCl à différentes concentrations.

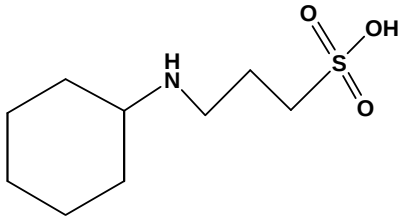
Pour étudier la variation de l'intensité de fluorescence du ligand en fonction de la concentration en métal (dans l'eau ou dans l'acétonitrile) le mode opératoire suivant a été adopté : des volumes successifs d'une solution de $Zn(ClO_4)_2$, $Cu(ClO_4)_2$ ou $Cd(ClO_4)_2$ ($1,2.10^{-3}$ mol.L^{-1}) sont ajoutés sur des solutions de ligand (3.10^{-5} mol.L^{-1}) préparées dans l'eau ou dans l'acétonitile (pour les études dans un milieu aqueux, le pH des solutions est fixé à 10,4 par le tampon (CAPS, 2.10^{-2} mol.L^{-1})). Ces solutions sont ensuite diluées dans le CAPS ou dans l'acétonitile pour avoir une concentration de ligand à 5.10^{-7} mol.L^{-1}.

Toutes les solutions sont préparées dans une force ionique de 0,1 (NaCl). Les spectres d'émission du ligand et des complexes sont enregistrés entre 275 et 400 nm après excitation à λ = 270 nm (fentes 5 nm).

Préparation des tampons

a- Tampon CAPS

2,5 mL de KOH à 1 mol.L^{-1} sont ajoutés sur 50 mL d'une solution d'acide 3-(cyclohexylamino)-1-propanesulfonique (CAPS) à 0,1.mol.L^{-1} préparée par pesée. Le volume de ce mélange est complété jusqu'à 250 mL avec de l'eau dégazée. La solution tampon obtenue est à 2.10^{-2} mol.L^{-1} et à pH = 10,4.



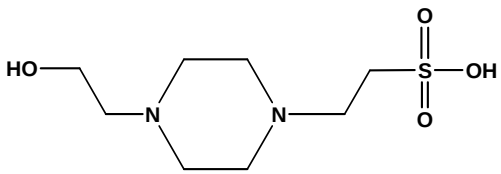
Formule moléculaire : $C_9H_{19}N\ O_3S$

pKa = 10,4

acide 3-(cyclohexylamino)-1-propanesulfonique (CAPS)

b-Tampon HEPES

1,2 g d'acide 4-(2-Hydroxyethyl) piperazine-1-éthanesulfonique (HEPES) sont solubilisés dans de l'eau dégazée et 2,5 mL de KOH à 1 mol.L^{-1} sont ajoutés à cette solution. Le volume de ce mélange est complété à 500 mL avec de l'eau dégazée. L'ajout de base permet d'obtenir une solution de tampon HEPES à 10^{-2} mol.L^{-1} et à pH = 7,4.



Formule moléculaire : $C_8H_{18}N_2O_4S$

Acide 4-(2-Hydroxyethyl) piperazine-1-éthanesulfonique (HEPES)

Détermination d'un rendement quantique de fluorescence ϕ_F

Les spectres de fluorescence de solutions diluées (absorbance < 0,05) du composé et du standard doivent être enregistrés exactement dans des conditions expérimentales identiques. Ces conditions sont les suivantes :

- largeur des fentes des monochromateurs = 5 nm
- tension des photomultiplicateurs : auto
- température du compartiment échantillon = 25°C
- solvant : eau ou acétonitrile

Si les solvants utilisés pour le composé et le standard sont différents, il est nécessaire d'introduire une conversion d'indice de réfraction.
Le rapport des rendements quantiques est donné par :

$$\frac{\Phi_F}{\Phi_{F_R}} = \frac{n^2}{n_R^2} \frac{\int_0^\infty F(\lambda_F)d\lambda_F}{\int_0^\infty F_R(\lambda_F)d\lambda_F} \qquad (1)$$

où R représente le standard utilisé

Si on considère que l'intensité de fluorescence $i_F(\lambda_F, \lambda_F)$

$$i_F(\lambda_F, \lambda_F) = k\ F(\lambda_F)\ I_0(\lambda_E)\ \{1-10^{-A(\lambda E)}\}$$

où λ_E : longueur d'onde d'excitation

λ_F : longueur d'onde de fluorescence

I_0 : intensité de la lumière incidente traversant l'échantillon

$\varepsilon(\lambda_E)$: coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde d'excitation

n : indice de réfraction

La relation devient :

$$\frac{\Phi_F}{\Phi_{F_R}} = \frac{n^2}{n_R^2} \frac{\int_0^\infty F(\lambda_F)d\lambda_F}{\int_0^\infty F_R(\lambda_F)d\lambda_F} * \frac{1-10^{-A_R(\lambda_E)}}{1-10^{-A(\lambda_E)}}$$

Où i_F et i_R sont les intensités de fluorescence du composé et du standard respectivement.

En raison de l'accumulation de petites erreurs inévitable, la précision sur le rendement quantique ϕ_F peut difficilement être inférieure à 5-10 %

Détermination des limites de détection (LD) et de quantification (LQ)

Les limites de détection et de quantification sont deux valeurs permettant de connaître la sensibilité d'un système et son efficacité dans le dosage d'un analyte.

- La limite de détection (LD) est la plus petite quantité observable par la méthode dans un échantillon donné.
- La limite de quantification (LQ) est une valeur en-dessous de laquelle il est difficile de quantifier avec une précision acceptable.

Les valeurs de LD et LQ sont déterminées à partir des relations suivantes :

$$\text{LD} : \frac{S}{N} = 3, \qquad \text{LQ} : \frac{S}{N} = 10$$

où le rapport $\frac{S}{N}$ (signal / bruit) désigne la qualité de transmission des informations par rapport au bruit de fond.[3]

La procédure suivante a été utilisée pour déterminer les quantités LD et LQ :

$$(\frac{S}{N})_n = \frac{S_n - S_0}{N}$$

avec :

S_n : le signal de l'échantillon à n équivalent de métal ajouté.

S_0 : le signal de l'échantillon à 0 équivalent de métal ajouté.

N : la valeur du bruit. Une valeur majorée du bruit N = 1,5 a été utilisée.

C_n : Concentration du métal ajouté à n équivalent.

$$\text{LD} = C_n * 3 / (\frac{S}{N})_n$$

$$\text{LQ} = C_n * 10 / (\frac{S}{N})_n$$

ref. : Principes d'analyse instrumentale D.A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *De Boeck*, **2003**.

Diffraction des rayons X

Les études cristallographiques des complexes $[\text{Zn}\mathbf{L}^1\text{H}]^{2+}$ et $[\text{Cd}\mathbf{L}^3\text{H}]^{2+}$ ont été réalisées à l'Institut de Chimie de Rennes (centre de Diffractométrie X – UMR CNRS 6226) en collaboration avec le Dr Thierry Roisnel. Les données structurales ont été déterminées à l'aide

de diffractomètre CCD Kappa utilisant la radiation monochromatique Mo K (λ = 0,71073 Å). Les données ont été traitées ensuite grâce aux logiciels DENZO[4], SCALEPACK[4], SADABS[5] et EVAL[6]. Les représentations structurales tridimensionnelles ont été générées à l'aide du programme Schakal97.

Les études cristallographiques des complexes $[Cu\mathbf{L^1}H]^{2+}$, $[Cu\mathbf{L^3}H]^{2+}$ et $[Zn\mathbf{L^4}]^{2+}$ ont été réalisées au département de chimie de Louvain-la-Neuve (unité CSTR - Belgique) en collaboration avec professeur Bernard Tinant. Les données structurales ont été déterminées à l'aide d'un diffractomètre (image plate MAR345) utilisant la radiation monochronique MoKα (λ= 0.71069 Å). Les représentations structurales tridimensionnelles ont été générées à l'aide du programme Schakal99.

Spectroscopie de Résonance Paramagnétique Electronique

Les spectres RPE ont été réalisés à l'aide du spectromètre « BRUKER ESP 300e » équipé d'un gaussmètre « BRUKER E035 M » et fonctionnant en bande X à 9,43 GHz. Les spectres ont été enregistrés en solution (DMF et eau/glycérol) à 180 K (unité variable de température : Bruker ER4111VT). La simulation des spectres a été effectuée à l'aide du logiciel XSophe version 1.1.4[7] développé par le Pr. G. Hanson de l'Université du Queensland, Brisbane, Australie.

Spectroscopie de masse

Les spectres de masse ont été enregistrés par D. Harakat (UMR CNRS 6229 – Université de Reims) dans le méthanol en mode électrospray positif (appareil Micromass Q-TOF).

Références bibliographiques

[1] a) R. Fournaise, C. Petitfaux, *Talanta* **1987**, *34*, 385-395. b) R. Fournaise, C. Petitfaux, *Analysis* **1990**, *18*, 242.

[2] A. K. Covington, M. Paabo, R. A. Robinson, R. G. Bates, *Anal. Chem.* **1968**, *40*, 700.

[3] D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, *Principles of instrumental analyses*, fifth edition, **1998**.

[4] Z. Otwinowski, W. Minor, **1997**, *Methods in Enzymology*, *276*, 307 (C.W. Carter, Jr. & R.M. Sweet (Eds), *New York, Academic Press*).

[5] Sheldrick, G.M. SADABS version 2.03. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, **2002**.

[6] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, *J. Applied Cryst.*, **1999**, *32*, 115.

[7] M. Griffin, A. Muys, C. Noble, D. Wang, C. Eldershaw, K. E. Gates, K. Burrage, G. R. Hanson, *Mol. Phys. Rep.* **1999**, *26*, 60.

ANNEXE II

Données cristallographiques

Table A: *donnés cristallographiques du complexe [Zn**L**^{1}H](ClO$_4$)$_2$,*

	[Zn**L**^{1}H](ClO$_4$)$_2$, CH$_3$CN
Formule empirique	C_{18} H_{29} N_7 O_8 Cl_2 Zn
Masse molaire	607,75
Température (K)	100(2)
Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	*P* 21/c
couleur	incolore
a (Å)	14,7457(4)
b (Å)	9,2669(3)
c (Å)	18,7281(6)
α (°)	90
β (°)	106,5910(10)
γ (°)	90
Volume (Å^3)	2452,59(13)
Z	4
D_{calc} (g cm^{-3})	1,646
Coefficient d'absorption (mm^{-1})	1,278
F(000)	1256
λ(Mo Kα), [Å]	0,71073
Nombre de réflexions libre	5614
Nombre de réflexions [I>2.0 σ (I)]	4962
R_1	0,0294
wR_2	0,0768
Qualité d'affinement F^2	1,037

$R_1 = \sum \| F_0 | - | F_c \| / \sum \| F_0 |$, $WR_2 = \{[W(F_0^2 - F_c^2)^2] / \sum [WF_0^4]\}^{1/2}$, les facteurs F_0 et F_c représentent respectivement les facteurs de structure observés et calculés.

Table B: *donnés cristallographiques du complexe [Cu**L**^{1}](BF$_{4}$)$_{2}$,*

	[Cu**L**^{1}H](BF$_4$)$_2$, Et$_2$O
Formule empirique	C_{20} H_{34} B_2 Cu F_8 N_6 O
Masse molaire	611,69
Température (K)	120(2)
Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	*P* 2_1/n
couleur	bleu
a (Å)	8,945(3)
b (Å)	11,788(4)
c (Å)	25,820(7)
α (°)	90
β (°)	91,74(2)
γ (°)	90
Volume (Å^3)	2721,3(15)
Z	4
D_{calc} (g cm^{-3})	1,493
Coefficient d'absorption (mm^{-1})	0,883
F(000)	1260
λ(Mo Kα), [Å]	0,71069
Nombre de réflexion indépendant	5535
Nombre de reflexion [I>2.0 σ (I)]	5190
R_1	0,0432
wR_2	0,1158
Qualité d'affinement F^2	1,068

Table C *: donnés cristallographiques du complexe [Cd**L**^{3}H](NO$_3$)$_2$,*

	[Cd**L**^{3}H](NO$_3$)$_2$
Formule empirique	C_{18} H_{30} N_8 O_6 Cd
Masse molaire	566,9
Température (K)	100(2)
Système cristallin	Tetragonal
Groupe d'espace	*P* 42/c
couleur	incolore
a (Å)	24,0508(14)
b (Å)	24,0508(14)
c (Å)	8,8378(5)
α (°)	90
β (°)	90
γ (°)	90
Volume (Å^3)	5112,1(4)
Z	8
D_{calc} (g cm^{-3})	1,473
Coefficient d'absorption (mm^{-1})	0,901
F(000)	2320
λ(Mo Kα), [Å]	0,71073
Largest diff peak/hole [e Å^{-3}]	0,639/-0,514
Nombre de réflexions libre	5827
Nombre de réflexions [I>2.0 σ (I)]	5572
R_1	0,0332
wR_2	0,0936
Qualité d'affinement F^2	1,16

Table D: *donnés cristallographiques du complexe [Cu**L**^{3}H](BF$_4$)$_2$,*

	[Cu**L**^{3}H](BF$_4$)$_2$, MeOH
Formule empirique	C_{19} H_{34} B_2 Cu F_8 N_6 O
Masse molaire	599,68
Température (K)	120 (2)
Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	P 2_1/n
couleur	incolore
a (Å)	8,282
b (Å)	13,350
c (Å)	11,660
α (°)	90,00
β (°)	95,55
γ (°)	90,00
Volume (Å^3)	1283,1
Z	2
D_{calc} (g cm^{-3})	1,552
Coefficient d'absorption (mm^{-1})	0,934
F(000)	618
λ(Mo Kα), [Å]	0,71069
Nombre de réflexion indépendant	4197
Nombre de reflexion [I>2.0 σ (I)]	3895
R_1	0,0827
wR_2	0,1913

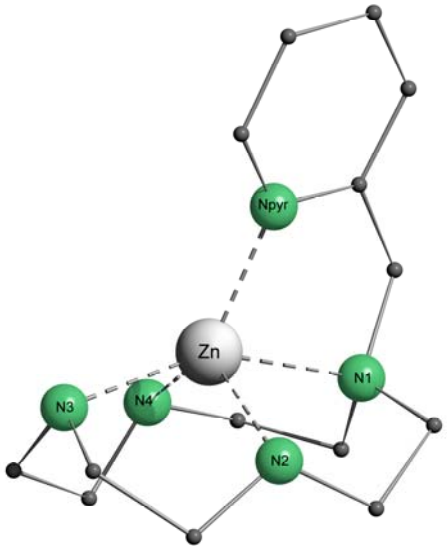


Figure 1 *: Structure du complexe* $[Zn\mathbf{L^1}H]^{2+}$

Tableau E *: Longueurs (Å) et angles de liaison (°) principaux du complexe* $[Zn\mathbf{L^4}](ClO_4)_2$

$Zn\text{-}N_1$	2,210(6)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_2$	81,29(2)
$Zn\text{-}N_2$	2,106(7)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_3$	151,47(3)
$Zn\text{-}N_3$	2,092(7)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_4$	81,27(3)
$Zn\text{-}N_4$	2,110(7)	$N_1\text{-}Zn\text{-}N_{pyr}$	81,56(2)
$Zn\text{-}N_{im}$	2,023(5)	$N_2\text{-}Zn\text{-}N_3$	84,94(3)
$N_{pyr}\text{-}C_2$	1,350(7)	$N_2\text{-}Zn\text{-}N_4$	121,17(2)
		$N_2\text{-}Zn\text{-}N_{pyr}$	109,34(6)
		$N_3\text{-}Zn\text{-}N_4$	84,74(3)
		$N_3\text{-}Zn\text{-}N_{pyr}$	126,73(3)
		$N_4\text{-}Zn\text{-}N_{pyr}$	122,79(3)

Table F: *donnés cristallographiques du complexe [Zn**L**^{4}](ClO$_4$)$_2$,*

	[Zn**L**^{4}]$_1$(ClO$_4$)$_2$
Formule empirique	C_{14} H_{26} N_5 O_8 Cl_2 Zn
Masse molaire	528,68
Température (K)	293(2)
Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	*P* 21/c
couleur	incolore
a (Å)	19,319(7)
b (Å)	9,835(3)
c (Å)	29,316(9)
α (°)	90
β (°)	130,316(18)
γ (°)	90
Volume (Å^3)	4247(2)
Z	4
D_{calc} (g cm^{-3})	1,679
Coefficient d'absorption (mm^{-1})	1,463
F(000)	2216
λ(Mo Kα), [Å]	0,71073
Nombre de réflexions libre	6710
Nombre de réflexions [I>2.0 σ (I)]	5159
R_1	0,0849
wR_2	0,2264
Qualité d'affinement F^2	1,064

ANNEXE III

Le cuivre et le cadmium en milieu biologique

A- le cuivre

Le cuivre est un métal de transition dont les deux degrés d'oxydation les plus fréquents sont +I et +II. Le potentiel redox du couple Cu^{2+}/Cu^{+} est 153 mV. Il a la possibilité d'adopter plusieurs géométries de coordination imposées par les protéines. Sa concentration dans le plasma sanguin varie de 0,8 à 1,2 mg/L[1] et la concentration en cuivre(II) libre dans le plasma est estimée à 10^{-13} M.

Le cuivre(II) est un cofacteur essentiel pour un grand nombre d'enzymes dont les fonctions principales sont le transfert d'électrons et l'activation ou le transport de l'oxygène.[2] Comme exemples on peut citer le cytochrome-Coxydase, qui réduit l'oxygène en eau, et la superoxyde dismutase cuivre/zinc (SOD-Zn-Cu), qui convertit les radicaux anions superoxydes en peroxydes (Schéma 1).

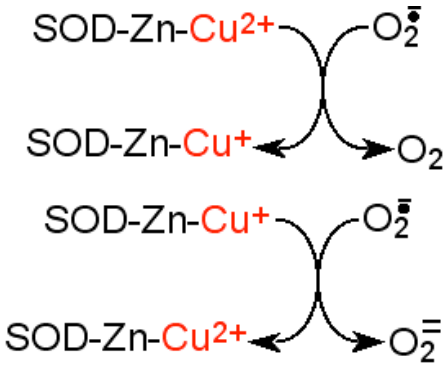


***Schéma 1**: Mécanisme d'oxydoréduction, au sein de la SOD à Cu et Zn.*

Le cuivre(II), comme le fer(III), est un métal pro-oxydant qui peut catalyser la réaction de Fenton (Schéma 2).[3]

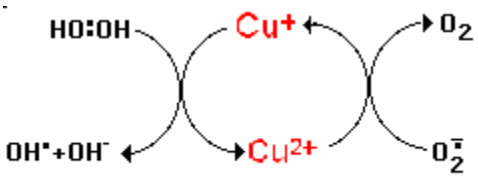


***Schéma 2:** Réaction de Fenton*

Un excès de cuivre peut être nocif puisqu'il conduit à une production importante d'espèces radicalaires de l'oxygène. Plusieurs pathologies sont liées à un désordre dans la concentration en cuivre : la maladie de Wilson est due à une surcharge en cuivre et se caractérise par une

accumulation du métal dans le foie et le cerveau.[4] Le cuivre semble aussi être impliqué dans la maladie d'Alzheimer.[5] La maladie de Menkes est, au contraire, liée à une carence en cuivre due à un défaut de l'absorption intestinale du cation.[4]

B- Le cadmium

Le cadmium est un métal de transition relativement rare et n'existe pas naturellement à l'état natif. Il est présent en très faible quantité dans la croûte terrestre où il est souvent associé aux minerais de zinc. Dans ce cas, le cadmium est considéré comme une impureté. Il existe naturellement à l'état d'oxydation +II et il est caractérisé par une sphère de coordination flexible.

Le cadmium rejeté dans l'atmosphère provient de sources naturelles et anthropiques. Le cadmium présent dans la croûte terrestre peut être dispersé dans l'air par entraînement de particules provenant du sol et par les éruptions volcaniques.[6] Les activités industrielles telles que le raffinage des métaux non ferreux, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères et la métallurgie de l'acier constituent les principales sources de rejet atmosphérique.[7]

L'absorption de cadmium se fait essentiellement par la nourriture. D'autres expositions importantes peuvent se produire chez les personnes qui vivent près des usines qui relâchent du cadmium dans l'air. Une inhalation de cadmium peut sérieusement endommager les poumons.

D'un point de vie métabolique, le cadmium est d'abord transporté jusqu'au foie par le sang. Là, il se lie aux protéines métallothionines (MTS). Ces protéines sont des protéines à faible poids moléculaire qui contiennent plusieurs atomes de soufre impliqués dans la formation de clusters à zinc(II) ou à cadmium(II) (Schéma 3).[8]

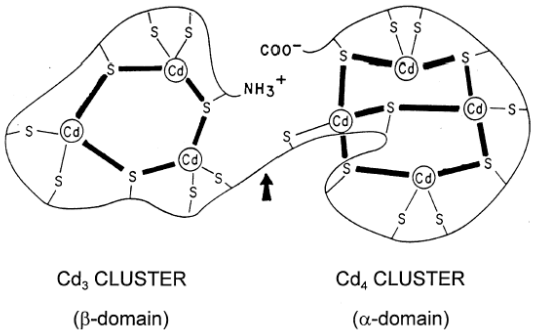


***Schéma 3** : Structure des poches à cadmium*

Le cadmium s'accumule dans les reins,[9] où il endommage en particulier les fonctions de filtration de l'organe. Son temps de rétention dans les reins est long. Les autres troubles associés à une accumulation de cadmium sont la perte de la masse osseuse, une chute de la fertilité masculine, des problèmes au niveau du système nerveux central ainsi que du système immunitaire.

Pour le dosage du cadmium les techniques les plus souvent utilisés sont la spectrométrie d'absorption atomique (SAA) et la spectrométrie d'émission de plasma inductif (ICP/OES). Les limites de détection pour le dosage de cet élément en solution sont habituellement de 1 mg/L pour la SAA avec flamme, de 2 mg/L pour la spectrométrie d'émission de plasma inductif employée seule et de 0,2 µg/L pour cette même technique couplée à la spectrométrie de masse.[10]

Références bibliographiques

[1] H.Tapiero, D. M. Townsend, K. D. Tew, *Biomed. Pharmacother.* **2003**, *57*, 386-398.

[2] R. R. Crichton, J. L. Pierre, *BioMetals* **2001**, 14, 99-112.

[3] Hirayama, K.; Yasutake, A**.** *J. Trace Elem. Exp. Med.* **1998**, 11, 209-217.

[4] B. Sarkar**,** *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2535-2544.

[5] T. Kowalik-Jankowska, M. Ruta-Dolejsz, K. Wisniewska, L. Lankiewicz, H. Kozlowski, *Environ. Health Perspect.* **2002**, 110, 869-870.

[6] J. O. Nriagu, *Natur* **1989**, *338,* 47-49.

[7] J. O. Nriagu, J. M. Pacyna, *Nature* **1988**, *333*, 134-139

[8] C. D. Klaassen, J. Liu, S. Choudhuri, *Annu. Reviews* **1999**, *39*, 267-294.

[9] H-J. Hartmann, U. Weser, *Biological Inorganic Chemistry Structure and Reactivity* **2007**, 156-162, J. H. R. Kägi, A. Schäffer, *Biochemistry* **1988**, *27*, 8509-8515.

[10] G.E.M. Hall, *J. Geochem. Explor.* **1992**,*44*: 201-249.