

Université Assane Seck de Ziguinchor



*UFR Sciences et Technologies
Département de Chimie*



Mémoire de Master

Spécialité : Synthèse Organique et Produits Naturels

ÉTUDE DE NOUVEAUX LIGANDS DANSYLIQUES: SYNTHÈSE, CARACTERISATION ET COMPLEXATION

Présenté par : **Bineta SÉNE**

Soutenu publiquement le 21 Novembre 2020 devant le jury composé de :

Président :-

Pr. Abdoulaye GASSAMA	Professeur Titulaire,	CAMES,	UASZ
-----------------------	-----------------------	--------	------

Rapporteur :

Dr Oumar SAMBOU	Assistant,	CAMES,	UASZ
-----------------	------------	--------	------

Examineurs :

Dr Mbaye DIAGNE MBAYE	Maître de Conférences,	CAMES,	UASZ
-----------------------	------------------------	--------	------

Dr Insa BADIANE	Assistant,	CAMES,	UASZ
-----------------	------------	--------	------

Directeur de stage :

Dr Mamadou LÔ	Maître Assistant,	CAMES,	UASZ
---------------	-------------------	--------	------

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

- ♥ *La mémoire de ma mère Fatou TINE. Que son âme repose en paix,*
- ♥ *Mon cher papa Ibrahima SENE, je te remercie au fond du cœur pour ton amour et ton soutien indéfectible ;*
- ♥ *Mes très chers frères et sœurs pour leurs encouragements ;*
 - ♥ *Mes chères frères et sœurs de l'ÆEMS ;*
 - ♥ *Mes oncles et mes tantes ;*
 - ♥ *Mes cousins et cousines ;*
- ♥ *Mes tutrices Khady GNING et Adama NDIAYE pour leur générosité ;*
 - ♥ *Mes enseignants, amis, ainsi que tous mes camarades de classes.*

Remerciements

Je tenais en premier lieu à rendre grâce à ALLAH de m'avoir aidé à surmonter toutes les difficultés lors de mes études.

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Chimie et Physique des Matériaux (LCPM) de l'Université Assane SECK de Ziguinchor (UASZ) et dirigé par Dr Mamadou LÔ, enseignant chercheur à l'Université de Ziguinchor. Je lui exprime ma profonde gratitude pour le soutien constant, sa disponibilité régulière. De plus, je tiens énormément à souligner ses qualités humaines, sa serviabilité et son enthousiasme, merci pour tout. J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté de présider ce travail : le Pr Abdoulaye GASSAMA, professeur titulaire à l'Université Assane SECK de Ziguinchor, le Dr Mbaye Diagne MBAYE, maître de conférences à l'Université Assane SECK de Ziguinchor, le Dr Oumar SAMBOU et le Dr Insa BADIANE, enseignants chercheurs à l'université Assane SECK de Ziguinchor qui m'ont guidé tout au long de notre formation universitaire. Vos qualités humaines, morales et scientifiques ont toujours été un exemple pour moi.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à tous les autres enseignants du département de chimie : Pr Chérif BALDE, Pr Magatte CAMARA, Dr Abdou Mbaye, Dr Saïdou Nourou DIOP, Dr Anastasie MANGA, Dr Papa Aly GAYE, d'avoir participé à ma formation universitaire sans oublier Mme Fatoumata Mbarké Soumaré CAMARA, technicienne supérieure au laboratoire de chimie de l'Université Assane SECK de Ziguinchor.

Je tiens également à remercier mes camarades de classe pour les bons moments passés ensemble ainsi que pour leur soutien et sympathie et à l'ensemble des doctorants chimistes particulièrement à Ibrahima Paka MANGA, à Daouda NDIAYE et au Dr Albert BADIANE pour leur disponibilité.

Enfin je veux dire merci à toute ma famille, surtout à mes parents, mes frères et sœurs. Pour leur soutien tout au long de ces années. Soyez rassurés de ma profonde gratitude.

Table des matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Liste des figures	v
Liste des schémas	vi
Liste des tableaux	vi
Sigles et abréviations	vii
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS ET RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I-Marqueurs fluorescents	2
I-1 Applications divers	2
I-2 Familles des fluorophores	3
I-2-1 Fluorophores organiques	3
I-2-2 Fluorophores inorganiques	4
I-2-3 Fluorophores organométalliques	5
I-3 Généralité sur le dansyle	5
I-4 Les domaines d'application	6
I-4-1 En chimie	6
I-4-2 Dans le domaine biologique et biomédical	6
I-4-3 Détection d'ions	7
I-4-4 Comme agent potentiel dans le domaine de l'apoptose	7
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	
II-1 Présentation du travail	9
II-1-1 Mécanisme de formation d'une imine	9
II-2 Synthèses et caractérisations	10
II-2-1 Préparation de l'imine 1	10
II-2-1-1 Le spectre de carbone de l'imine 1	10
II-2-1-2 Le spectre de DEPT 135 de l'imine 1	12
II-2-1-3 Spectre HSQC de l'imine 1	13
II-2-1-4 Spectroscopie RMN ¹ H de l'imine 1	14
II-2-1-5 Spectre COSY de l'imine 1	15
II-2-1-6 Spectre HMBC de l'imine 1	16
II-2-1-7 Le spectre NOESY de l'imine 1	17
II-2-1-8 Spectroscopie de masse de l'imine 1	18
II-2-2 Préparation de l'imine 2	19

Sommaire

II-2-2-1 Caractérisation de l'imine 2	19
II-2-2-2 Spectroscopie de carbone de l'imine 2	19
II-2-2-3 La spectroscopie RMN ^1H de l'imine 2	22
II-3 Etudes de la complexation de nos ligands.....	23
II-3-1 Complexation métallique	23
II-3-2 Complexation par méthode UV-visible.....	24
II-3-2-1 Définition	24
II-3-2-2 Principe	24
II-3-3 Le dosage par UV-visible.....	25
II-3-3-1 Principe	25
II-3-3-2 Domaines d'application	25
II-3-4 Caractérisation par l'UV-visible	26
II-3-4-1 L'UV-Visible de l'imine 1	26
II-3-4-2 Complexation de l'imine 1 avec des métaux	26
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	31
PARTIE III : PARTIE EXPERIMENTALE.....	
III-1 Matériels et réactifs	32
III-1-1 Matériels de synthèse	32
III-1-2 Les réactifs, solvants et catalyseurs utilisés.....	32
III-2 Analyses spectroscopiques	33
III-2-1 Spectroscopie ultraviolette.....	33
III-2-2-Principe de la spectroscopie RMN ^1H	34
III-2-3 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	34
III-3-Mode opératoire	35
III-3-1 Synthèse du dansylhydrazine	35
III-3-2 Synthèse de l'imine 1	35
III-3-3-Synthèse de l'imine 2	36
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	37

Liste des figures

Figure 1 : Deux espèces minérales naturellement fluorescentes	2
Figure 2 : Exemples de fluorophores organiques	4
Figure 3: Exemples de fluorophores organométalliques	5
Figure 4: Quelques molécules de la famille du dansyle et la structure d'un hydrazone	6
Figure 5: Structure de l'imine 1	10
Figure 6: Spectre de carbone de l'imine 1	12
Figure 7: Spectre DEPT de l'imine 1	13
Figure 8: Spectre HSQC de l'imine 1	14
Figure 9: Spectre 1H de l'imine 1	15
Figure 10: Spectre COSY de l'imine 1	16
Figure 11: Spectre HMBC de l'imine 1	17
Figure 12 : Spectre NOESY de l'imine 1	18
Figure 13: Corrélation de la liaison hydrogène dans l'espace.....	18
Figure 14: Spectroscopie de masse de l'imine 1	19
Figure 15: Structure de l'imine 2	20
Figure 16: Spectre RMN de ^{13}C de l'imine 2	21
Figure 17: Spectre DEPT de l'imine 2	21
Figure 18: Spectre HSQC de l'imine 2	22
Figure 19: Spectre RMN du ^1H de l'imine 2	22
Figure 20: Spectre COSY de l'imine 2	23
Figure 21: Principe d'un UV-visible	25
Figure 22: Spectre UV de l'imine 1 dans l'éthanol absolu	26
Figure 23: Spectre UV-visible du dosage de l'imine 1 avec les ions Mn^{2+}	27
Figure 24: Spectre UV-visible du dosage de l'imine 1 avec les ions Ni^{2+}	27
Figure 25: Spectre UV-visible du dosage de l'imine 1 avec les ions Cu^{2+}	27
Figure 26: Spectre UV-visible du dosage de l'imine 1 avec les ions Zn^{2+}	28
Figure 27: Spectre UV-visible du dosage de l'imine 1 avec les ions Fe^{2+}	28
Figure 28 : La fluorescence de l'imine 1 avec l'UV	30
Figure 29: Montage d'un chauffage à reflux d'une réaction.....	32
Figure 30: Spectroscopie UV-visible	33
Figure 31: Principe de la spectroscopie de RMN à 1 dimension	34
Figure 32: Méthode utilisé pour une CCM	35

Liste des schémas

Schéma 1: Réaction de formation d'une sonde	7
Schéma 2: Réaction de formation du dansylhydrazone	8
Schéma 3: Réaction globale de synthèse des imines.....	9
Schéma 4: Mécanisme général de la formation des imines	9

Liste des tableaux

Tableau 1 Les principaux changements lors du dosage	29
Tableau 2 : Liste des Réactifs	32
Tableau 3: Liste des solvants et catalyseurs.....	33

Sigles et abréviations

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

COSY: Correlation Spectroscopy

DEPT- 135: Distortionless Enhancement by Polarisation Transfert

NOESY: Nuclear Overhauser Spectroscopy

DMSO: Diméthyl sulfoxyde

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

Ppm: Partie par million

THF: tétrahydrofurane

EDAC : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide

CCD: Charge-Coupled Device

L: ligand

M: métal

INTRODUCTION

L'intérêt pour la chimie des composés fluorescents en hydrazones a connu un développement fulgurant pendant ces dernières années, notamment grâce à leur activité biologique^{1,2}.

De plus, la recherche en synthèse organique dans ce domaine s'est dirigée d'une part vers le développement de nouvelles méthodologies de synthèse permettant l'obtention de nouveaux ligands fluorescents qui sont très actifs dans le domaine biologique, physico chimique mais également dans le domaine biomédicale.

Ces ligands fluorescents peuvent aussi avoir un vaste domaine d'application telle que le traitement des eaux à cause de leur grande capacité de complexation avec des métaux de transition notamment dans la récupération des métaux lourds dans les effluents nocifs industriels ou des éléments radioactifs dans les déchets nucléaires³.

Dans cette optique, notre travail s'est orienté sur la synthèse de molécules fluorescentes à partir du chlorure de dansyle et d'étudier leurs capacités à complexer quelques métaux de transition.

Ainsi, ce mémoire est subdivisé en trois chapitres, à savoir :

- ✚ Le premier chapitre sur l'étude bibliographique sur les marqueurs fluorescents et quelques travaux effectués sur les composés dansyliques et leurs applications dans le domaine biologique et physicochimique.
- ✚ Dans le second chapitre nous décrivons la synthèse de nos ligands à partir du chlorure de dansyle, leur caractérisation par spectroscopies RMN (¹H, ¹³C, COSY, HMBC, HSQC et NOESY) et par spectroscopie de masse, ainsi que l'étude de complexation d'une partie des ligands avec des ions métalliques.
- ✚ Enfin, une troisième partie décrivant le procédé de synthèse des différents produits par les différentes techniques et le dispositif expérimental utilisé.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS ET RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I-Marqueurs fluorescents

Le phénomène de fluorescence correspond à un processus dans lequel un atome absorbe de l'énergie, généralement de la lumière à une certaine longueur d'onde, et réémet immédiatement (ou dans un intervalle de quelques nanosecondes) à une autre longueur d'onde⁴.

Les molécules qui fluorescent sont en majorité cycliques et rigides. On les appelle « des fluorophores » ou « fluorochromes ». Ceux-ci sont caractérisés par plusieurs paramètres tels que :

- Les longueurs d'onde de leurs pics d'excitation et d'émission ;
- La durée de vie de leur état excité ;
- L'efficacité de leur fluorescence (c'est-à-dire le nombre de photons émis rapporté au nombre de photons absorbés).

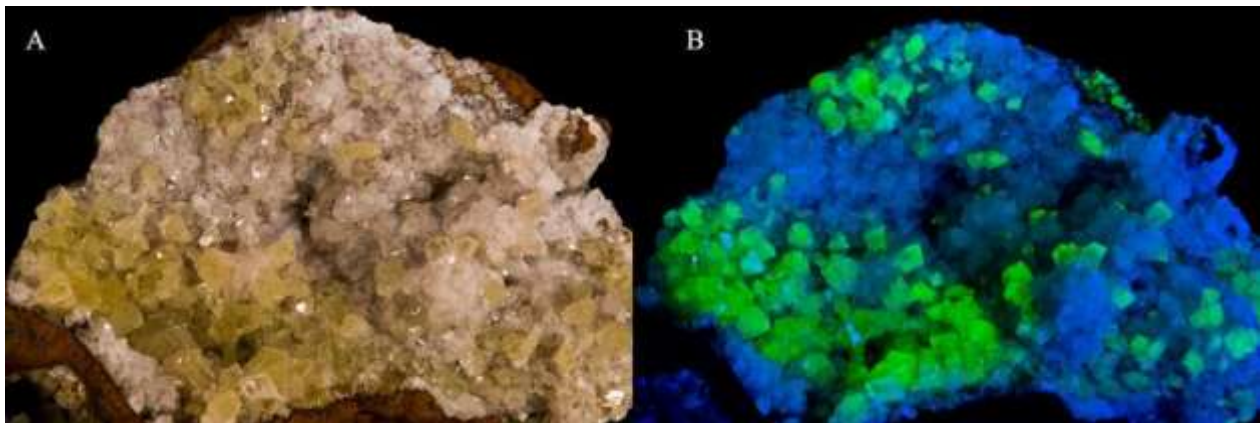


Figure 1 : Deux espèces minérales naturellement fluorescentes⁵

Cependant, sa mesure peut être envisagée en termes de spectroscopie et de microscopie optique. La spectroscopie de fluorescence en général s'est donc avérée être une méthode de détection efficace et relativement accessible pour résoudre des problèmes analytiques complexes dans des domaines tels que les sciences de l'environnement et pour le diagnostic médical. Dans le cadre d'applications biologiques, l'utilisation de marqueurs fluorescents est une technique d'analyse qui permet la détection et le suivi en temps réel d'espèces d'intérêt biologique.

I-1 Applications divers

La fluorescence est une émission lumineuse très sensible, car de petites modifications de l'environnement du fluorophore induisent à des modifications des caractéristiques de la fluorescence. Par ailleurs, toutes les techniques qui utilisent la lumière ont l'avantage de pouvoir être utilisées in situ (pas de nécessité de prélever un échantillon) et de donner une réponse

Chapitre I : Généralités et Rappels Bibliographiques

immédiate⁶. Mais aussi du fait que la fluorescence se traduit généralement par l'émission de lumière visible à partir d'une source d'énergie invisible (ultraviolets), les objets fluorescents paraissent plus lumineux que des objets de même teinte, mais non fluorescents. Cette propriété est utilisée par les vêtements à haute visibilité et par les peintures anticollisions de couleur orange dont on peint, par exemple, certaines parties des avions, mais aussi dans un simple but esthétique comme les vêtements. Elle permet de convertir les rayons en lumière visible pour l'œil ou un dispositif à transfert de charge (CCD)⁷, pour l'imagerie, mais aussi de caractériser les matériaux, en spectrométrie de fluorescence des rayons X.

La fluorescence est également utilisée dans d'autres techniques d'imagerie médicale comme la tomographie optique qui diffuse de la lumière permettant de récupérer les fluorures présents dans un tissu biologique.

I-2 Familles des fluorophores

Cette partie contient un aperçu des différents types de fluorophores et leurs applications. Les fluorophores peuvent être largement divisés en trois classes principales :

I-2-1 Fluorophores organiques

L'utilisation des fluorophores organiques au cours du siècle dernier a considérablement amélioré nos connaissances et notre compréhension dans les systèmes biologiques⁸. Ils ont été utilisés pour colorer des compartiments cellulaires⁹, pour la détection du pH et des analyses in vitro dans des cellules vivantes¹⁰, et pour détecter les interactions intermoléculaires via des changements dans les propriétés d'excitation et d'émission des fluorophores².

Ils ont également été utilisés comme réactifs essentiels pour l'immunofluorescence, ainsi qu'une multitude d'outils de diagnostic médical^{2,3}. Dans chaque application, le choix du fluorophore s'avère primordial pour la réussite du résultat.

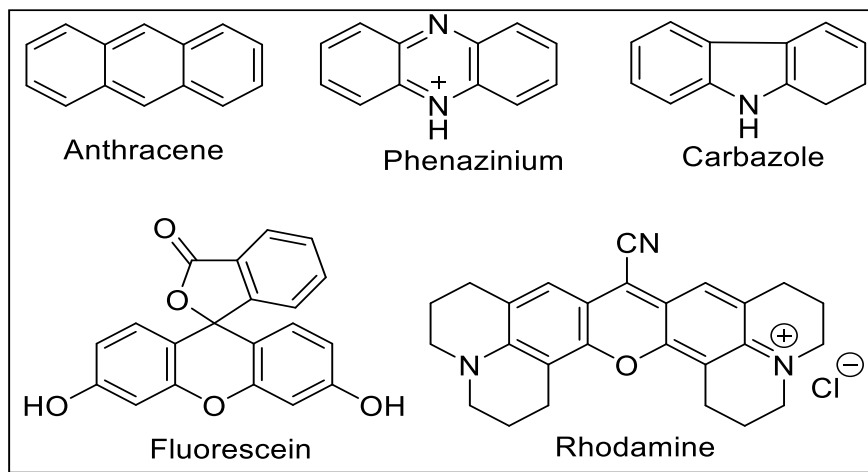


Figure 2 : Exemples de fluorophores organiques

I-2-2 Fluorophores inorganiques

Les nanoparticules inorganiques ont été les plus largement étudiées depuis le début du développement des nanosciences. Les nanostructures inorganiques telles que les quantum dots, les nanoparticules magnétiques qui ont fait l'objet de nombreuses publications.

➤ Les quantum dots

Les quantum dots (QDs) sont des particules brillantes de taille nanométrique composées de matériaux semi-conducteurs tels que le sélénure de cadmium et le sulfure de cadmium^{11,12,13}. Ils sont utilisés dans la préparation de dispositifs nanométriques comme les diodes électroluminescentes, les cellules solaires, les sondes chimiques, les photodétecteurs, les systèmes de stockage des informations. Les QDs sont généralement composés d'une structure cœur / coquille, par exemple CdSe / ZnS. Cet enrobage du cœur CdSe par du ZnS permet d'améliorer le rendement de fluorescence et d'assurer la stabilité chimique et photochimique du système. Ces systèmes cœur / coquille peuvent être également enrobés avec des polymères hydrosolubles ou être fonctionnalisés avec des molécules bioactives pour des applications dans le domaine de la biologie¹⁴. Cependant, l'utilisation des quantum dots à des fins médicales (in vivo) reste limitée par leur toxicité non négligeable due à la présence de métaux lourds tels que Cd, Se¹⁵

➤ Nanoparticules magnétiques

Les nanoparticules magnétiques constituent une autre catégorie de nanoparticules inorganiques intensément étudiées. Par exemple, les nanocristaux d'oxydes de fer possédant des propriétés super paramagnétiques sont utilisés comme agents de contraste dans l'imagerie par résonance

magnétique (après avoir subi des modifications de surface pour améliorer leur biocompatibilité ou aussi leur spécificité pour une cible particulière)^{16,17,18}. Elles ont aussi donné lieu à des applications dans le domaine de la catalyse ou de l'environnement (dépollution). Leur principal problème réside dans leur instabilité intrinsèque et leur grande réactivité chimique nécessitant par conséquent des efforts supplémentaires.

I-2-3 Fluorophores organométalliques

Les complexes organométalliques (complexes de métaux de transition et complexes d'ions lanthanide) présentent d'une manière générale des rendements quantiques d'émission plus faibles que les fluorophores organiques mais sont caractérisés par une très longue durée d'émission à température ambiante.

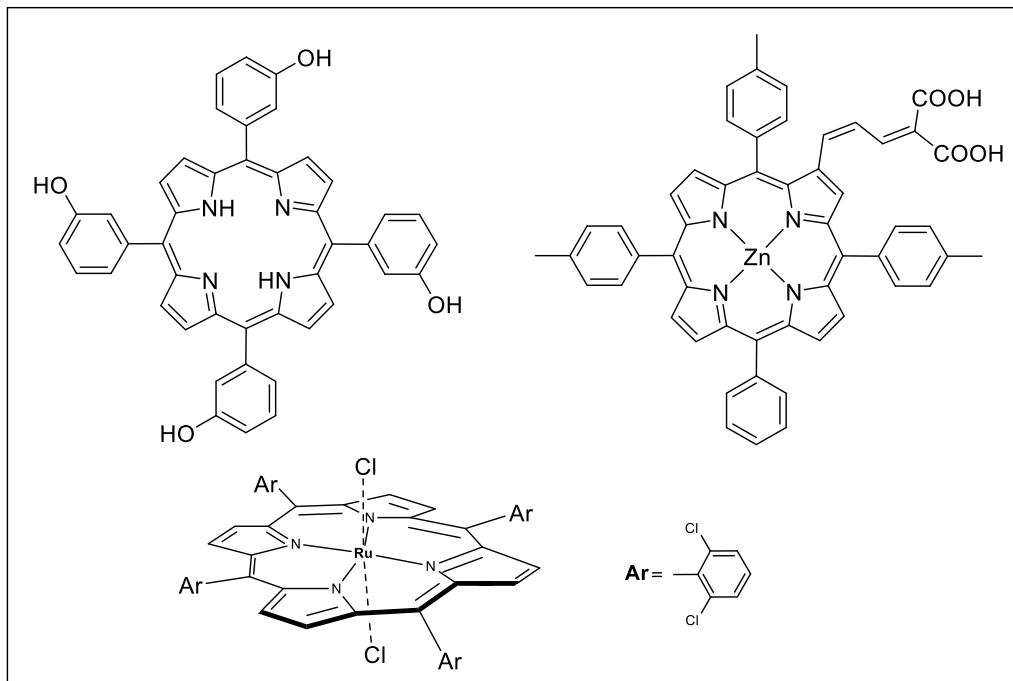


Figure 3: Exemples de fluorophores organométalliques

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés uniquement aux fluorophores organiques plus particulièrement aux fluorophores dérivant du dansyle.

I-3 Généralité sur le dansyle

Le chlorure de dansyle ou le chlorure de 5- (diméthylamino)naphtalène-1-sulfonyl est une substance chimique qui réagit par substitution nucléophile d'ordre 2 (SN2) avec les amines primaires aliphatiques et aromatiques pour produire des adduits sulfonamides fluorescents. Il peut

Chapitre I : Généralités et Rappels Bibliographiques

également être amené à réagir avec des amines secondaires. Il est l'un des dérivés de sulfonamide les plus simples, il sert donc généralement de réactif de départ pour la production d'autres dérivés comme le dansylhydrazine. La condensation de cette dernière avec des groupes carbonyle en hydrazones et leur réduction ultérieure à des dérivés d'hydrazine fluorescents stables a été utilisée comme sonde fluorescente. Le chlorure de dansyle peut amener aussi à modifier les acides aminés, en particulier, le séquençage des protéines et l'analyse des acides aminés^{19,20}.

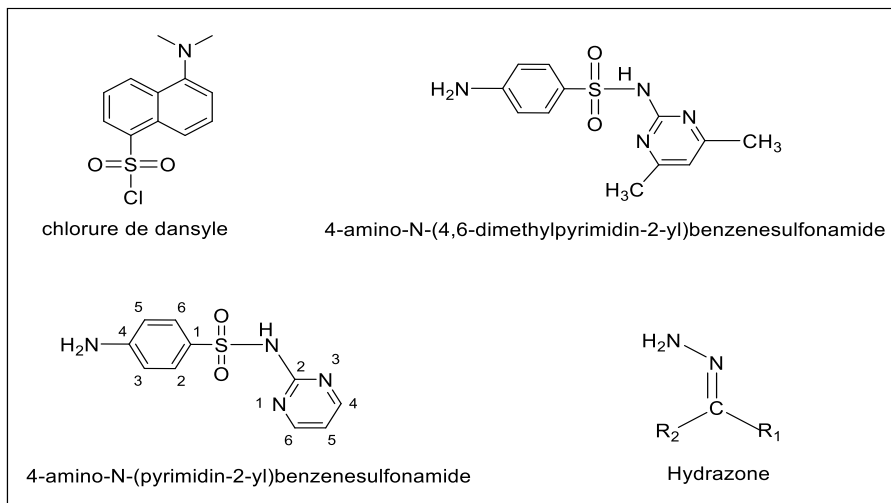


Figure 4: Quelques molécules de la famille du dansyle et la structure d'un hydrazone

I-4 Les domaines d'application

I-4-1 En chimie

Le dansylhydrazine est un colorant organique aux propriétés fluorescentes. L'amine aliphatique primaire du dansylamine peut être couplée de manière réversible à des aldéhydes et des cétones pour former une base de Schiff qui peut être réduite pour générer un dérivé d'amine stable²¹. De plus, les acides carboxyliques des protéines et d'autres biopolymères hydrosolubles peuvent être couplés à cette molécule en solution aqueuse en utilisant des carbodiimides hydrosolubles tels que le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDAC). Ce fluorophore est lipophile et sensible à l'environnement.

I-4-2 Dans le domaine biologique et biomédical

La plupart des sondes fluorescentes disponibles pour des applications biologiques et biomédicales sont des molécules organiques (fluorophores) comme le dansylhydrazine. Il suffit pour cela de se reporter au catalogue "Molecular probes"²² qui met à la disposition des biologistes et biochimistes des biomarqueurs fluorescents, souvent fonctionnalisés mais à des prix souvent

Chapitre I : Généralités et Rappels Bibliographiques

dissuasifs. Cependant, ces fluorophores souffrent encore de quelques défauts qui diminuent leur champ d'action dans le domaine de la biologie comme le fait que leurs bandes d'absorption et d'émission sont très proches en énergie, leur sensibilité à « l'autoquenching » qui limite le nombre de sondes fluorescentes que l'on peut conjuguer à un vecteur biologique, mais aussi leur sensibilité au phénomène de photoblanchiment, qui est un processus irréversible de destruction de la molécule fluorescente lors d'une exposition prolongée aux rayonnements .

I-4-3 Détection d'ions

Chang et ses collaborateurs ont travaillé sur une sonde sulfonylhydrazide obtenu par amidification entre la rhodamine et le dansylhydrazine (schéma 1) dans le but de construire un système ratiométrique polyvalent pour la détection sélective de l'ion hypochlorite²³.

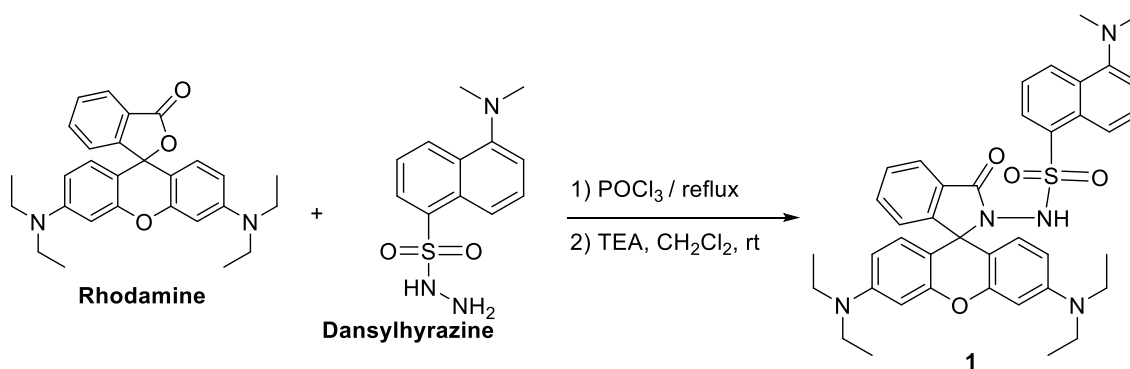


Schéma 1: Réaction de formation d'une sonde

Ainsi, les études du composé 1 en fluorescence ont montré qu'il détecte sélectivement les ions hypochlorites par rapport aux autres oxydants usuels tels que l'eau oxygénée, l'acide peracétique et le persulfate d'ammonium. La limite de détection de l'ion hypochlorite a été estimée $1,13 \cdot 10^{-6}$ M par Chang et ses collaborateurs.

I-4-4 Comme agent potentiel dans le domaine de l'apoptose

Wall et ses collaborateurs ont travaillé pour développer un traceur à base de petites molécules pour l'imagerie de l'apoptose.^{24,25} Le dansylhydrazone utilisé (DFNSH) a été synthétisée en moins de 30 min par condensation du dansylhydrazine avec du 4-fluorobenzaldéhyde (schéma 2).

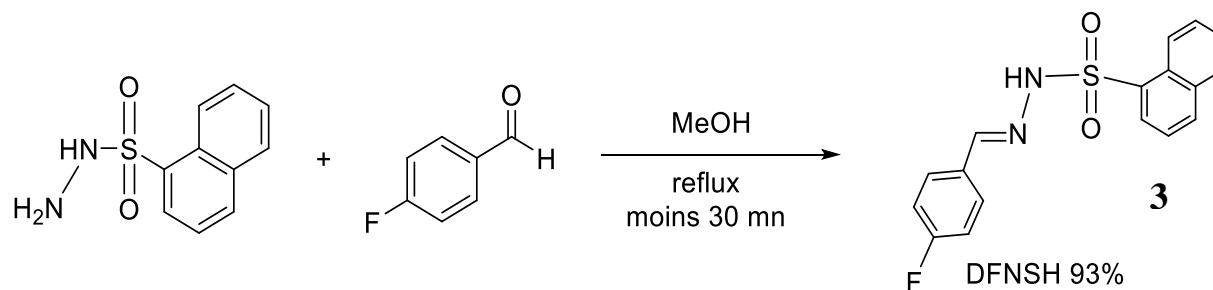


Schéma 2: Réaction de formation du dansylhydrazone

L'évaluation biologique de cette molécule a montré qu'elle s'est lié sélectivement aux cellules cancéreuses apoptotiques induites par le paclitaxel^{26,27,28}. Elle est aussi utilisée pour l'imagerie apoptose in vivo qui est un outil potentiellement puissant pour le diagnostic des accidents vasculaires cérébraux, infarctus du myocarde et une gamme de troubles neurodégénératifs^{29,30,31,32,33,34,35}.

D'après toutes les analyses RMN faites au composé **3**^{36,37,38,39} ils ont obtenu un produit purement radiochimique avec un rendement de 93%.

En résumé, il existe une littérature très riche et variée sur l'intérêt de la synthèse des composés fluorescents, leurs complexes de métaux de transition, leur stabilité et leur efficacité, offrent à ses composés des applications potentielles dans divers domaines, ce qui fait que leur synthèse ne cesse de s'accroître.

Ainsi, dans le chapitre suivant nous allons aborder la synthèse et la caractérisation spectroscopique des ligands que nous avons obtenus et leur application dans la détection de quelques métaux de transition.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II-1 Présentation du travail

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la synthèse de deux ligands iminiques obtenus par condensation acido-catalysée entre le dansylhydrazine d'une part avec le 2-hydroxynaphtaldéhyde qui va aboutir à l'imine **1** et d'autre part avec le 2-pyridinecarbaldéhyde pour donner l'imine **2**. Le schéma suivant illustre la séquence réactionnelle globale de la formation de ces imines.

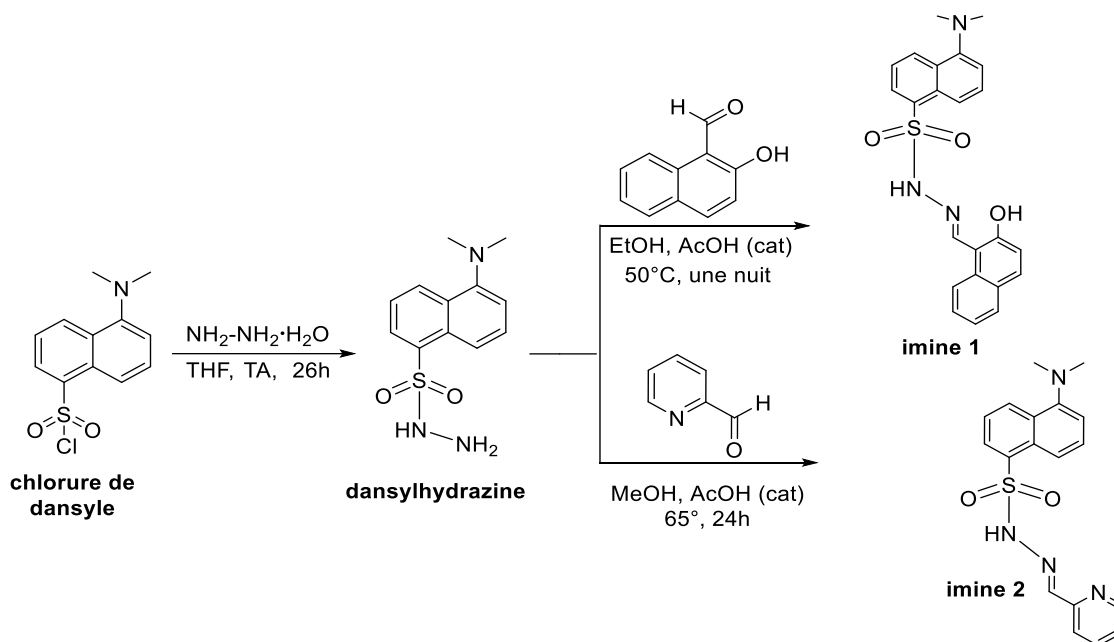
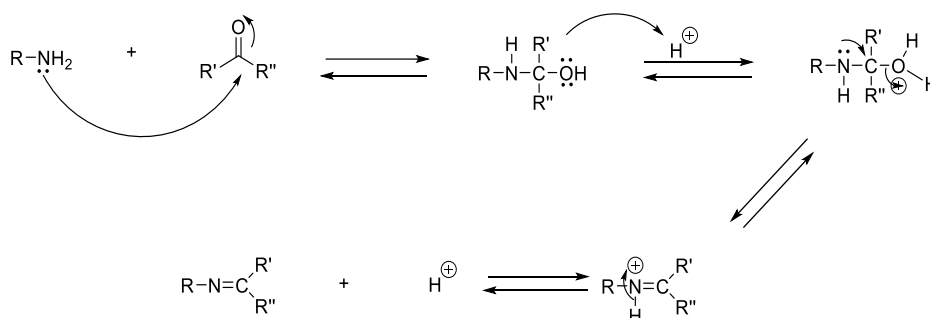


Schéma 3: Réaction globale de synthèse des imines

II-1-1 Mécanisme de formation d'une imine

La formation d'une imine est une séquence de deux réactions, une addition nucléophile suivie d'une élimination d'eau comme illustrées dans le schéma ci-dessous :



Dans la première étape, l'amine réagit avec la cétone ou l'aldéhyde pour donner un intermédiaire instable : le carbinolamine (schéma 4). Dans la seconde étape, le carbinolamine subit une

déshydratation catalysée par l'acide pour donner l'imine. La concentration en acide ne doit pas être trop élevée car les imines sont des composés basiques. Si l'amine est protonée, il perd sa nucléophilie et l'équilibre sera déplacé vers le sens inverse de la formation du carbinolamine. C'est dire la formation des produits de départ. Par conséquent, la synthèse des imines est réalisée à pH acide doux⁴⁰.

II-2 Synthèses et caractérisations

Cette partie décrit la synthèse et la détermination structurale des produits obtenus à partir du dansylhydrazine. Cette détermination de structure sera basée, dans le cas de nos études sur l'analyse des spectres fournis par les spectroscopies RMN(¹D et ²D) et masse. Ce qui nous permettra de confirmer l'obtention ou non des imines ciblées.

II-2-1 Préparation de l'imine 1

Ce composé a été obtenu par condensation du dansylhydrazine sur le 2-hydroxynaphthaldehyde dans l'éthanol absolu en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique. Il a été obtenu avec un rendement de 43% et caractérisé par spectroscopies RMN(¹D et ²D) et par spectroscopie de masse. Le produit obtenu par cette réaction est celui qui est représenté ci-dessous.

II-2-1-1 Le spectre de carbone de l'imine 1

Nous présentons ici la démarche adoptée pour caractériser la formation de l'imine 1 (figure 5) :

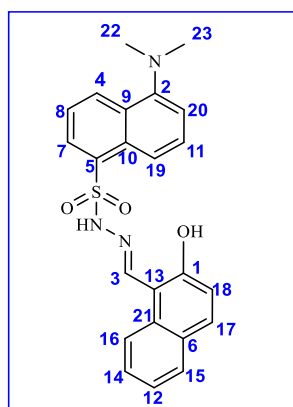


Figure 5: Structure de l'imine 1

- Pour déterminer cette structure nous commençons d'abord par une analyse du spectre de carbone (figure 6) en numérotant tous les pics des carbones en commençant par le carbone le plus déblindé de manière décroissante (c'est un choix délibéré);
- Analyser le spectre DEPT-135 (figure 7);

- Numéroté les spectres ^2D hétéronucléaires (C-H) HSQC, permettant l'attribution de tous les protons du spectre ^1H ;

NB : Le numéro attribué au carbone est le même qui est attribué aux protons dont il est directement lié.

- Attribuer les mêmes numéros obtenus précédemment aux protons des spectres COSY (figure 10) et NOESY (figure 12) permettant d'obtenir les différents fragments appartenant à la même molécule ;
- Attribuer les mêmes numéros aux spectres : HMBC (figure 10) permettant d'attribuer les quaternaires.

Le spectre du carbone permet de déterminer le nombre de carbones présents dans la molécule. Ainsi, l'analyse du spectre de carbone de l'imine **1** montre la présence de 23 carbones parmi lesquels nous pouvons identifier :

- Le carbone C1 le plus déblindé du spectre qui résonne vers 158,47 ppm correspondant au carbone phénolique ;
- Les carbones C2 et C3 qui résonnent vers les 152,15 et 149,18 ppm qui correspondent au carbone qui porte l'azote sur le noyau dansylique et celui de l'imine respectivement ;
- Un groupe de carbone aromatique (dansylique et naphtalénique) entre 133,37 et 132,43 ppm ;
- Les CH_3 qui résonnent vers les 45,45 ppm correspond aux méthyles liés à l'atome d'azote

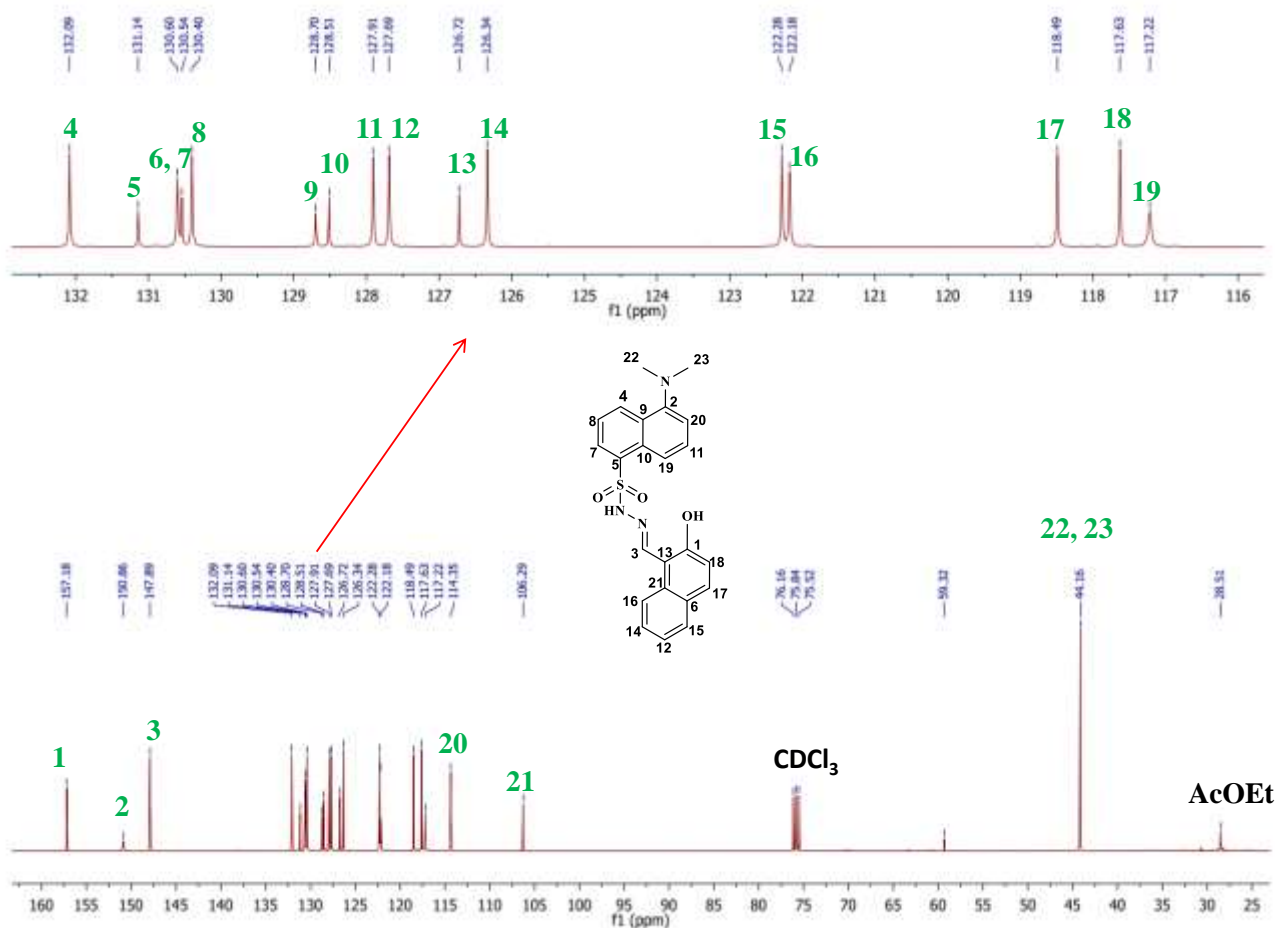


Figure 6: Spectre de carbone de l'imine 1

II-2-1-2 Le spectre de DEPT 135 de l'imine 1

Le spectre ¹D du DEPT-135 permet de déterminer le nombre de CH, CH₃ et CH₂. Cependant, dans le cas de l'imine 1 nous pouvons identifier l'absence de groupement CH₂. Ainsi, dans le spectre de DEPT-135 nous avons identifié 13 CH dans la zone aromatique et 2 CH₃ correspondants aux méthyles liés à l'atome d'azote sur le dansyle, ainsi on peut déduire que les huit carbones qui n'apparaissent pas dans le spectre DEPT-135 sont des carbones quaternaires.

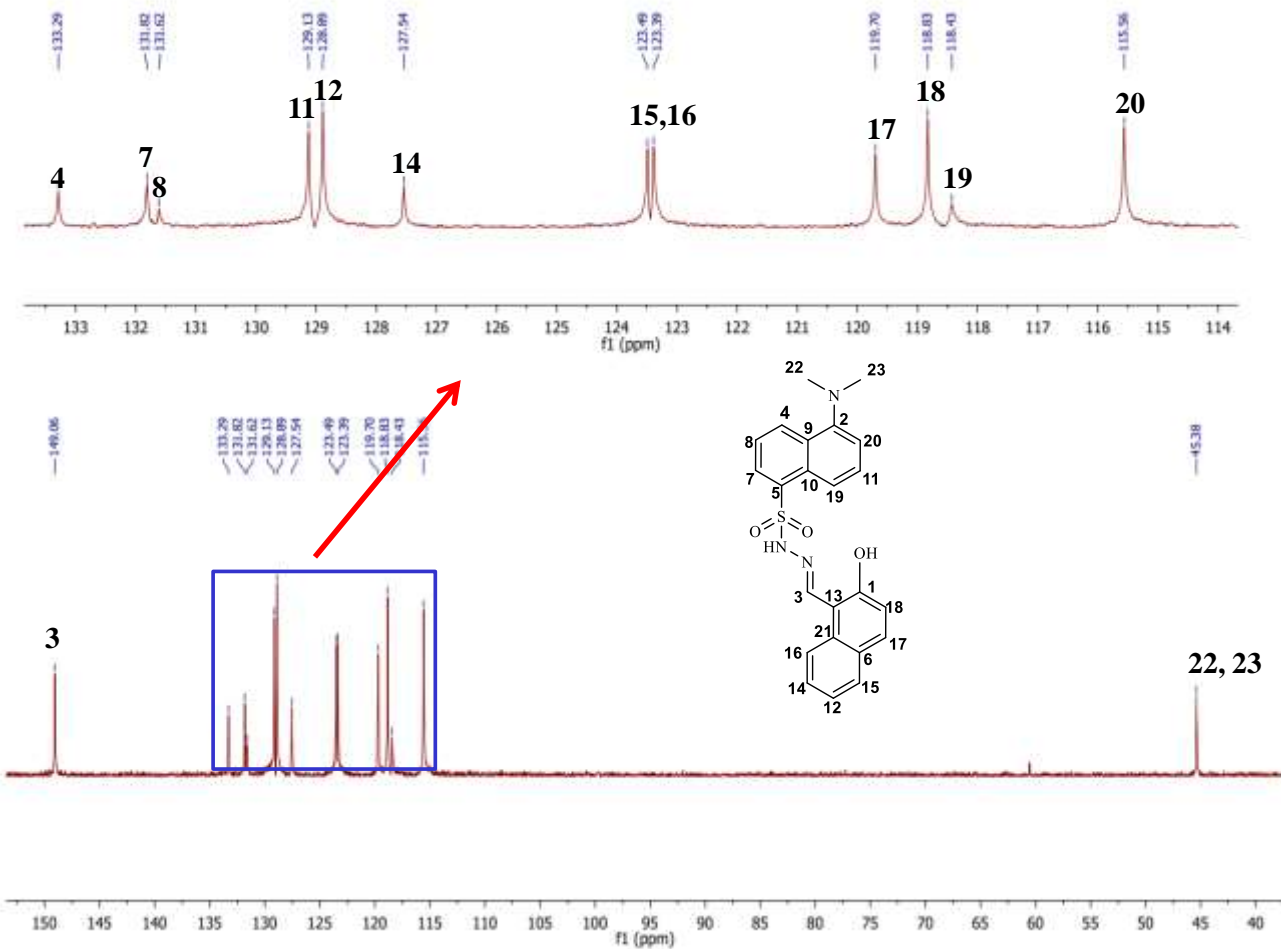


Figure 7: Spectre DEPT de l'imine 1

II-2-1-3 Spectre HSQC de l'imine 1

Le spectre ²D HSQC est un couplage scalaire hétéronucléaire permettant de relier les spectres ¹D du proton et du carbone et d'identifier tous les carbones protonés. L'analyse du spectre HSQC nous a permis de détecter les couplages de protons et des carbones suivants : C3/H3, C7/H7, C8/H8, C19/H19, C4/H4, C11/H11, C12/H12, C16/H16, C17/H17, C14/H14, C15/H15, C18/H18 et C20/H20.

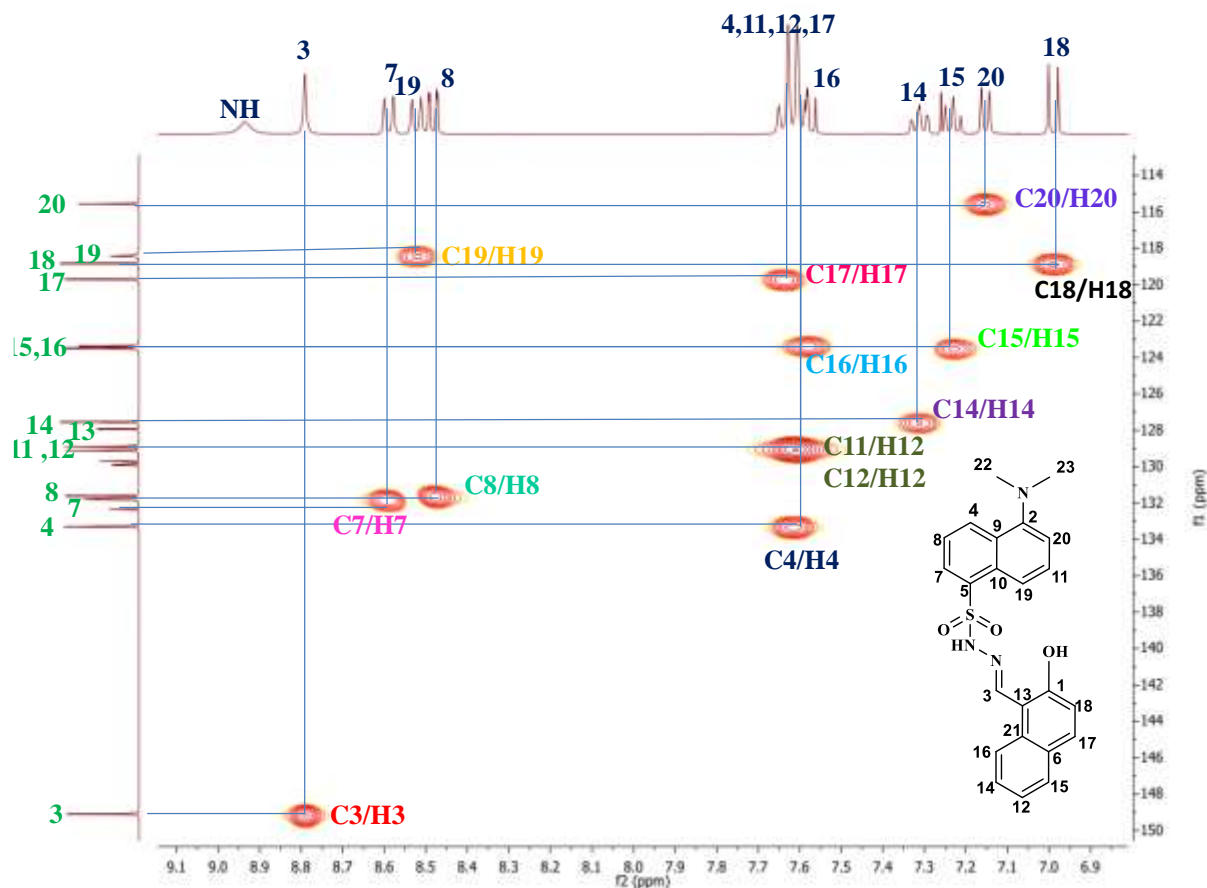


Figure 8: Spectre HSQC de l'imine 1

II-2-1-4 Spectroscopie RMN ^1H de l'imine 1

Dans ce spectre, le proton à 11,23 ppm et le proton à 8,94 ppm tous deux des singulet qui sont les plus déblindés du spectre sont attribués respectivement aux protons de l'alcool phénolique (H1) et celui du NH. Le singulet à 8,79 ppm est attribué au proton H3 de l'imine, de même que les trois signaux dans la même zone à 8,59 (dt, $j=8,5$; 1,0 Hz ; 1H) ; 8,52 (d, $j=8,6\text{Hz}$, 1H) ; 8,48(dd, $j=7,4$; 3Hz, 1H) sont attribués aux protons H7 ; H19 et H8 appartenant au noyau dansylique. Un signal d'intégrale 5H entre 7,68-7,54ppm (m, 5H) correspondant au mélange de proton H4, H11, H12, H16 et H17 appartenant aux deux noyaux aromatiques.

Quatre doublets dans la même zone aussi intégrant chacun pour 1 H correspondant aux protons H14, H15, H20 et H18 respectivement à 7,31 ppm ; 7,23 ppm ; 7,18 ppm et 6,99 ppm. En fin, un singulet à 2,83 ppm intégrant pour 6 H est attribué aux deux méthyles liés à l'azote dansylique qui sont les plus blindés du spectre.

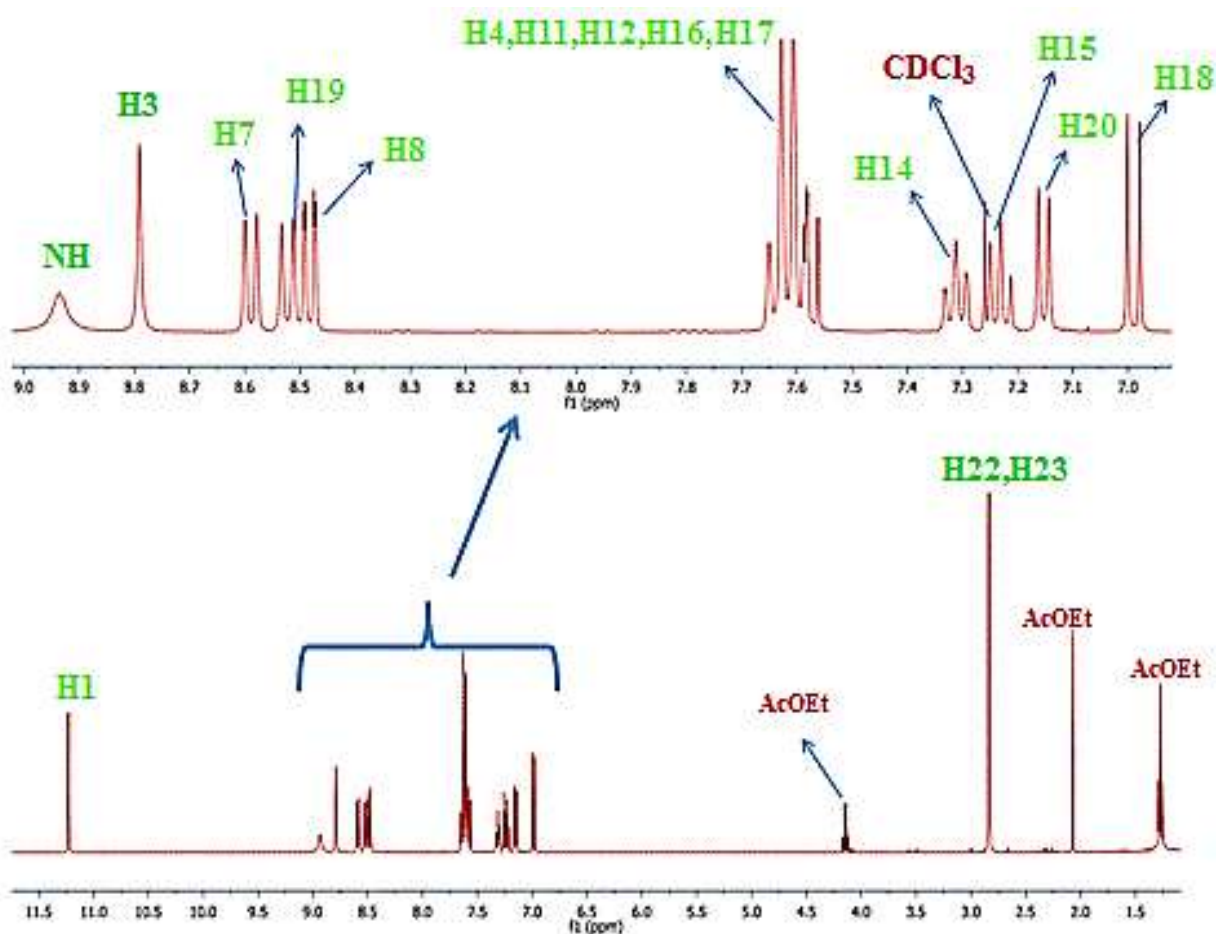


Figure 9: Spectre ^1H de l'imine 1

II-2-1-5 Spectre COSY de l'imine 1

Le spectre ^2D COSY permet de connaître la relation de voisinage entre deux protons couplés par un ^3J . Ainsi, sur le spectre COSY ^1H - ^1H , on repère les deux groupes de protons dont ceux du noyau dansylique et du noyau naphthalénique. Le proton le plus déblindé du spectre COSY est attribué au proton H7 qui appartient au noyau dansylique. Cela nous a permis de confirmer que tous les protons qui couplent avec ce proton appartiennent tous au même noyau. D'autre part le proton H18 qui est le plus blindé des protons aromatiques à 6,99 ppm couple avec H17. Les autres corrélations observées sont les suivantes :

- le proton H14 du carbone C14 couple avec le proton H16 ;
- le proton H15 couple avec le proton H12;
- le proton H7 couple avec le proton H8 ;
- le proton H20 couple avec le proton H11 et ce dernier couple avec H19;

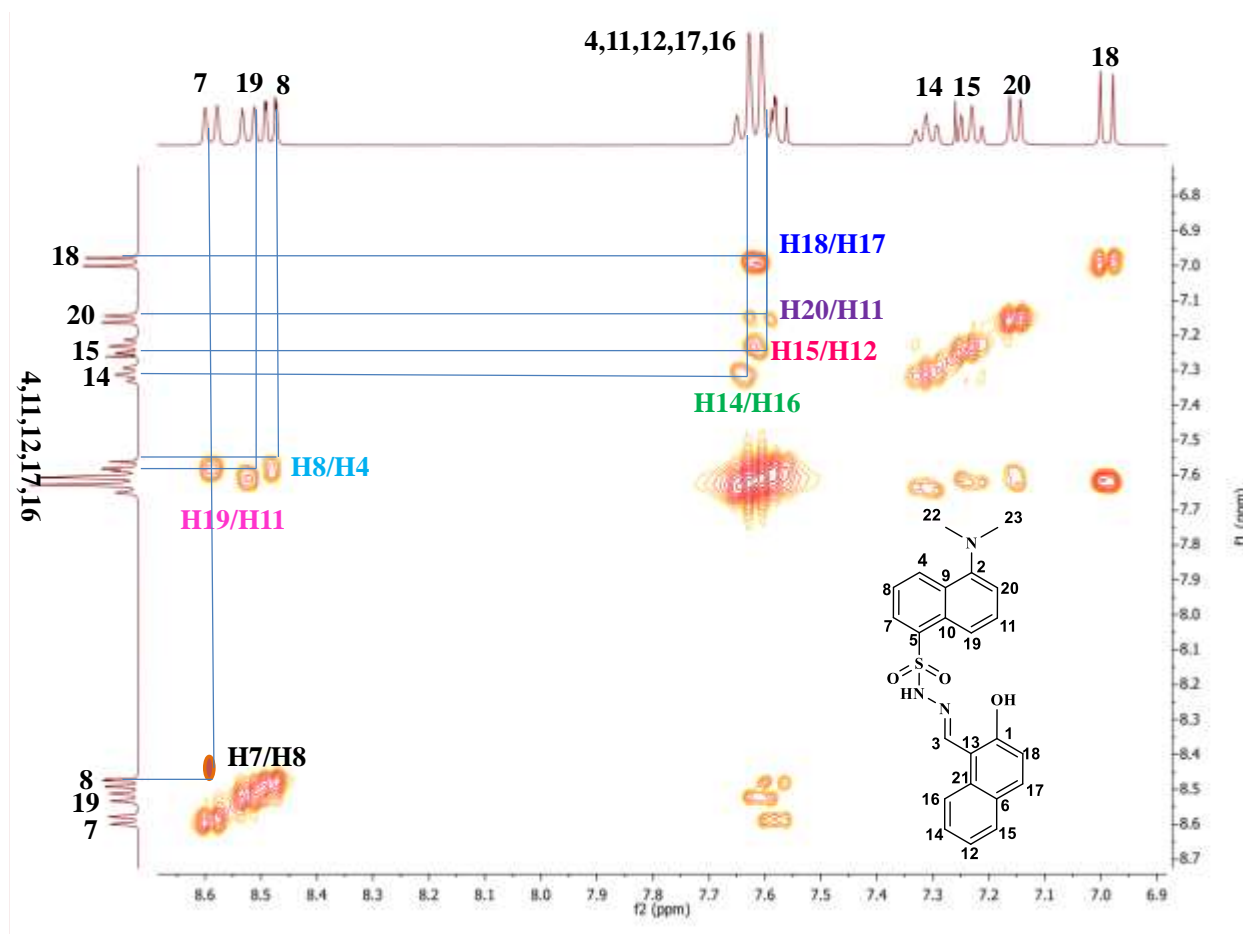


Figure 10: Spectre COSY de l'imine 1

II-2-1-6 Spectre HMBC de l'imine 1

Le spectre HMBC permet de mettre en évidence les corrélations entre un carbone et ses protons voisins 2J , 3J (voire 4J , 5J). Sur le spectre HMBC (figure 10) de l'imine 1, nous observons une corrélation du carbone C1 avec les protons H3, H16 et H18 ce qui confirme que les carbones portant ces protons appartiennent tous au même noyau naphthalénique. D'autre part, le spectre HMBC confirme les corrélations entre le carbone C6 et le proton H16 de même les corrélations entre le carbone C21 et le proton H3 et H17 en 3j , ainsi que le carbone C13 avec le proton H18.

Ainsi, les résultats obtenus avec le spectre HMBC combinés avec ceux obtenus avec le spectre de COSY nous ont permis d'attribuer tous les protons du noyau naphthalénique.

Concernant, le noyau dansylique, les corrélations observées dans le spectre HMBC entre le carbone C2 avec les protons H11 et H4 en 3j et avec H20 en 2j de même des corrélations entre C19 et H20, C9, C10 et C4 avec H7 et la corrélation entre H4 et H8 en COSY nous ont permis de confirmer que tous ces carbones appartiennent au même noyau dansylique (figure 11).

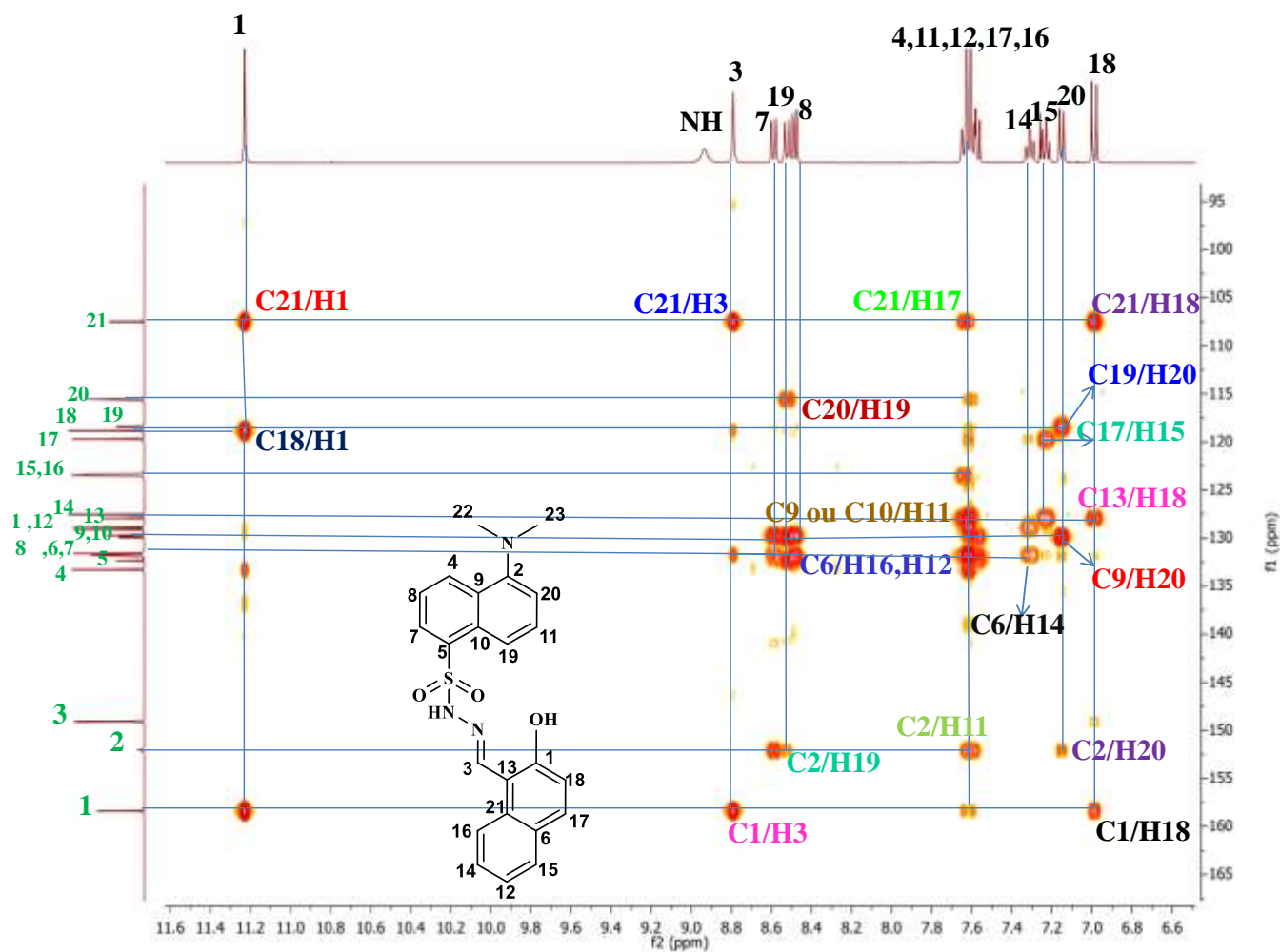


Figure 11: Spectre HMBC de l'imine 1

II-2-1-7 Le spectre NOESY de l'imine 1

Le spectre NOESY permet de détecter les couplages dipolaires directs dans l'espace entre les spins nucléaires. Sa portée est dépendante de la distance qui sépare les deux noyaux couplés.

La corrélation observée entre le proton H1 et le proton de NH confirme l'orientation dans l'espace de ces protons, mais aussi la structure de la molécule. On observe aussi le déplacement très déblindé du proton phénolique et du groupement NH provenant de l'hydrazine à cause des liaisons hydrogènes entre ces deux groupements (figure 13).

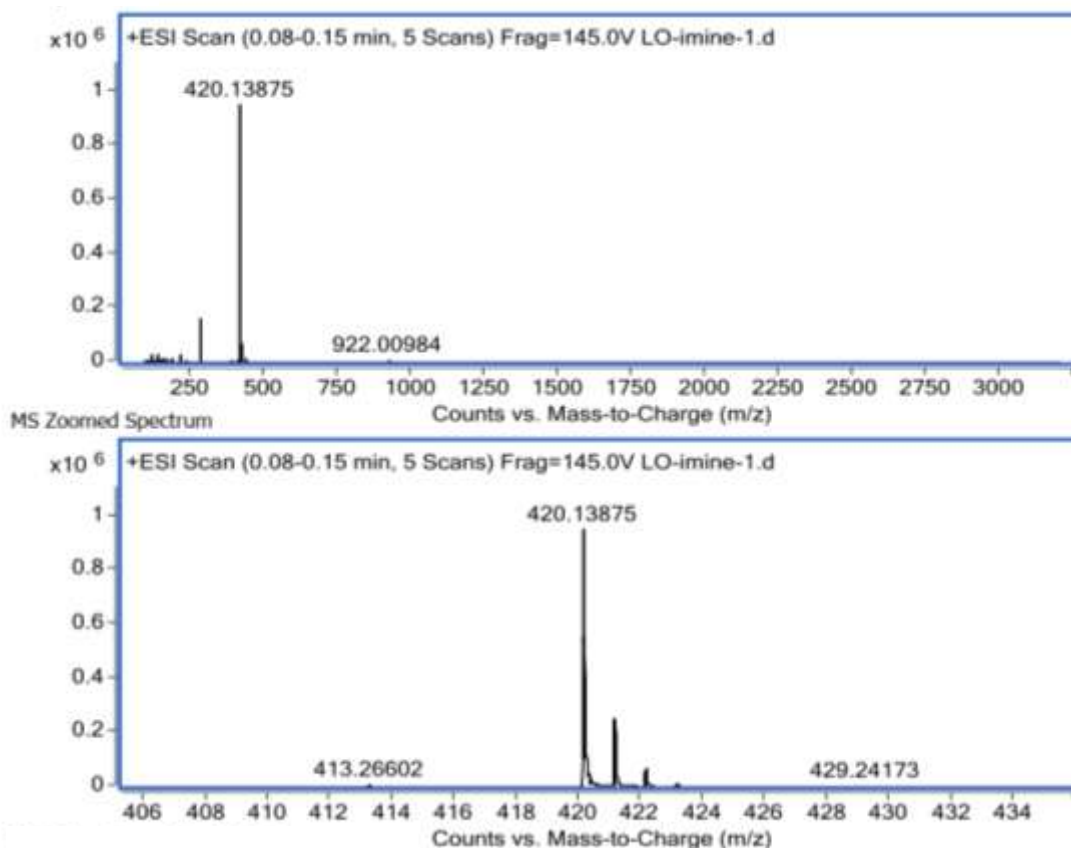


Figure 14: Spectroscopie de masse de l'imine 1

L'ion moléculaire $[MH]^+$ de l'imine **1** a été observé à $m/z = 420,13875$ (théoriquement $[MH]^+ = 422,13764$) correspondant à la formule brute de l'imine **1** $C_{23}H_{21}N_3O_3SH$.

II-2-2 Préparation de l'imine 2

Ce composé a été obtenu par une condensation du dansylhydrazine sur 2-pyridinecarbaldéhyde dans le méthanol catalysée par l'acide acétique. Un produit marron a été obtenu avec un rendement de 29 % et caractérisé de la même manière que l'imine **1** par ses spectroscopies RMN 1H , ^{13}C et HSQC.

II-2-2-1 Caractérisation de l'imine 2

II-2-2-2 Spectroscopie de carbone de l'imine 2

Les spectres RMN 1H , ^{13}C et HSQC enregistrés dans le DMSO de l'imine **2**, comparé à ceux de l'imine **1** révèlent une proche parenté structurale. La modification principale se situe au niveau de la zone des aldéhydes utilisés pour ces deux composés évoquant la présence des signaux du noyau pyridinique pour l'imine **2** et d'un alcool phénolique pour l'imine **1**.

Les pics dans le spectre du carbone (figure 16) correspondent aux nombres d'atomes de carbones dans la structure moléculaire de l'imine **2** comme il est représenté dans la figure 15.

Le spectre de carbone a montré aussi un carbone très déblindé dans la zone aromatique par rapport à l'imine **1** ($\delta_C = 143,792$ ppm) suggérant la présence de la pyridine.

Sur le spectre de DEPT-135, nous avons identifié 7 CH dans la zone aromatique alors qu'on devrait avoir 11 CH, ce qui est, peut-être, dû à la superposition de pics de carbones qui ont un même environnement chimique très proche.

La valeur du déplacement chimique des protons pyridiniques et la nature des carbones déterminés par le DEPT-135 ainsi que l'analyse du spectre de HSQC qui a permis de déterminer tous les carbones protonés confirment la formation de l'imine **2**.

Les autres signaux de la molécule au niveau de la partie danzylique restent presque inchangés par rapport à l'imine **1**. Ainsi l'imine **2** peut être identifié comme étant le produit attendu.

Nous présentons ci-dessous une numérotation avec les corrélations en HMBC qui est la procédure utilisée durant la caractérisation basée sur la numérotation du spectre ^{13}C .

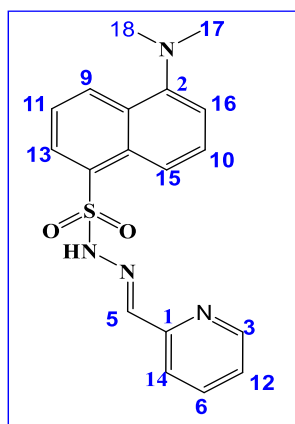


Figure 15: Structure de l'imine **2**

Vous allez retrouver ci-dessous tous les spectres que nous avons utilisés pour déterminer la structure de l'imine **2**.

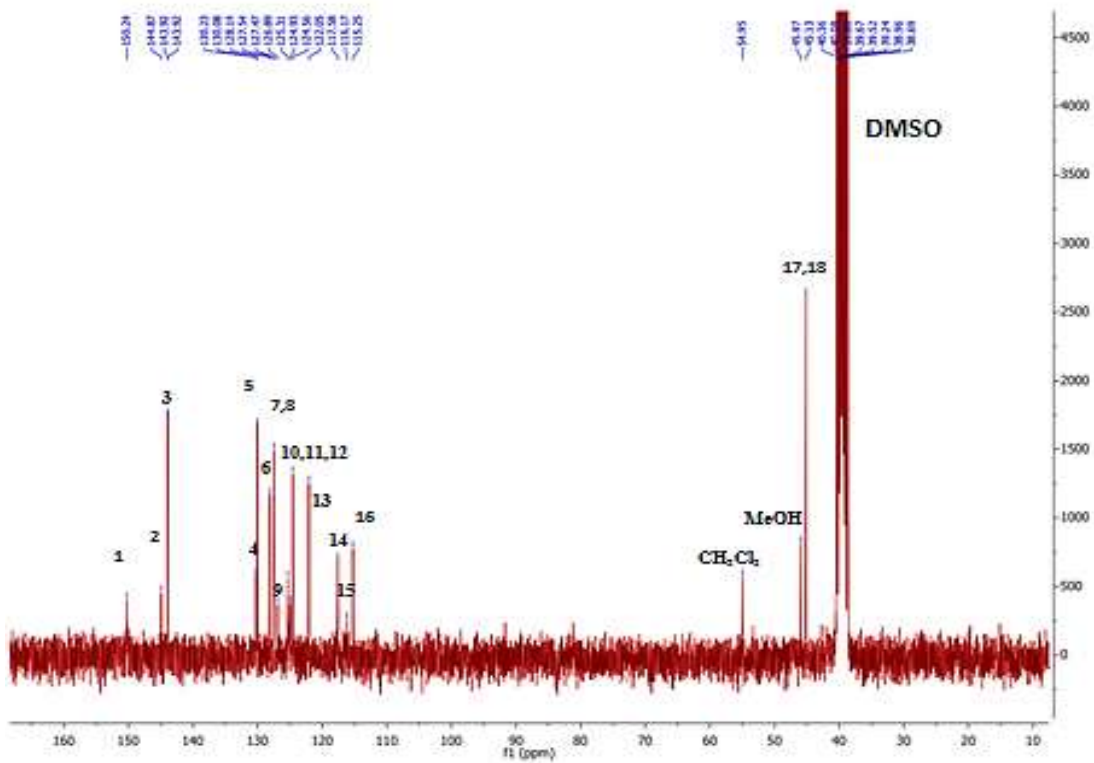


Figure 16: Spectre RMN de ^{13}C de l'imine 2

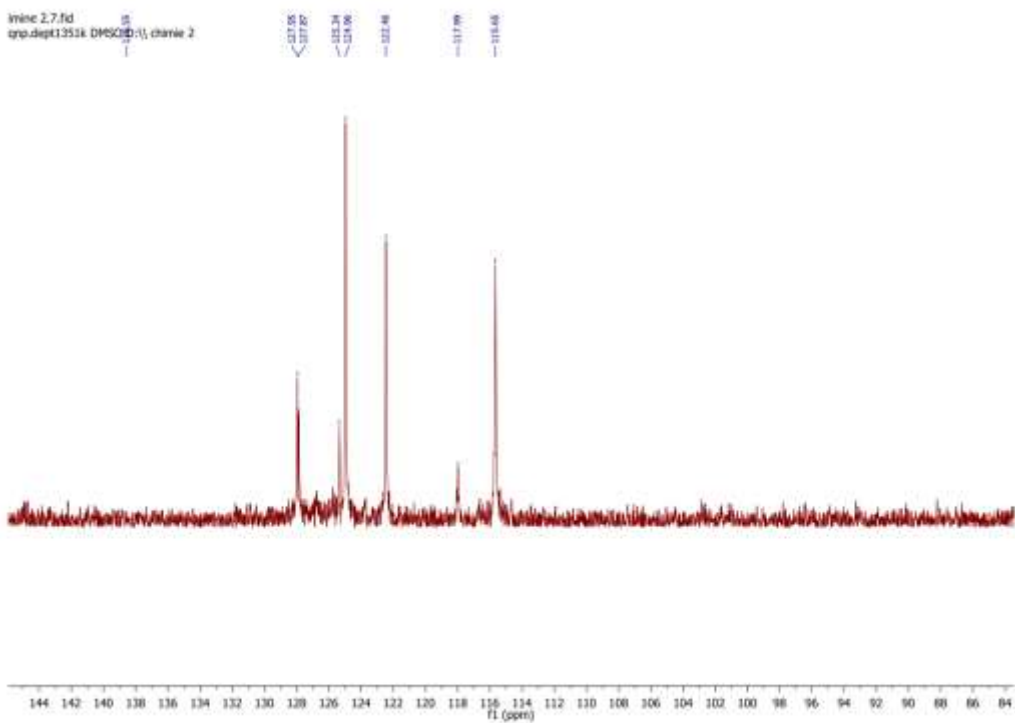


Figure 17: Spectre DEPT de l'imine 2

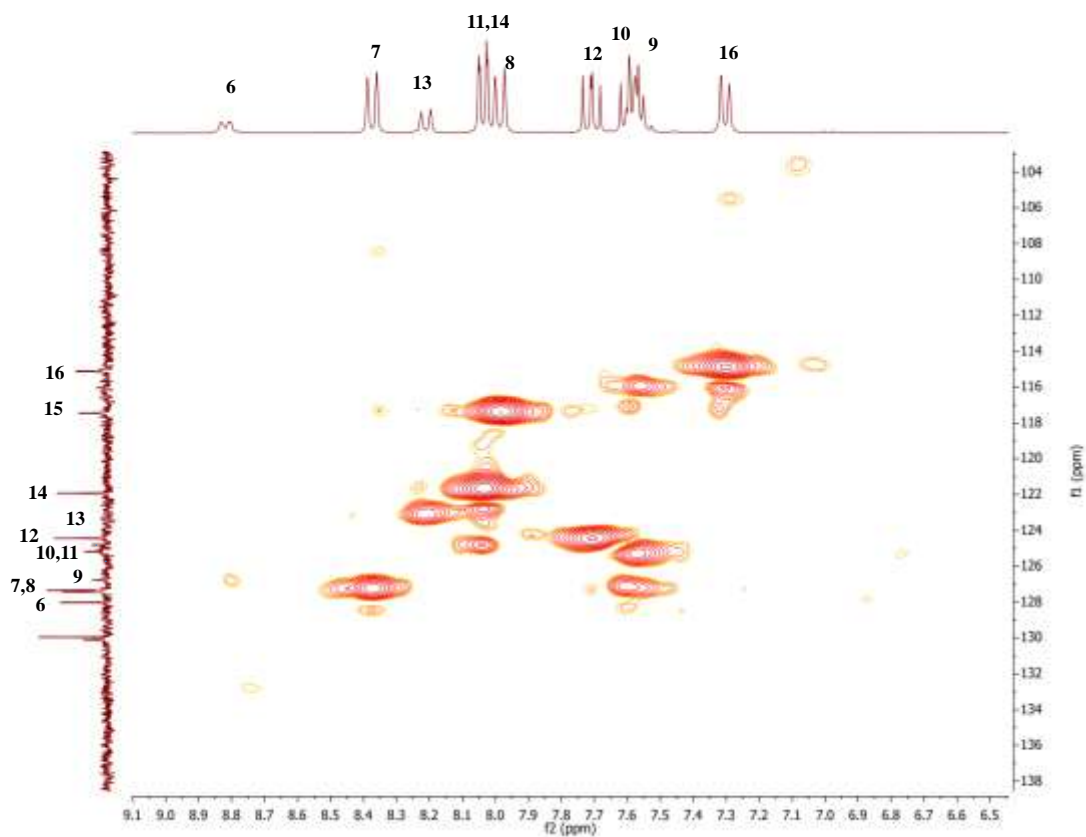


Figure 18: Spectre HSQC de l'imine 2

II-2-2-3 La spectroscopie RMN 1H de l'imine 2

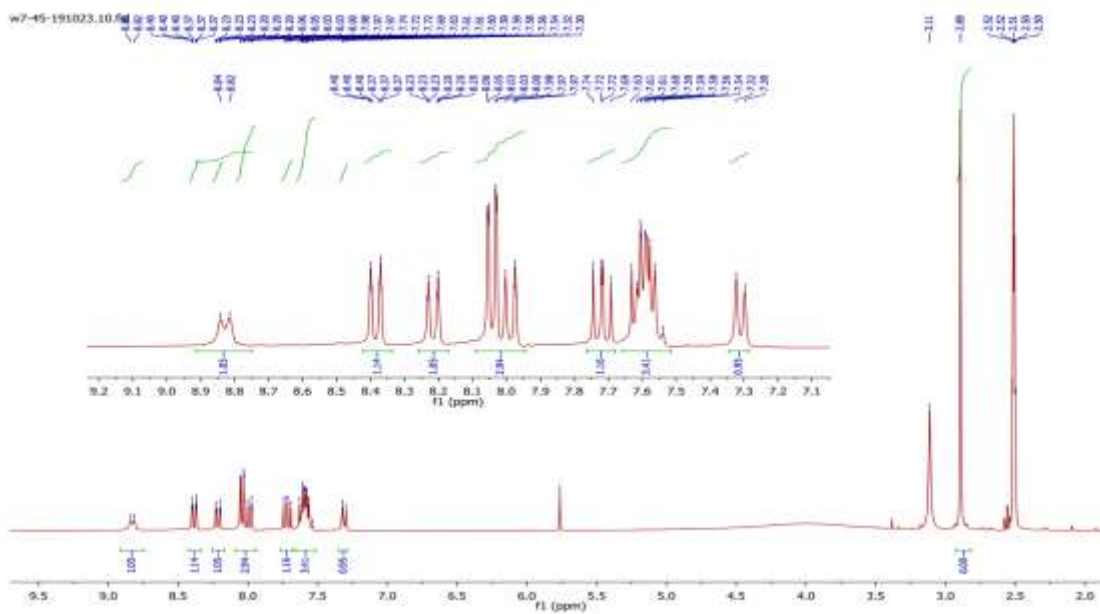


Figure 19: Spectre RMN du 1H de l'imine 2

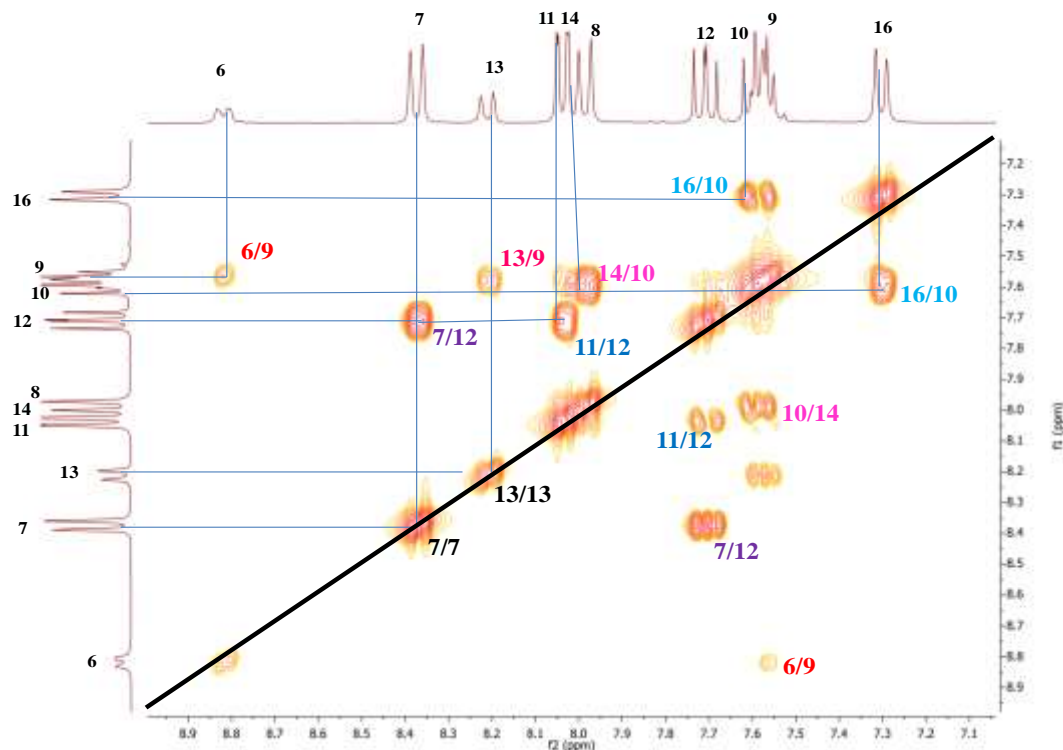


Figure 20: Spectre COSY de l'imine 2

II-3 Etudes de la complexation de nos ligands.

Nous venons de caractériser nos ligands imine **1** et imine **2** par différentes méthodes spectroscopiques, dans la suite seul le ligand imine **1** va être utilisé pour tester sa capacité à complexer quelques métaux de transitions tels que le fer, le zinc, le cuivre, le nickel et le manganèse. Le choix de l'imine **1** s'explique surtout par sa solubilité sur les solvants organiques classiques. Concernant, l'imine **2**, les problèmes de solubilités rencontrés limite pour le moment son utilisation dans les études de complexations.

Ainsi, dans cette partie, nous commençons par un petit rappel sur la méthode utilisée puis nous exposerons les études réalisées.

II-3-1 Complexation métallique

Un complexe est constitué d'un ion métallique central sur lequel vient se fixer un certain nombre de molécules neutres ou d'ions, appelés ligands. Les propriétés chimiques de l'assemblage qui en résulte dépendent de la nature de la liaison entre l'ion métallique et les ligands (ion-dipôle, ionique) et de l'arrangement géométrique de ceux-ci autour de l'ion central, lui-même contrôlé par les propriétés électroniques de l'ion et des ligands.

II-3-2 Complexation par méthode UV-visible

II-3-2-1 Définition

L'UV-visible est l'une des méthodes utilisées pour suivre une complexation d'un ligand par des métaux de transition. C'est une technique basée sur la propriété de la matière, et plus particulièrement de certaines molécules. Elle permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer-Lambert qui montre une relation de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration, aussi bien qu'une étude structurale des complexes par l'étude des spectres d'absorption. Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un spectrophotomètre qui détermine l'absorption d'une solution pour une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'onde judicieusement choisie.

Avant de rentrer dans les détails, commençons en disant que les deux grandeurs caractéristiques d'une molécule en spectroscopie UV-visible seront sa longueur d'onde d'absorption maximale et son coefficient d'absorption. Précisons que l'absorption maximale correspond à la longueur d'onde la mieux absorbée par la molécule, et que le coefficient d'absorption maximal correspond à l'aptitude la plus ou moins importante à absorber les photons à cette longueur d'onde.

II-3-2-2 Principe

Lorsqu'une solution homogène d'une substance est traversée par un faisceau d'intensité I_0 , l'expérimentateur observe à la sortie de l'échantillon un faisceau transmis d'intensité I la longueur d'onde n'ayant pas été modifiée (voir figure 21).

Si $I < I_0$ (alors la substance a absorbé une partie de l'onde lumineuse à la longueur d'onde λ), la loi de Beer Lambert : $A = \epsilon l C$, avec : A : absorbance, ϵ : le coefficient d'absorption molaire en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, l : la largeur de cuve en cm, C : la concentration de la solution en mol/L.

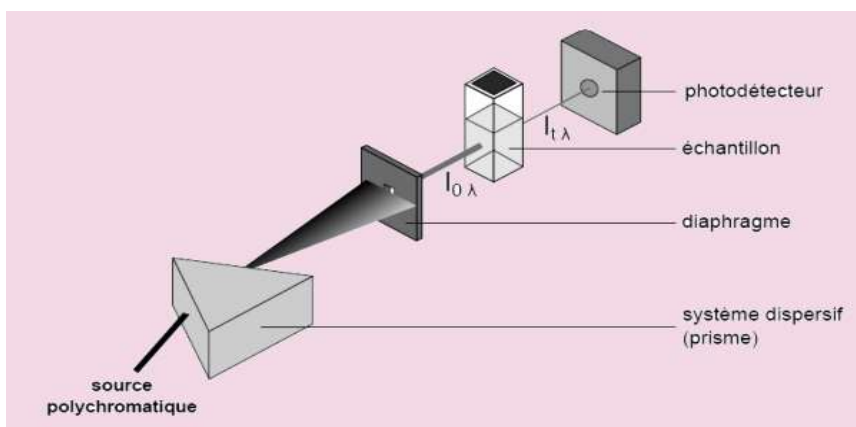


Figure 21: Principe d'un UV-visible

II-3-3 Le dosage par UV-visible

II-3-3-1 Principe

Le dosage par spectrophotométrie est un dosage très utilisé dans la Pharmacopée et généralement dans l'industrie Pharmaceutique. Beaucoup de principes actifs que l'on retrouve dans les médicaments présentent dans leurs structures des groupements chimiques qui absorbent dans l'ultra-violet et qui peuvent ainsi être dosés. Le principe est simple : on cherche à savoir quelle est l'absorbance à chaque valeur de la longueur d'onde. On utilise donc un système de type monochromateur pour fixer la longueur d'onde et un photomultiplicateur vient enregistrer l'absorbance correspondante. Il suffit de faire varier la longueur d'onde sur une plage adéquate pour obtenir un spectre.

II-3-3-2 Domaines d'application

➤ En biologie

En biologie moléculaire, il est utilisé lors de l'extraction d'ADN, pour quantifier ce dernier et déterminer sa pureté. On utilise la longueur d'onde 260 nm qui est la zone d'absorbance maximale des acides nucléiques. Une seconde mesure à 280 nm permet de contrôler la pureté de l'extraction, à savoir la présence de protéines résiduelles dans la solution d'ADN.

➤ En médecine

L'analyse cinétique de différentes enzymes sanguines, dosage de la phosphatase alcaline : cholestase, lactate déshydrogénase : infarctus du myocarde, hémolyse.

➤ En physique

L'analyse de la lumière permet de déterminer les composants chimiques à l'origine de l'émission lumineuse : par exemple, la composition chimique des étoiles.

➤ En chimie

L'analyse de l'absorption des solutions à une longueur d'onde donnée permet le dosage de ces solutions selon la loi de Beer-Lambert (la concentration est proportionnelle au logarithme de l'absorption lumineuse).

Il y a donc une relation directe entre la quantité de lumière absorbée et la concentration en composé chimique de la solution. Le suivi dans le temps de l'absorption est une méthode de caractérisation de la vitesse de réactions chimiques (cinétique).

➤ **Dans les industries graphiques**

Il permet de mesurer les couleurs afin de calibrer des périphériques de sortie tels que les traceurs.

II-3-4 Caractérisation par l'UV-visible

II-3-4-1 L'UV-Visible de l'imine 1

Le spectre uv-visible de l'imine 1 en solution dans l'éthanol est présenté sur la figure ci-dessus.

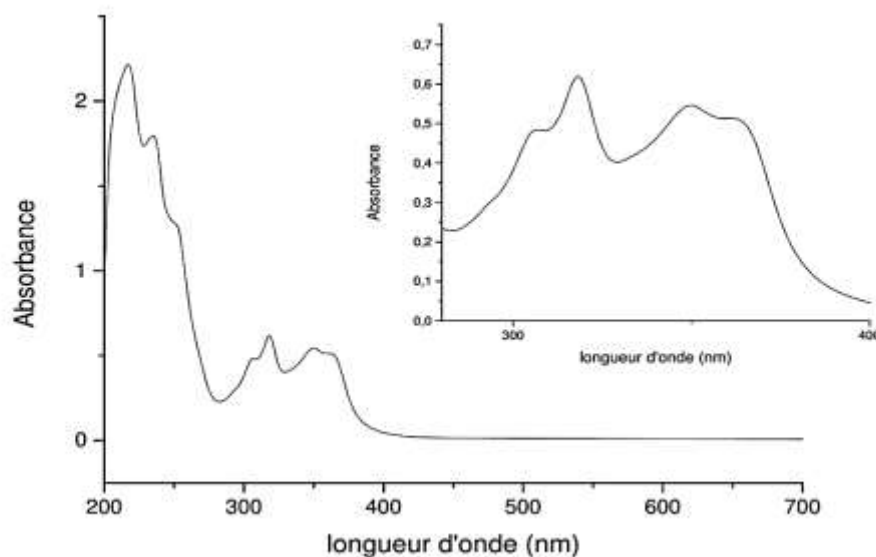


Figure 22: Spectre UV de l'imine 1 dans l'éthanol absolu

Le spectre présente principalement dans le domaine de l'UV deux pics à $\lambda_2 = 318$ nm et $\lambda_3 = 350$ nm avec les coefficients extinctions molaires respectifs $\epsilon_2 = 11901$ M⁻¹cm⁻¹ et $\epsilon_3 = 15283$ M⁻¹cm⁻¹ ainsi que deux épaulements $\lambda_1 = 306$ nm et $\lambda_4 = 363$ nm.

II-3-4-2 Complexation de l'imine 1 avec des métaux

Le dosage de l'imine 1 en solution dans l'éthanol absolue ($C = 4,05 \cdot 10^{-5}$ M) a été réalisé à température ambiante par ajout successif de 0,2 équivalent d'une solution d'ions obtenus en dissolvant dans l'éthanol absolu les sels d'acétates divalents de manganèse, de fer, de nickel, de

cuivre et de zinc. L'évolution des spectres obtenus lors d'ajout des solutions métalliques sont représentés sur les figures ci-dessous.

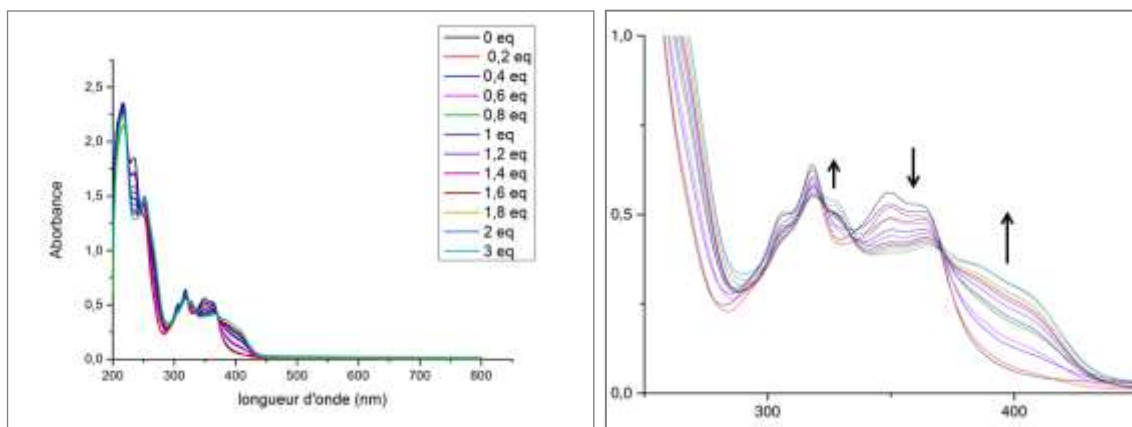


Figure 23: Spectre UV-visible du dosage de l'imine **1** avec les ions Mn^{2+}

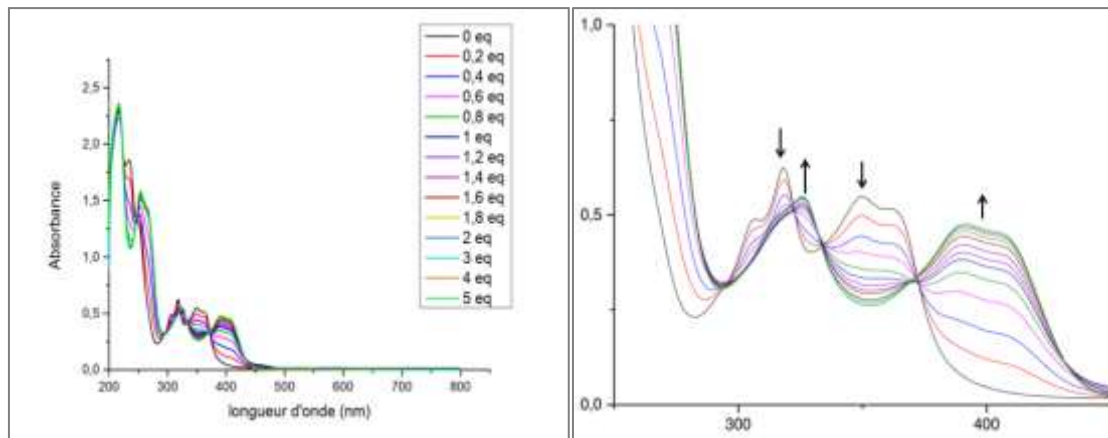


Figure 24: Spectre UV-visible du dosage de l'imine **1** avec les ions Ni^{2+}

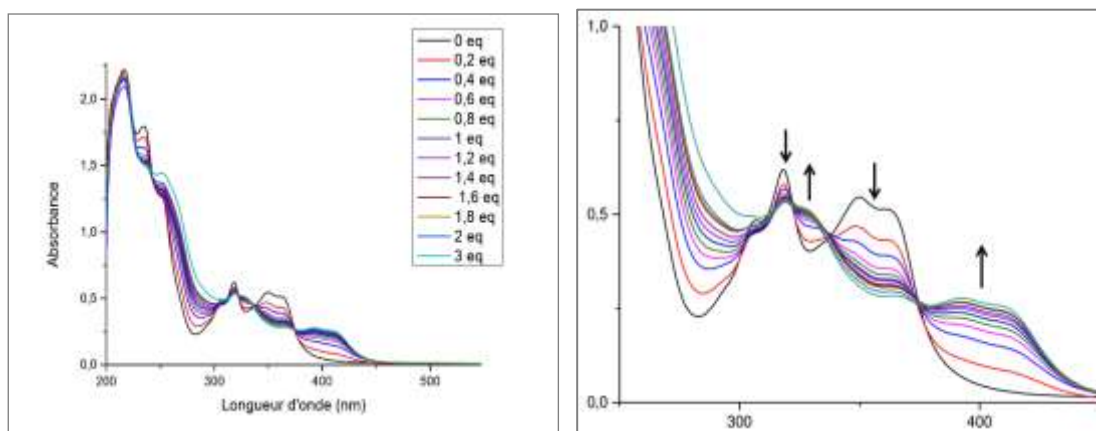


Figure 25: Spectre UV-visible du dosage de l'imine **1** avec les ions Cu^{2+}

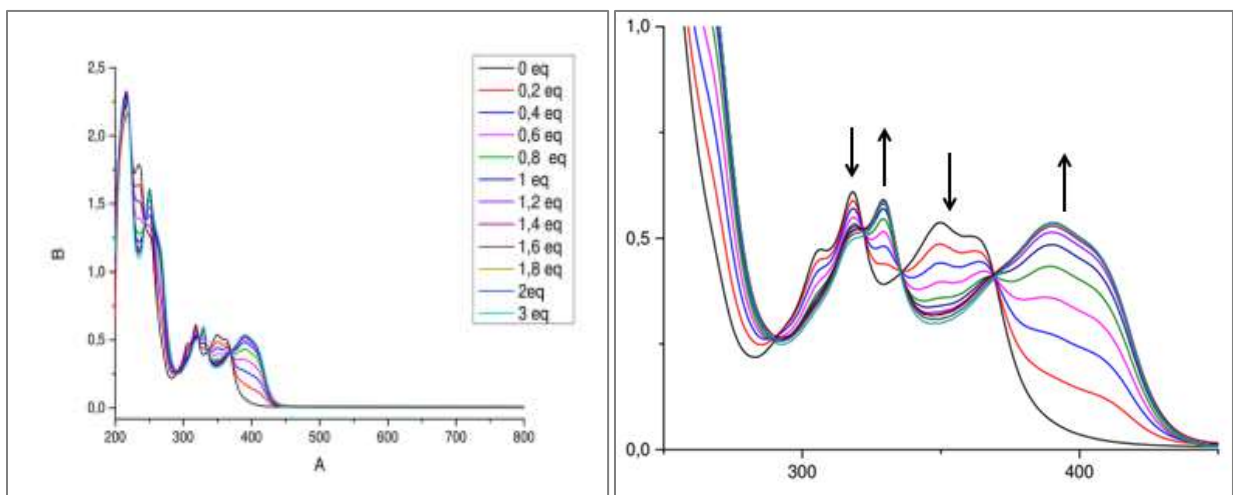


Figure 26: Spectre UV-visible du dosage de l'imine **1** avec les ions Zn^{2+}

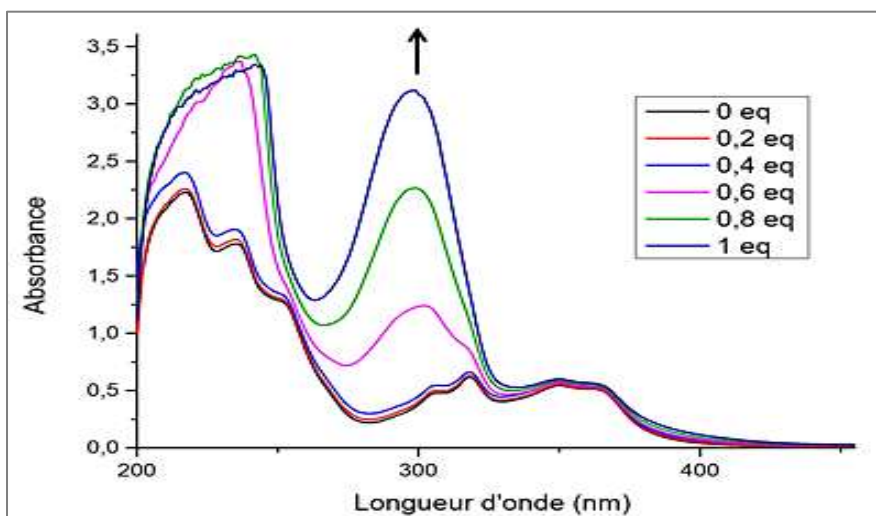


Figure 27: Spectre UV-visible du dosage de l'imine **1** avec les ions Fe^{2+}

Globalement, nous observons, au-delà de l'ajout de 1,6 équivalent de chaque métal, aucune évolution n'est observée.

Les changements les plus importants sont observés au niveau des bandes dans l'UV avec notamment la disparition des deux pics principaux de l'imine **1** et l'apparition de deux nouveaux pics accompagnés par trois points isobestiques.

Les longueurs d'ondes des nouveaux pics et des points isobestiques pour chaque métal ajouté sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 1: Les principaux changements lors du dosage

Imine 1	Pic 1	Pic 2	Point isobestique 1	Point isobestique 2	Point isobestique3
Manganèse	327	383	321	333	370
Nickel	326	390	322	333	371
Cuivre	328	393	321	336	373
Zinc	325	390	322	335	370

Les différents points isobestiques qui accompagnent ces transformations confirment la formation d'un nouveau composé, qui n'est rien d'autre qu'un complexe de coordination, avec chacun des quatre métaux (Mn, Ni, Cu et Zn). Ces résultats montrent la capacité de l'imine **1** à être utilisé comme sonde pour la détection de ces quatre métaux. Cependant, à ce stade de notre étude nous ne pouvons formuler aucune hypothèse sur l'exactitude sur la stœchiométrie des complexes formés.

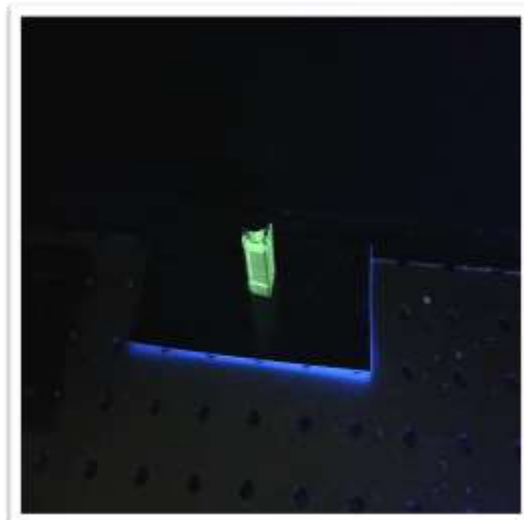
En outre, dans les mêmes conditions, le dosage réalisé avec le fer ne révèle aucun point isobestique (voir figure 27). Ainsi, nous pouvons affirmer sans équivoque dans nos conditions expérimentales que l'imine n'est pas capable de complexer l'ion de fer (II).

➤ **Etude préliminaire sur la fluorescence de l'imine 1 et de ses complexes**

Cette étude préliminaire sur la fluorescence consiste à placer la solution éthanolique du ligand ou du ligand plus le métal dans une chambre noire avant de l'irradier avec une lampe UV. L'émission lumineuse visible lors de l'irradiation avec la lampe UV constitue un signe positif de la fluorescence. C'est ainsi, l'irradiation de la solution éthanolique de l'imine **1** ne révèle aucune lumière visible tandis que celle des solutions éthanoliques de l'imine **1** en présence des ions (Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+}) révèle une lumière verte fluorescente (voir photo ci-dessous).



Imine 1



Imine 1 + métal (Mn²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺ et Zn²⁺)

Figure 28 : La fluorescence de l'imine 1 avec l'UV

Cette propriété fluorescente des complexes de l'imine **1** avec ces quatre métaux de transition que nous avons démontrés constitue un résultat préliminaire intéressant dans l'optique de l'utilisation de l'imine **1** comme sonde pour la détection de ses métaux dans des milieux biologiques ou pollués.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans ce travail, nous avons pu synthétiser deux ligands iminiques par condensation acido-catalysée du dansylhydrazine avec le 2-hydroxynaphtaldéhyde (imine **1**) et le 2-pyridinecarbaldéhyde (imine **2**).

Les deux ligands obtenus ont été caractérisés par la spectroscopie RMN et la spectroscopie de masse haute résolution. Une attribution totale des protons des deux ligands a été effectuée grâce une combinaison astucieuse des technique RMN 1D (proton, carbone et DEPT-135) et 2D (COSY, HSQC, HMBC et NOESY).

De plus, concernant le ligand imine **1**, une caractérisation UV-Visible a été effectuée dans l'éthanol absolu.

Les études de complexation de l'imine **1** en solution dans l'éthanol absolu, avec quelques métaux de transition de degré d'oxydation II (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+}), suivie par la spectroscopie UV-visible ont montré dans ces conditions la capacité de l'imine **1** à se complexer avec les ions Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+} .

Par ailleurs, les études en complexation en UV-visible doivent être complétées notamment en utilisant d'autres solvants polaires ou apolaires afin de mieux comprendre le rôle du solvant dans la complexation. De plus, une étude sur la détermination de la stœchiométrie des complexes et la détermination des constantes d'association est envisagée.

En fin, il serait intéressant de faire une étude photophysique complète des ligands et de leurs complexes afin d'étudier leur sélectivité par rapport aux métaux de transitions.

PARTIE III : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Partie Expérimentale

Ce chapitre est consacré à la description des produits chimiques (solvants et réactifs), les techniques expérimentales de synthèse, de séparation et les techniques spectroscopiques utilisées pour la caractérisation de nos produits obtenus.

III-1 Matériels et réactifs

III-1-1 Matériels de synthèse

Nos différentes manipulations ont été réalisées dans un ballon (100 mL). Le chauffage à reflux est réalisé comme suite. Après réaction les produits sont filtrés à l'aide d'un entonnoir en verre, puis séchés à l'étuve à une température de 50 °C. Les réactions ont été suivies sur plaques CCM.

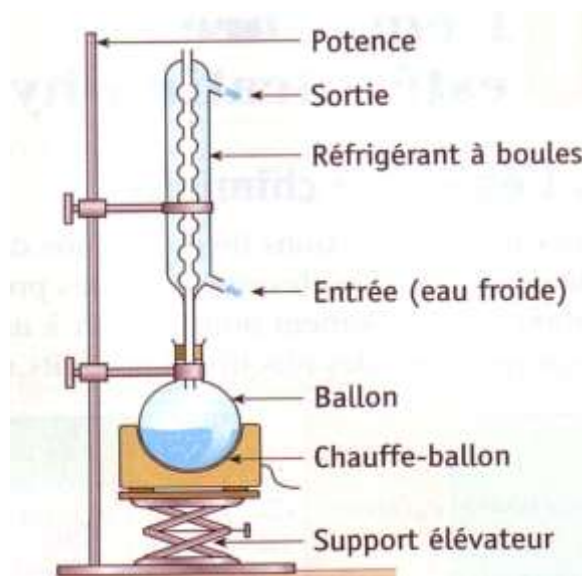


Figure 29: Montage d'un chauffage à reflux d'une réaction

III-1-2 Les réactifs, solvants et catalyseurs utilisés

- Les réactifs utilisés sont donnés dans le tableau 1

Tableau 2: Liste des Réactifs

Réactifs	Formules brutes	Masses molaires en g.mol ⁻¹	Fournisseurs
Chlorure de dansyle	C ₁₀ H ₁₂ O ₂ ClNS	265,09	Alfa Aesar
Hydrazine	N ₂ H ₄ , H ₂ O	50,06	Fisher scientific
2-pyridinecarboxaldéhyde	C ₆ H ₅ ON	107,11	Sigma-Aldrich
Le 2-hydroxynaphthaldehyde	C ₁₁ H ₈ O ₂	172,05	Sigma-Aldrich

- Les solvants et catalyseurs utilisés dans les différentes manipulations sont indiqués dans le tableau suivant

Tableau 3: Liste des solvants et catalyseurs

Solvants /Catalyseurs	Formules brutes	Masses molaires en g.mol ⁻¹	Fournisseurs
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46	Scharlau
Méthanol	CH ₄ O	32	Scharlau
Acide acétique	C ₂ H ₄ O ₂	60,05	Panreac
Diéthyl éther	C ₄ H ₁₀ O	74,12	Sigma-Aldrich

III-2 Analyses spectroscopiques

Pour analyser un produit synthétisé, on dispose des techniques physiques diverses telles que la spectroscopie UV-visible et la spectroscopie RMN. Ces méthodes d'étude physiques des composés organiques mettent en jeu l'interaction d'une onde électromagnétique avec la matière. Selon le domaine d'énergie impliqué, différentes transitions peuvent être excitées. Le principe consiste en l'enregistrement de l'énergie absorbée ou de l'énergie émise en fonction de la fréquence de l'onde incidente ou de sa longueur d'onde.

III-2-1 Spectroscopie ultraviolette

Les méthodes spectroscopiques sont des procédés d'étude physique mettant en jeu des phénomènes d'échanges entre la matière et un rayonnement électronique. Il peut s'agir d'absorption ou d'émission de la lumière et peuvent être dans la partie visible du spectre ou en dehors⁴¹. Ces échanges mettent en jeu des niveaux d'énergie bien définis de la matière et donc sa quantification. Par absorption d'un photon ayant une énergie propre la molécule est portée dans divers états excités, le niveau propre d'énergie la plus basse s'appelle l'état fondamental.

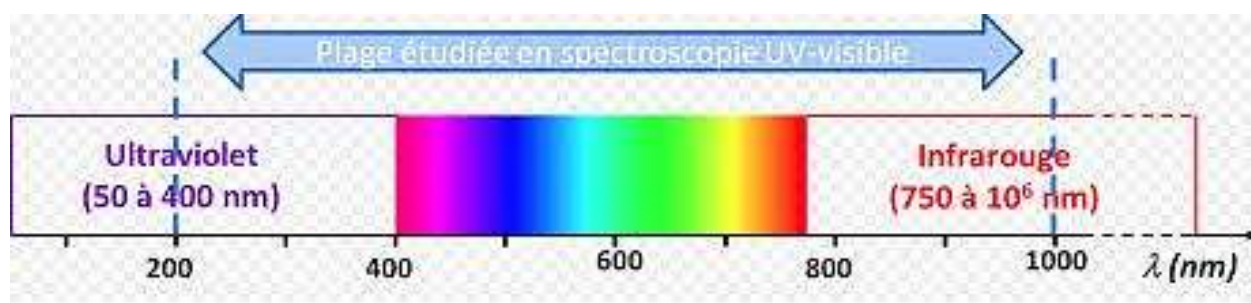


Figure 30: Spectroscopie UV-visible

Dans une molécule, les transitions électroniques ont lieu dans la région de l'ultraviolet:

- UV-lointain: 200 nm - 400 nm
- UV-Visible: 400 - 800 nm
- Infrarouge: 800 -1000 nm

Les mesures UV-Visibles de l'imine 1 ont été réalisées en solution dans l'éthanol absolu avec le spectromètre Cary 500 combinant UV-visible-NIR du Groupe Skene de l'université de Montréal.

III-2-2-Principe de la spectroscopie RMN ^1H

La RMN est une méthode d'étude de la matière qui a été développée dans de nombreux domaines. La RMN concerne à la fois l'état liquide et l'état solide, elle est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. Elle est la plus performante des techniques spectroscopiques courantes. L'absorption de l'énergie par le proton se traduit par un signal de résonance (le déplacement chimique exprimé en ppm), qui est caractéristique de l'environnement du proton en question. Chaque zone de déplacement chimique correspond à un type de proton bien précis, les intensités relatives des signaux sont proportionnelles au nombre de proton⁴², ce qui facilite encore leur identification.

Les analyses spectroscopiques par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) et du carbone (RMN ^{13}C) ont été réalisées respectivement avec des spectromètres RMN 400 MHz et 100 MHz du service de l'université de Montréal (Pavillon Roger Goudry). Les déplacements chimiques des protons et des carbones sont rapportés en unités de parties par million (ppm). Les multiplicités des signaux sont données à l'aide des abréviations : singulet (*s*), doublet (*d*), triplet (*t*), quadruplet (*q*), multiplet (*m*).

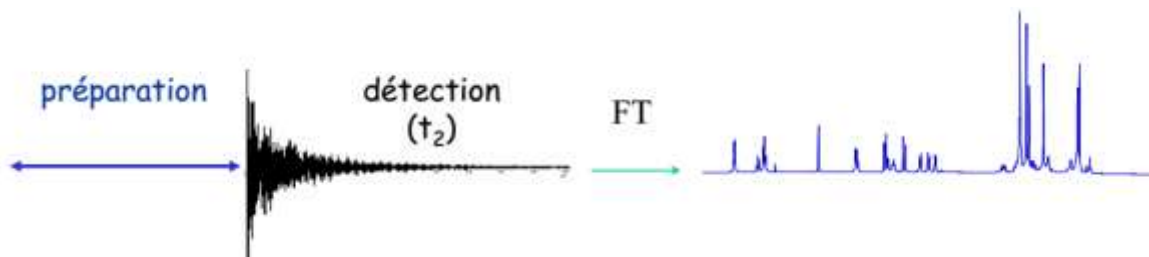


Figure 31: Principe de la spectroscopie de RMN à 1 dimension

III -2-3 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La pureté des produits synthétisés a été contrôlée sur couche mince en utilisant des plaques en gel de silice⁴³.

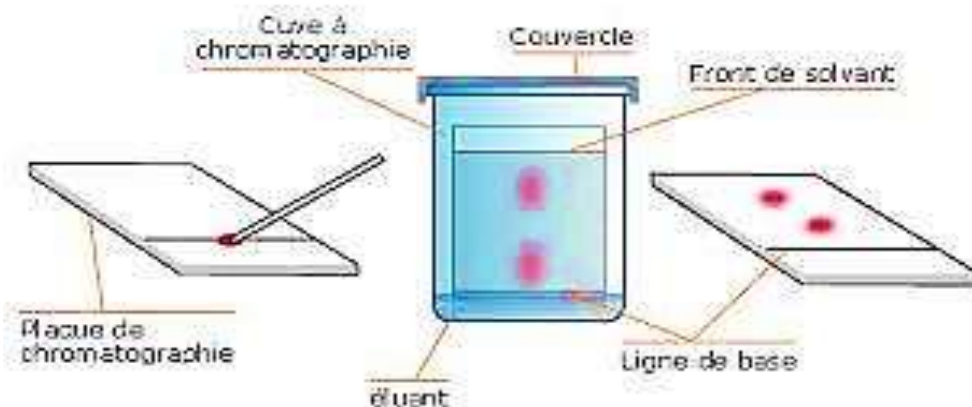
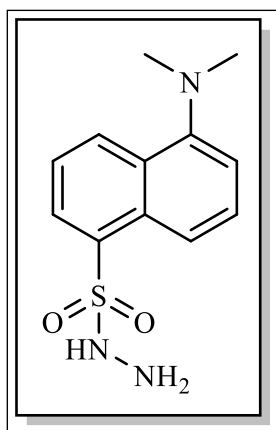


Figure 32: Méthode utilisée pour une CCM

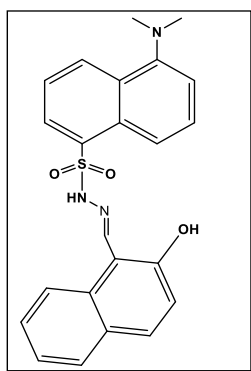
III-3-Mode opératoire

III-3-1 Synthèse du dansylhydrazine



Dans un ballon de 100 ml, introduire 250 mg chlorure de dansyle et 0,21 ml d'hydrazine, ajouter 10 ml de THF (tétrahydrofurane), le mélange est porté à température ambiante pendant 26h. Ce mélange est versé dans une ampoule à décanté, ajouter 20 ml d'acétate d'éthyle et 10 ml d'eau pour faire le premier lavage. La phase organique est récupérée, ajouter encore 10 ml d'acétate d'éthyle répéter 3 fois, après évaporation un produit jaune a été obtenu. La réaction a été suivie par une plaque CCM et comme éluant (7 ml de cyclohexane et 3 ml d'acétate d'éthyle). Les résultats sont en accords avec ceux de la littérature⁴⁴.

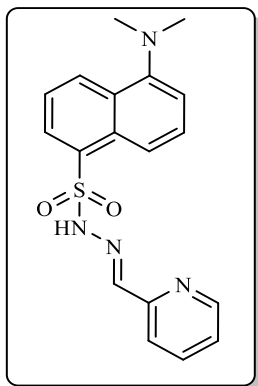
III-3-2 Synthèse de l'imine 1



Dans un ballon de 100 ml, introduire 254 mg de dansyl hydrazine et 0,1 ml du 2-hydroxynaphtaldéhyde, ajouter 10 ml d'éthanol, le mélange est porté au chauffage pendant une nuit. Après une évaporation le produit a été purifié par flash chromatographie suivi d'une filtration et d'un séchage à l'air libre, un produit vert a été obtenu avec un rendement de 43%.

¹H NMR (400 MHz, chloroform-d) δ 11,23(s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,79(s, 1H); 8,59(dt, J=8,5 1.0 Hz, 1H), 8,52(d, J=8,6Hz ,1H), 8,48(dd ; J=7,4 ; 1,3 Hz ; 1H); 7,54(m, 5H); 7,31(ddd, J=8,5 ; 6,9 ; 1,5Hz, 1H), 7,23(ddd, j=7,9, 6,9 ; 0,9Hz, 1H) ; 7,18, 7,13(m, 1H) ; 6,66(d, J=9.0Hz, 1H) ; 2,83(s, 6H).

III-3-3-Synthèse de l'imine 2



Dans un ballon de 100 ml, introduire 254 mg de dansylhydrazine et 0,1 ml du 2-pyridinecarbaldéhyde, puis ajouter 10 ml de méthanol et une goutte d'acide acétique. Le mélange est porté au chauffage pendant 24 heures. Après refroidissement à température ambiante, ajouter 10 ml de diéther (Et₂O). Le mélange a été filtré sous vide, lavé avec de l'éthanol puis séché pendant quelques heures sous vide. Le produit obtenu (100 mg) est une poudre marronne avec un rendement de 29%. La réaction a été suivie sur une plaque CCM dans un mélange d'éluant cyclohexane/acétate d'éthyle de proportions respectives (7/3).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 8,37 (dt, J=8,5 ; 1,1 Hz, 1H), 8,01 (ddt ; J=16,2 ; 8,5 ; 1,0 Hz ; 2H) ; 7,71 (dd ; J=8,5 ; 7,2 Hz, 1H), 7,59 (ddd ; J=8,3, 7,3 ; 4,8 Hz ; 2H) ; 7,30 (dd, J=7,6 ; 0,9 Hz ; 1H) ; 2,88 (s ; 6H)

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] G. L. Backes; D.M. Neumann; B.S. Jursic, Synthesis and antifungal activity of substituted salicylaldehyde hydrazones, hydrazides and sulfonylhydrazides, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4629–4636.
- [2] M. S. T. Goncalves, Fluorescent Labeling of Biomolecules with Organic Probes, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 190-212.
- [3] J.W Yang, Comparaison of separation methods of Heavy metal from surfactant micellar solutions for therecovery of surfactant, *Desalination Elsevier*, **2006**, *191*, 186-192.
- [4] Schieber, Frank, "Modeling the Appearance of Fluorescent Colors". Proceedings of the Human Factors and Ergonomics Society, *Annual Meeting*. **2001**, *45*, 1324–1327.
- [5] Didier Descouens , A new partial temporal bone of a juvenile hominin, *Human Evolution* **2013**, *65*, 447-456.
- [6] B. Valeur, J. Moirez, Analyse des courbes de décroissance multiexponentielles par la méthode des fonctions modulatrices-application à la fluorescence, *J. Chim. Phys.*, **1973**, *70*, 500–513.
- [7] S. Sasaki, G. P. C. Drummen, G.I. Konishi, Recent advances in twisted intramolecular charge transfer fluorescence and related phenomena in materials chemistry, *J. Mater. Chem. C*, **2016**, *4*, 2731-2743.
- [8] J. Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy. *Third Springer Science Business Media, LLC; New York, NY*, **2006**.
- [9] B.N Giepmans, Adams SR, Ellisman MH, Tsien RY. *Science*. **2006**, *312*, 217–224.
- [10] T. Uen, T. Nagano, Fluorescent probes for sensing and imaging, *Nat Meth.* **2011**, *8*, 642–645.
- [11] V. K. A. Sreenivasan; A. V Zvyagin; E. M. Goldys. "Luminescent nanoparticles and their applications in the life sciences", *Condens Matter* **2013**, *25*, 19.
- [12] A. L. Rogach, "Semiconductor Nanocrystal Quantum Dots", Ed, Springer Vienna: *Vienna*, **2008**, *12*, 1-34.
- [13] A. M. Smith; X. Gao; S. Nie. "Quantum Dot Nanocrystals for In Vivo Molecular and Cellular Imaging" *Photochem. Photobiol.* **2007**, *80*, 377-385.
- [14] A. P. Alivisatos; W. Gu ; C. Larabell. "Quantum dots as cellular probes." *Annual. Rev.Biomed. Eng.* **2005**, *7*, 55-76.
- [15] R. Hardman. "A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors." *Environ. Health Perspect.* **2006**, *114*, 165.
- [16] F. Q. Hu; L. Wei; Z. Zhou; Y. L. Ran; Z. Li; M. Y. Gao. "Preparation of Biocompatible Magnetite Nanocrystals for In Vivo Magnetic Resonance Detection of Cancer" *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 2553-2556.

-
- [17] W. S. Seo; J. H. Lee; X. Sun; Y. Suzuki; D. Mann; Z. Liu; M. Terashima; P.C. Yang; M. V. Connell; D.G. Nishimura; H. Dai. "FeCo/graphitic-shell nanocrystals as advanced magnetic-resonance-imaging and near-infrared agents." *Nat. Mater.* **2006**, *5*, 971-976.
- [18] M. G. Harisinghani; J. Barentsz; P. F. Hahn; W. M. Deserno; S. Tabatabaei; C. H. van de Kaa; J. de la Rosette; R. Weissleder. "Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer." *N.Engl J.Med* **2003**, *348*, 2491-2499.
- [19] J.M Walker "The Dansyl Method for Identifying N-Terminal Amino Acids" *Methods Mol. Biol*, **1994**, *32*, 329–334.
- [20] J.M Walker "The Dansyl-Edman Method for Peptide Sequencing". *Methods Mol.Biol*, **1994**, *32*, 329–334.
- [21] K. Wheelock^a; J. Zhang^b; R. Connell^c; D. Tang^d, Effects of changes in land use and climate on aquatic ecosystems: Coupling of models and decomposition of uncertainties, *Environ. Sci.: Processes Impacts*, **2018**, *20*, 780-789.
- [22] <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/brands/Molecular-Probes.html>.
- [23] G. L Backes; D. M Neumann; B. S Jursic, Synthesis and antifungal activity of substituted salicylaldehyde hydrazones, hydrazides and sulfonylhydrazides, *Bioorg. Med. Chem*, **2014**, *22*, 4629–4636.
- [24] D. Zhou; W. Chu; J. Rothfuss; C. Zeng; J. Xu; L. Jones; M. Welch; R. Mach, "Design, Synthesis, Radiolabeling Mechanism, and Modeling Study of Sulfonamide Analogs for Imaging Activation in Apoptosis." *Bioorg. Med.Chem. Lett*, **2006**, *16*, 5041.
- [25] R. Aloya; A. Shirvan; H. Grimmer; A. Reshef; G. Levin; D. Kidron; A. Cohen; I. Ziv, Molecular imaging of cell death in vivo by a novel small molecule probe, *Apoptosis* **2006**, *11*, 2089.
- [26] T. Hayashi; K. Abe, Ischemic neuronal cell death and organelle damage, *Neurol. Res.* **2004**, *26*, 827-834.
- [27] G.F. Prunell; V.A. Arboleda; C.M. Troy, Caspase Function in Neuronal Death: Delineation of the Role of Caspases in Ischemia, *Drug Targets CNS Neurol. Disord.* **2005**, *4*, 51-61.
- [28] Z. Gu; J. Cui; A. Brown; R. Fridman; S. Mobashery; A.Y. Strongin; S.A.J. Lipton, Comprehensive Toxicologybooks, *Neurosci*, **2005**, *25*, 6401.
- [29] A. Abbate.; R. Bussani; G.G. Biondi G.G. Zoccai; D. Santini; A. Petrolini; F de Giorgio; F.Vasaturo; S. Scarpa; A. Severino; G. Liuzzo; A. M.Leone; F. Baldi; G. Sinagra; F. Silvestri; G.W. Vetovec; F. Crea; L.M. Biasucci; A. Baldi, Infarct-related artery occlusion, tissue markers of ischaemia, and increased apoptosis in the peri-infarct viable myocardium, *Eur. Heart*, **2005**, *26*, 2039-2045.
- [30] A. Hartmann; S.Hunot; Michel, P. Patrick; M. Muriel; S.Vyas; B. Faucheux; A.Mouatt; H.Turmel; A. Srinivasan; M. Ruberg; G. Evan; Y. Agid; E. Hirsch, A vulnerability factor and final effector in

apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 2875-2880.

[31] J. Marx, New Leads on the 'How' of Alzheimer's, *Science* ,**2001**, *293*, 2192-2194.

[32] I.L. Noronha; S.G. Oliveira; T.S. Tavares; A. di Petta; W.V. Dominguez; M. Perosa; T. Genzini; J.E.Jr.Romao; H. Abensur; L.A. Moura; D.M. Filho, Apoptosis in kidney and pancreas allograft biopsies, *Transplantation*, **2005**, *79*, 1231-1235.

[33] J. K. Kirklin, Is biopsy-proven cellular rejection an important clinical consideration in heart transplantation, *Curr. Opin. Cardiol*, **2005**, *20*, 127-131.

[34] H. Okada; T. Mak, Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells, *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, *4*, 592–603.

[35] U. Fischer; K. Schulze-Osthoff, New Approaches and Therapeutics Targeting Apoptosis in Disease, *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 187-215.

[36] A.Reshef; A. Shirvan; H. Grimberg; G. Levin; A. Cohen; A. Mayk; D. Kidron; R. Djadetti; E. Melamed; I. Ziv, Novel molecular imaging of cell death in experimental cerebral stroke, *Brain Res.* **2007**, *1144*, 156-164.

[37] M. Damianovich; I. Ziv; S. Heyman; S. Rosen; A. Shina; D. Kidron; T. Aloya; H. Grimberg ;G. Levin; A.Reshef; A.Bentolila; A.Ccohen; A.J.Shirvan, Retinol Dehydrogenase (RDH12) Protects Photoreceptors from Light-induced Degeneration in Mice, *Eur. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **2006**, *33*, 28128.

[38] M. Haka; M. Kilbourn; G. Watkins; S.J. Toorongian, The Third International Conference on the Development of Biomedical, *Labelled Compd. Radiopharm*, **1989**, *27*, 823-833.

[39] P. Grécias; *Chimie organique.* **2004**, *47*, 777-780.

[40] A. Chawla, Kaur Sukhmandeep, Kaur Kuldee, Payal Chawla, R.K. Dhawan, « A Current Review of Synthesis Methods of Schiff Bases», *SK International Journal of Multidisciplinary Research Hub*, **2015**, *2*, 10-18.

[41] M. Chavanne, A. Jullien, G. J. Odermato ; *Chimie organique expérimentale* ,**1991**.

[42] Q. Etienne, *Chimie analytique instrumentale Notions de spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire.* Marseille : Université de Marseille, *47*.

[43] A. D. McNaught and A. Wilkinson Blackwell, “ planar chromatography, Compendium of Chemical Terminology, IUPAC”, *Science*, **1997**, *11*, 464.

[44] G. L. Backes; D.M. Neumann; B.S. Jursic; *Bioorg*, Synthesis and antifungal activity of substituted salicylaldehyde hydrazones, hydrazides and sulfonylhydrazides, *Med. Chem.* **2014**, *22*, 4629–4636.

Résumé

Dans ce travail, nous avons synthétisé et caractérisé deux nouveaux ligands dansyliques obtenus par condensation acido-catalysé entre le dansylhydrazine avec deux aldéhydes aromatiques : le 2-hydroxynaphtaldéhyde (imine **1**) et le 2-pyridinecarbaldéhyde (imine **2**). Ces ligands ont été caractérisés par spectroscopie RMN 1D (proton carbone), spectroscopie RMN 2D (COSY, HSQS, HMBC et NOESY) et par spectroscopie de masse. L'étude de la complexation de l'imine **1** en solution a été suivie par spectroscopie UV-Visible et montre la complexation des ions cuivre, nickel et manganèse et la non complexation de l'ion fer. La fluorescence des ions complexés a été confirmée par irradiation avec une lampe UV.

Mots clés: Dansylhydrazine, Ligand iminique, RMN, suivie complexation par UV-Visible.

Abstract

In this our work, we have synthesized and characterized two new dansyl ligands obtained by acid-catalyzed condensation between dansylhydrazine with two aromatic aldehydes: 2-hydroxynaphthaldehyde (imine **1**) and 2-pyridinecarbaldehyde (imine **2**). These ligands were characterized by 1D NMR spectroscopy (proton carbon), 2D NMR spectroscopy (COZY, HSQS, HMBC and NOESY) and by mass spectroscopy. The study of the complexation of imine **1** in solution was followed by UV-Visible spectroscopy and shows the complexation of copper, nickel and manganese ions and the non-complexation of the iron ion. The fluorescence of the complexed ions was confirmed by irradiation with a UV lamp.

Keywords: Dansylhydrazine, azomethine ligand, NMR, monitored complexation by UV-Visible.